



Laborkatalog

Medizinaluntersuchung

Stand: Mai 2010

erarbeitet von:

Dr. med. R. Bergmann, Facharzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie

Dr. rer. nat. K. Hahn, Chemiker

Dipl.-Biol. S. Keßler, Fachbiologin der Medizin/Diagnostische Mikrobiologie

PD Dr. med. D. Rimek, Fachärztin für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie

A. Spengler, Facharzt für Hygiene und Umweltmedizin

Dipl.-Biol. A. Ulbricht, Fachbiologe der Medizin/Diagnostische Mikrobiologie

Dr. rer. nat. U. Warweg, Fachbiologe der Medizin/Diagnostische Mikrobiologie

Dipl. Ing. F. Welcker, Fachingenieur der Medizin/Kommunalhygiene

Dr. med. I. Werner, Fachärztin für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie

Vorbemerkungen

Der vorliegende Laborkatalog enthält eine Zusammenstellung der wichtigsten mikrobiologischen und umwelthygienischen Laborleistungen, welche von den Dezernaten der Abteilung 3 (Medizinaluntersuchung) des TLLV für Krankenhäuser, Gesundheitsämter, Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämter, andere staatliche Einrichtungen sowie auf Überweisung für niedergelassene Laborärzte und Mikrobiologen erbracht werden.

Das Untersuchungsspektrum umfasst alle Subdisziplinen der medizinisch-mikrobiologischen Diagnostik (Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, Virologie, Infektionsimmunologie) einschließlich molekularbiologischer Untersuchungsverfahren sowie mikrobiologischer Diagnostik und mikrobieller Toxinnachweise bei lebensmittelbedingten Erkrankungen. Darüber hinaus werden Laboruntersuchungen auf dem Gebiet der Krankenhaushygiene, die mikrobiologische und chemische Untersuchung von Trink- und Badewasser und weitere umwelthygienische Untersuchungen durchgeführt.

Der Katalog ist - abhängig von der Untersuchungsart - probenmaterial- bzw. erregerbezogen gegliedert. Da die gezielte und technisch einwandfreie Gewinnung von Untersuchungsmaterial unabdingbare Voraussetzung für eine exakte Labordiagnostik bzw. exakte Gutachten ist, wurden Hinweise zur Untersuchungsindikation, zur Probenentnahme, -lagerung und zum Probentransport (Präanalytik) eingefügt. Darüber hinaus werden Informationen zur Interpretation der mikrobiologischen und umwelthygienischen Laborbefunde gegeben.

Ergeben sich weitere Fragen zur Indikationsstellung, Durchführung und Bewertung mikrobiologischer und umwelthygienischer Untersuchungsmethoden, stehen wir Ihnen jederzeit gern zur Verfügung.

Es ist unser Bestreben, Ihnen stets aktuelle Informationen zur Verfügung zu stellen. Der Laborkatalog wird daher regelmäßig überarbeitet. Bei der Erstellung und Überarbeitung dieses Kataloges verwenden wir größte Sorgfalt auf die Vollständigkeit, Aktualität und Richtigkeit unserer Informationen. Trotzdem sind natürlich Fehler und Unklarheiten nie ganz auszuschließen. Im Zweifelsfall stehen wir Ihnen für Rückfragen telefonisch gerne zur Verfügung.

Inhaltsverzeichnis

Allgemeine Hinweise	8
1. Bakteriologisch-klinische Untersuchungen	10
1.1 Abstriche	10
1.1.1 Indikationen zur Materialentnahme	10
1.1.2 Materialentnahme und Transport	10
1.1.2.1 Rachenabstrich	10
1.1.2.2 Ohrabstrich	10
1.1.2.3 Nasenabstrich	10
1.1.2.4 Augenabstrich	10
1.1.2.5 Abstriche aus der Mundhöhle	10
1.1.2.6 Wundabstrich	11
1.1.2.7 Fistelabstrich	11
1.1.2.8 Eiterproben	11
1.1.2.9 Genitalabstrich	11
1.1.2.10 Materialentnahme bei Endomyometritis	11
1.1.3 Befundinterpretation	11
1.2 Biopate	11
1.2.1 Indikation zur Entnahme von Biopaten	11
1.2.2 Materialentnahme und Transport	12
1.2.3 Befundinterpretation	12
1.3 Blutkulturen	12
1.3.1 Indikationen zur Entnahme von Blutkulturen	12
1.3.2 Materialentnahme und Transport	12
1.3.2.1 Zeitpunkt der Blutabnahme	12
1.3.2.2 Entnahmeort	12
1.3.2.3 Hautdesinfektion	13
1.3.2.4 Blutentnahme	13
1.3.2.5 Begleitschein	13
1.3.2.6 Probentransport	13
1.3.3 Befundinterpretation	13
1.4 Katheterspitzen	13
1.4.1 Indikation zur Untersuchung	13
1.4.2 Materialentnahme und Transport	14
1.4.3 Befundinterpretation	14
1.5 Liquor	14
1.5.1 Indikation zur Probennahme	14
1.5.2 Materialentnahme und Transport	14
1.5.3 Befundinterpretation	14
1.6 Punktate	14
1.6.1 Indikationen zur Entnahme von Punktaten	14
1.6.2 Materialentnahme und Transport	14
1.6.3 Befundinterpretation	15
1.7 Sekrete des Respirationstraktes	15
1.7.1 Indikationen zur Materialentnahme	15
1.7.2 Materialentnahme und Transport	15
1.7.2.1 Sputum	15
1.7.2.2 Trachealsekret, Bronchialsekret, Bronchoalveoläre Lavage (BAL)	15
1.7.3 Befundinterpretation	15
1.8 Stuhlproben	15
1.8.1 Indikationen zur bakteriologischen Stuhluntersuchung	15
1.8.2 Untersuchungsspektrum	15

1.8.3 Materialentnahme und Transport	16
1.8.4 Befundinterpretation	16
1.9 Urin	16
1.9.1 Indikationen zur mikrobiologischen Urinuntersuchung	16
1.9.2 Materialentnahme	16
1.9.2.1 Mittelstrahlurin	16
1.9.2.2 Katheterurin	17
1.9.2.3 Blasenpunktionurin	17
1.9.3 Vorbereitung der Urinprobe und Probentransport	17
1.9.4 Befundinterpretation	18
2. Nachweis spezieller bakterieller Infektionserreger	19
2.1 Anaerobier	19
2.1.1 Sporenlose Anaerobier	19
2.1.2 Aktinomyzeten	19
2.2 Clostridien	19
2.2.1 Clostridium difficile	19
2.2.2 Clostridium perfringens (Gasbrand)	20
2.2.2.1 Clostridium perfringens Kultur	20
2.2.2.2 Clostridium perfringens PCR	20
2.2.3 Clostridium botulinum (Botulismus)	20
2.2.3.1 Clostridium botulinum Kultur und Toxinnachweis	20
2.2.3.2 Clostridium botulinum PCR	21
2.2.4 Clostridium tetani (Tetanus)	21
2.3 Bordetella pertussis (Keuchhusten)	21
2.3.1 Bordetella pertussis Kultur	21
2.3.2 Bordetella pertussis PCR	22
2.4 Borrelien PCR	22
2.5 Corynebacterium diphtheriae	22
2.5.1 Corynebacterium diphtheriae Kultur	22
2.5.2 Corynebacterium diphtheriae PCR	23
2.6 Darmpathogene E.coli (Virulenzmarker)	23
2.7 Chlamydien	24
2.7.1 Chlamydia pneumoniae-PCR	24
2.7.2 Chlamydia trachomatis PCR	24
2.8 Legionellen	24
2.8.1 Kultur bei Legionellose	24
2.8.2 Legionellen PCR	25
2.9 Mykoplasmen	25
2.9.1 Mycoplasma pneumoniae PCR	25
2.9.2 Urogenitale Mykoplasmen/Ureaplasmen Kultur	25
2.10 Methicillin-Resistente Staphylococcus aureus (MRSA)	26
2.10.1 Nachweis von MRSA mittels Kultur	26
2.10.2 Nachweis von MRSA und cMRSA aus Kulturmaterial mittels PCR	26
2.11 Neisseria meningitidis PCR	26
2.12 Neisseria gonorrhoeae Kultur	27
3. Mykobakterien-Diagnostik (Tuberkulose)	28
3.1 Untersuchung auf Mykobakterien (Tuberkulose)	28
3.2 Materialentnahme und Transport	28
3.3 Durchgeführte Untersuchungen	29
3.4 Befundinterpretation	30
4. Sonstige bakteriologische Untersuchungen	31
4.1 Untersuchung von Lebensmitteln im Zusammenhang mit Erkrankungen	31
4.1.1 Indikation zur Untersuchung	31
4.1.2 Gewinnung der Proben	31

4.2	Tupferabstriche auf spezifische Lebensmittelvergifter	31
4.2.1	Indikation zur Untersuchung	31
4.2.2	Gewinnung der Proben	31
4.3	Untersuchung von Spielsand auf bakterielle Kontamination	32
4.3.1	Indikation zur Untersuchung	32
4.3.2	Gewinnung der Proben	32
4.4.	Untersuchung auf bioterroristisch relevante bakterielle Erreger	32
4.4.1	Materialentnahme und Transport	32
4.4.2	Vorgehen bei Situationen mit Hinweisen auf aktive Verstäubung oder Vernebelung	33
4.4.3	Durchgeführte Untersuchungen	34
4.4.4	Befundinterpretation	34
5.	Mykologische Untersuchungen	35
5.1	Untersuchung von klinischem Material auf Pilze	35
5.1.1	Indikation zur Untersuchung	35
5.1.2	Materialentnahme und Transport	35
5.1.3	Durchgeführte Untersuchungen	36
5.1.4	Befundinterpretation	37
5.2	Untersuchung von Umweltproben auf Schimmelpilze	37
5.2.1	Materialentnahme und Transport	37
5.2.2	Durchgeführte Untersuchungen	38
5.2.3	Befundinterpretation	38
6.	Parasitologische Untersuchungen	39
6.1	Stuhl	39
6.1.1	Indikation zur Untersuchung	39
6.1.2	Materialentnahme und Transport	39
6.1.3	Durchgeführte Untersuchungen	39
6.1.4	Befundinterpretation	40
6.2	Bronchiallavage (BAL)	40
6.2.1	Indikation zur Untersuchung auf <i>Pneumocystis jirovecii</i>	40
6.2.2	Materialentnahme und Transport	40
6.2.3	Durchgeführte Untersuchungen	40
6.2.4	Befundinterpretation	40
6.3	Urin	40
6.3.1	Indikation zur Untersuchung	40
6.3.2	Materialentnahme und Transport	40
6.3.3	Durchgeführte Untersuchungen	40
6.3.4	Befundinterpretation	40
6.4	Arachno-entomologische Untersuchungen	40
6.4.1	Indikation zur Untersuchung	40
6.4.2	Materialentnahme und Transport	41
6.4.3	Befundinterpretation	41
7.	Infektionsserologie	42
7.1	Untersuchungsindikationen	42
7.2	Materialentnahme und Transport	42
7.3	Befundinterpretation	42
7.4.1	<i>Bordetella pertussis</i> (Keuchhusten)	42
7.4.2	<i>Borrelia burgdorferi</i>	43
7.4.3	Chlamydien	43
7.4.4	Echinokokken	44
7.4.5	FSME-Virus	44
7.4.6	Hepatitis-A-Virus (HAV)	45
7.4.7	Hepatitis-B-Virus (HBV)	45
7.4.8	Hepatitis-C-Virus (HCV)	46
7.4.9	Hepatitis-E-Virus (HEV)	46

7.4.10 HIV Typ 1 und 2	47
7.4.11 Influenzaviren	47
7.4.12 Legionella pneumophila	47
7.4.13 Leptospira interrogans	47
7.4.14 Lues (Treponema pallidum)	48
7.4.15 Masernvirus	48
7.4.16 Mumpsvirus	48
7.4.17 Neisseria gonorrhoeae	49
7.4.18 Parvovirus B19	49
7.4.19 Q-Fieber	49
7.4.20 Rötelnvirus	49
8. Virologische Untersuchungen	51
8.1 Allgemeine Hinweise	51
8.2 Abstrichmaterial	51
8.2.1 Indikation	51
8.2.2 Materialentnahme und Transport	51
8.2.3 Befundinterpretation	51
8.3 Stuhl	52
8.3.1 Indikation	52
8.3.2 Materialentnahme und Transport	52
8.3.3 Befundinterpretation	52
8.4 Liquor	52
8.4.1 Indikation	52
8.4.2 Materialentnahme und Transport	52
8.4.3 Befundinterpretation	53
8.5 Spülflüssigkeiten, Punktate	53
8.5.1 Indikation	53
8.5.2 Materialentnahme und Transport	53
8.5.3 Befundinterpretation	53
8.6 Biopate, Sektionsmaterialien	53
8.6.1 Indikation	53
8.6.2 Materialentnahme und Transport	53
8.6.3 Befundinterpretation	53
9. Trink- und Badewasseruntersuchung	54
9.1 Indikation	54
9.2 Materialentnahme und Transport	54
9.3 Untersuchungsparameter	54
9.4 Bewertung der Ergebnisse	56
10. Innenraumlufthuntersuchungen	57
10.1 Chemische Raumlufthkontaminanten	57
10.2 Mikrobiologische Raumlufthkontaminanten	57
10.2.1 Untersuchung durch Luftkeimsammlungen (Kurzzeitmessung)	58
10.2.2 Untersuchung durch Oberflächenkontaktproben	58
10.2.3 Erstellung von Gutachten	58
11. Krankenhaushygienische Untersuchungen	59
11.1 Allgemeines	59
11.2 Überprüfung von Sterilisationsverfahren	59
11.2.1 Untersuchungsgegenstand	59
11.2.2 Material und Methode	59
11.2.3 Transport	59
11.2.4 Auswertung der Untersuchung	59
11.3 Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren	60
11.3.1 Untersuchungsgegenstand	60

11.3.2 Material und Methode	60
11.3.3 Transport	60
11.3.4 Auswertung der Untersuchung	60
11.4 Krankenhaushygienische Umgebungsuntersuchungen	61
11.4.1 Untersuchungsgegenstand	61
11.4.2 Material und Methode	61
11.4.3 Transport	61
11.4.4 Auswertung	61
11.5 Hygienische Kontrolle von Gesundheitswäschereien	62
11.5.1 Gegenstand der Kontrolluntersuchungen	62
11.5.2 Material und Methode	62
11.5.3 Transport	62
11.5.4 Auswertung der Untersuchung	62
11.6 Hygienische Prüfungen von RLT-Anlagen / med. Reinräumen	63
11.6.1 Untersuchungsgegenstand	63
11.6.2 Material und Methode	63
11.6.3 Auswertung der Untersuchungen	63
Anlage 1	64
Liste viraler Erreger und möglicher Untersuchungen zum Nachweis von Infektionen	64
Anlage 2	65
Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Infektionen durch bakterielle und parasitologische Erreger	65
Anlage 3	66
Versandbedingungen der wichtigsten Untersuchungsmaterialien	66

Allgemeine Hinweise

1. Dienstzeiten und Rufbereitschaft

Die Laborbereiche befinden sich im Gebäude des Thüringer Landesamtes für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (TLLV) in 99947 Bad Langensalza, Tennstedter Str. 8/9.
Während der folgenden Dienstzeiten:

Montag bis Freitag 07.00 – 16.00 Uhr

können Sie die Laborbereiche unter folgenden Telefonnummern erreichen:

Dezernat 31, Krankenhaushygiene	0361-37 743350
Dezernat 32, Umwelthygiene	0361-37 743321
Dezernat 33, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie	0361-37 743331
Dezernat 34, Virologie	0361-37 743341

Außerhalb dieser Dienstzeiten ist über die Tel. Nr. 0361-37 743000 der mikrobiologische Bereitschaftsdienst erreichbar. Im Rahmen des Bereitschaftsdienstes werden dringende labordiagnostische Untersuchungen entgegengenommen und durchgeführt.

2. Probentransportmaterialien / Untersuchungsaufträge

Probentransportgefäße bzw. –systeme und Untersuchungsauftragsscheine werden Ihnen nach Bedarf kostenlos zur Verfügung gestellt. Untersuchungsscheine können Sie zudem von unserer Homepage aus dem Internet (www.thueringen.de/de/tllv) ausdrucken bzw. herunterladen. Wir bitten Sie, Ihre Bestellungen auf unserem Anforderungsformular für Versandmaterial vorzunehmen. Die Anforderungsformulare werden Ihnen auf Anfrage ausgehändigt bzw. sind auf unserer Homepage im Internet verfügbar.

Für jede angeforderte Untersuchung bitten wir Sie, einen Untersuchungsauftrag auszufüllen. Bei Verwendung der von unserer Einrichtung ausgegebenen mikrobiologischen Untersuchungsaufträge sind folgende Mindestangaben erforderlich:

Name, Vorname und Geburtsdatum des Patienten
Einsender (Einrichtung oder Klinik / Abteilung / Station)
Materialbezeichnung / Entnahmestelle
Gewünschte Untersuchung
Unterschrift des einsendenden Arztes / verantwortlichen Mitarbeiters

3. Allgemeine Regeln bei Entnahme und Transport klinischer Proben

- Proben zum kulturellen Erregernachweis sollten möglichst vor dem Beginn einer antibiotischen Therapie gewonnen werden. Eine primäre Probenentnahme nach eingeleiteter Therapie sollte unverzüglich, zur Blutkulturdiagnostik unmittelbar vor der nächsten Antibiotikagabe, erfolgen.
- Nach Möglichkeit sollte die für eine Untersuchungsmethode angegebene Mindestmenge des Probenmaterials nicht unterschritten werden. Der kulturelle Erregernachweis bei abszedierenden Prozessen ist ergiebiger, wenn keine Eiterabstriche sondern Eiterproben in sterilen Gefäßen eingesendet werden.

- Bei Probengewinnung durch den Patienten (Sputum, Urin, Stuhl) sind klare Instruktionen für die korrekte Durchführung der Materialentnahme zur Vermeidung von mikrobiellen Verunreinigungen und für die Erstellung aussagekräftiger Untersuchungsbefunde sehr zu empfehlen.
- Native Untersuchungsmaterialien sollten auf dem schnellstmöglichen Weg in das Labor transportiert werden. Die Transportbedingungen sind, wie für das jeweilige Material beschrieben, einzuhalten. Alle Patientenproben gelten als potentiell infektiös und sind sicher zu transportieren.
- Das Begleitformular (Untersuchungsantrag) sollte alle für die mikrobiologische Diagnostik relevanten Angaben wie z. B. Diagnose, Verdachtsdiagnose, relevante Medikation, Entnahmezeitpunkt und disponierende Faktoren, enthalten. Wichtig ist auch die eindeutige Feststellbarkeit des Absenders.

4. Hinweise zum Datenschutz

- Die Bestimmungen des Thüringer Datenschutzgesetzes gelten für die Verarbeitung und Nutzung personenbezogener Daten durch die Behörden und die sonstigen öffentlichen Stellen des Landes, der Gemeinden und Gemeindeverbände und die sonstigen der Aufsicht des Landes unterstehenden juristischen Personen des öffentlichen Rechts.
Für nicht öffentliche Stellen gelten bei der Datenverarbeitung und Nutzung personenbezogener Daten die Vorschriften des Bundesdatenschutzgesetzes.
Die Einhaltung der Datenschutzbestimmungen z. B. bei einer Befundübermittlung per Fax, ist somit von allen Beteiligten sicherzustellen.

1. Bakteriologisch-klinische Untersuchungen

1.1 Abstriche

1.1.1 Indikationen zur Materialentnahme

- bakteriell bedingte Konjunktivitis, bakteriell bedingte Otitis, Rhinitis, Pharyngitis und Tonsillitis einschl. Diphtherieverdacht, ulzerös-nekrotisierende Stomatitis, Epiglottitis im Kindesalter, Verdacht auf Candidose der Haut und Schleimhäute, Pyodermien, Wundinfektionen, superinfizierte Verbrennungen, Ulzerationen und Nekrosen, sezernierende Fistelöffnungen, intraabdominelle Infektionen, eröffnete Abszesse, eitrige Urethritis und Cervicitis, bakterielle Vaginose in der Gravidität u.a.m.
- Nachweis eines Keimträgerstatus (z. B. Streptococcus pyogenes, Neisseria meningitidis, Corynebacterium diphtheriae, MRSA)

1.1.2 Materialentnahme und Transport

Materialgewinnung

Abstrichtupfer werden grundsätzlich erst unmittelbar vor der Probenentnahme aus der Sterilverpackung entnommen. Nach Materialgewinnung sind sie in das zur Verfügung gestellte Transportmedium einzubringen. Nichteitrige Punktate sind nicht in Tupfer aufzunehmen, sondern nativ in sterilen Probentransportröhrchen mit dicht schließender Schraubkappe einzusenden.

Die Probenahme sollte vor Beginn einer antibiotischen Therapie erfolgen. Die Transportdauer sollte 24 Stunden nicht überschreiten. Dabei sind Temperaturen zwischen 18 °C und 24 °C einzuhalten.

1.1.2.1 Rachenabstrich

Die Entnahme sollte gezielt vom Infektionsherd unter Vermeidung anderweitiger Schleimhautkontakte erfolgen.

1.1.2.2 Ohrabstrich

Mit Polyester-Tupfer ist der Gehörgang rotierend abzustreichen. Bei tief im Gehörgang liegenden Prozessen Spekulum oder Ohrtrichter verwenden.

Materialentnahme zum Erregernachweis aus dem Mittelohr bei geschlossenem Trommelfell ist dem HNO-Facharzt vorbehalten. Der Probentransport sollte umgehend erfolgen.

1.1.2.3 Nasenabstrich

Zur Abklärung von Infektionen oder MRSA-Besiedlung sterilen Polyester-Tupfer beim Erwachsenen ca. 2 cm ein- oder beidseitig in die Nase einführen, Nasenschleimhaut rotierend abstreichen, eitriges Sekret aufnehmen.

Der Probentransport sollte innerhalb von 24 Stunden erfolgen.

1.1.2.4 Augenabstrich

Abstriche sind von der abgehobenen Lidinnenseite sowohl von Ober- als auch Unterlid zu nehmen. Dabei kann derselbe Tupfer verwendet werden. Der sterile Polyester-Tupfer ist dabei vorsichtig drehend über die Innenseite zu führen. Berührungen der Außenhaut des Auges sind zu vermeiden. Zur Untersuchung auf Chlamydien ist beim Abstrich darauf zu achten, dass genügend Epithelzellmaterial gewonnen wird. Die Tupfer zur bakteriologischen Diagnostik sind in Transportmedien umgehend, zumindest innerhalb von 24 Stunden einzusenden. Hinweise für den Nachweis von Chlamydien mittels PCR s. 2.7.

1.1.2.5 Abstriche aus der Mundhöhle

Der Oropharynx ist Standort einer großen Vielfalt von Bakterien. Vor dem Abstrich Mund mehrmals mit warmem Leitungswasser spülen. Zunge mit Spatel herunterdrücken. Mit Polyester-Tupfer aus dem entzündeten Bereich Material entnehmen. Dabei vor allem aus dem Randbereich abstreichen. Nötigenfalls mit einem ersten Tupfer Beläge entfernen und mit dem zweiten Tupfer das tiefer liegenden Material gewinnen.

1.1.2.6 Wundabstrich

Bei offenen Wunden sollten oberflächliches Sekret mit einem sterilen Tupfer aufgenommen bzw. fibrinöse oder nekrotische Beläge abgehoben werden, um dann vom Wundgrund und aus den Randbereichen der Läsion mit einem neuen sterilen Tupfer Material zu gewinnen. Ist nach dieser Vorreinigung nicht mehr genügend Wundsekret vorhanden, wird eine Entnahme von Gewebematerial mit dem scharfen Löffel empfohlen. Die gewonnenen Materialien sind in Transportmedium einzubringen und umgehend in das Labor zu senden.

1.1.2.7 Fistelabstrich

Die Fistelöffnung ist zu reinigen und mit einem rückstandlos verdunstenden Desinfektionsmittel (z. B. 98%igem Ethanol) zu desinfizieren. Ist der Fistelgang weit genug, sollte ein dünner steriler Katheter so weit wie möglich eingeführt und aus der Tiefe Exsudat aspiriert werden. Gelingt dies nicht, sollte Material aus tiefer gelegenen Anteilen des Fistelganges mit einer Kürette gewonnen werden. Der Versand erfolgt in Transportmedium.

1.1.2.8 Eiterproben

Größere Mengen Eiter können in einer Spritze mit verschlossenem Konus oder im sterilen Probentransportröhrchen eingesandt werden. Der Transport sollte schnellstmöglich bei Umgebungstemperatur erfolgen. Steht nur wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung, ist dies mit einem Abstrichtupfer aufzunehmen und in Transportmedium zu geben.

1.1.2.9 Genitalabstrich

Die Einsendung von Urethral-, Vaginal-, Cervical- und Lochialabstrichen zur kulturellen Diagnostik sollte generell in Transportmedien erfolgen. Außer einer nicht selektiven bakteriologischen Kultur wird bei diesen Untersuchungsmaterialien automatisch eine Untersuchung auf Mykoplasmen und Sprosspilze, bei gynäkologischen Abstrichproben zusätzlich der Nachweis von Gardnerella vaginalis durchgeführt. Hinweise zum Nachweis von Chlamydia trachomatis mittels PCR s. 2.7.2, Informationen zur Vorgehensweise bei der Diagnostik der Gonorrhoe finden sich unter 2.12. Für intraoperativ oder laparoskopisch entnommene Materialien gelten die allgemeinen Informationen zur Materialgewinnung bei Abstrichen und die Hinweise zur Einsendung von Eiterproben.

1.1.2.10 Materialentnahme bei Endomyometritis

Bei ungeschützt transzervikal gewonnenen Abstrichen werden häufig Spezies der normalen Vaginal- und Zervikalfloora, die ätiologisch nicht relevant sind, kulturell nachgewiesen.

Besser geeignet sind Materialien, die direkt aus dem Uterus entnommen werden, wie sog. geschützte Abstriche bzw. Saugkürettagematerial, gewonnen mit transzervikalen Doppellumenkathetern. Für die Abstriche müssen Transportmedien verwendet werden.

1.1.3 Befundinterpretation

Erregernachweise in Materialien, welche aus normalerweise keimfreien Regionen des Organismus stammen, sind unabhängig von ihrer Keimzahl als bedeutsam anzusehen.

Bei der Bewertung von Abstrichmaterialien aus Körperregionen mit physiologischer Standortflora werden typische Keime der Normalflora nicht im Befundbericht berücksichtigt. Bei nicht eindeutiger oder zweifelhafter ätiologischer Relevanz erfolgt eine entsprechende Anmerkung im Befundbericht.

1.2 Bioptate

1.2.1 Indikation zur Entnahme von Bioptaten

Tiefliegende Gewebsinfektionen, welche durch andere Formen der Materialgewinnung nicht verifiziert werden können (z. B. subakute Infektionen im Bereich von Gelenkendoprothesen, bakteriell bedingte Lymphadenitiden).

Die Tuberkulosedagnostik wird im Abschnitt 3 „Mykobakterien-Diagnostik“ abgehandelt.

1.2.2 Materialentnahme und Transport

Das Material wird im Rahmen chirurgischer Interventionen unter sterilen Kautelen gewonnen und unmittelbar in Schraubverschluss-Flaschen mit 100 ml Nährbouillon gegeben. Die Biopstatstücke sollten nicht größer als 2 x 2 x 2 cm sein. Die wieder verschlossenen Flaschen sind möglichst schnell bei Raumtemperatur in das Labor zu bringen. Aufbewahrung bis 6 h bei Raumtemperatur oder Bebrütung bei 36 ± 1 °C sind möglich. Bei Verdacht auf eine spezifische Infektion (z. B. Tuberkulose, Pilzinfektion) ist zusätzlich natives Biopstatmaterial im sterilen Probentransportgefäß einzusenden. In diesen Fällen empfiehlt sich eine vorherige Rücksprache mit dem Labor.

1.2.3 Befundinterpretation

Bei Ausschluss einer Kontamination durch Keime der Hautflora sind die nachgewiesenen Erreger als relevant anzusehen. Ein mehrmaliger Nachweis des gleichen Erregers aus parallel gewonnenen Proben gilt als Bestätigung für eine ätiologische Relevanz.

1.3 Blutkulturen

1.3.1 Indikationen zur Entnahme von Blutkulturen

- Klinische bzw. paraklinische Hinweise auf eine Sepsis
- Verdacht auf Endokarditis
- Infektionen mit begleitender Bakteriämie/Septikämie (z. B. Meningitis, bakterielle Pneumonien – insbesondere Lobärpneumonie, Pneumonie im frühen Kindesalter, Pneumonie mit respiratorischer Insuffizienz, Pyelonephritis, Osteomyelitis, eitrige Arthritis, Epiglottitis im Kindesalter, phlegmonöse Entzündungen, Neugeborenenomphalitis, Abszesse)
- Sog. zyklische (polysystemische) Infektionskrankheiten (z. B. Typhus, Paratyphus, Brucellose)
- Fieber bei liegendem intravasalen Katheter
- Verdacht auf Fungämie
- Fieber unbekannter Ursache

Bei Neugeborenen, Patienten im höheren Lebensalter, mit Immundefekten, Neutropenie, immunsuppressiver Behandlung, intravaskulären Implantaten und bei Intensivpatienten ist die Indikation zur Abnahme von Blutkulturen besonders großzügig zu stellen.

1.3.2 Materialentnahme und Transport

1.3.2.1 Zeitpunkt der Blutabnahme

Die Bakteriämie geht dem Temperaturanstieg etwa 1 Stunde voraus. Blutproben sind daher am besten noch vor dem erwarteten Temperaturanstieg oder möglichst früh zu Beginn des Fiebers zu entnehmen. Eine einzige Probe reicht für eine sichere Ausschlussdiagnostik nicht aus. Für einen sicheren Keimnachweis müssen 2 - 3 Proben innerhalb von 24 Stunden in einem Zeitintervall von ≥ 1 Stunde entnommen werden.

Da eine systemische antimikrobielle Therapie den Erregernachweis erschwert, sollte zumindest die erste Entnahme vor Beginn der Antibiotikatherapie erfolgen. Bei intermittierendem Fieber oder Verdacht auf akute Endokarditis sind an den ersten beiden Tagen jeweils 2 – 3 Blutproben zu entnehmen. Bei antibiotisch vorbehandelten Patienten sollte die Blutkultur möglichst am Ende eines Antibiotika-Dosierungsintervalls entnommen werden. Bei unklarer Ätiologie und zur Therapiekontrolle z. B. bei Endokarditis oder nachgewiesener Candidämie ist auch unter laufender antimikrobieller Behandlung die Anlage weiterer Blutkulturen angezeigt.

1.3.2.2 Entnahmeort

Als Entnahmeort sollte in der Regel die Vena cubitalis in der Ellenbeuge gewählt werden. Die Punktion der Vena femoralis sowie von Venen im Bereich entzündeter Hautareale ist wegen erhöhter Kontaminationsgefahr zu vermeiden. Bei Neugeborenen können die Blutkulturen mittels eines geschlossenen Punktionssystems aus Kopfschwartenvenen, Handrücken oder Ellenbeugenvenen entnommen werden. Die Kultur von arteriellem Blut bringt auch bei Endokarditis und Fungämie keine

Vorteile. Die Entnahme über intravasale Katheter oder Portsysteme beinhaltet das Risiko einer höheren Kontaminationsrate.

Die Entnahme ist unter aseptischen Kautelen durchzuführen.

1.3.2.3 Hautdesinfektion

Die Punktionsstelle wird auf einer ausreichend großen Fläche (ca. 5 x 5 cm) mit einem Polyvidon-Jod-Präparat oder einem Hautdesinfektionsmittel auf Alkoholbasis (70 % Ethanol) desinfiziert. Das Auftragen erfolgt mit einem sterilen Tupfer. Die erforderliche Einwirkzeit von 1 min oder orientierend bis zur Trocknung des Desinfektionsmittels muss unbedingt eingehalten werden. Innerhalb des primär desinfizierten Bereiches schließt sich eine zweite Desinfektion mit einem alkoholischen Hautdesinfektionsmittel (70 % Ethanol) an. Zur Punktion gründliche hygienische Händedesinfektion vornehmen. Es wird das Tragen steriler Handschuhe empfohlen.

1.3.2.4 Blutentnahme

Die meisten Bakteriämien beim Erwachsenen weisen eine Keimzahl von $<1 - 10$ KBE/ml Blut auf. Die erfolgreiche Isolierung ist direkt von der Menge des entnommenen Blutes abhängig. In der Regel werden für jede Blutkultur 10 – 20 ml Blut aspiriert und jeweils 5 – 10 ml in die aerobe und in die anaerobe Blutkulturflasche verimpft. Es soll ein Mischungsverhältnis von 1:5 bis 1:10 zwischen Blut und Kulturmedium erreicht werden.

Bei Kindern ist das Ausmaß der Bakteriämie meist erheblich größer als beim Erwachsenen (oft > 100 KBE/ml), so dass ein geringeres Blutkulturvolumen von 1 – 5 ml ausreicht. Bei Früh- und Neugeborenen sind mindestens 0,5 ml Blut erforderlich.

Zur Entnahme werden üblicherweise sterile Spritzen mit ausreichend großlumigen Kanülen verwendet.

Vor der Beimpfung der Blutkulturflaschen muss nach der Entfernung der Schutzkappen der Blutkulturflaschen der darunter liegende Gummistopfen ebenfalls mit Ethanol desinfiziert werden. Der Alkohol muss vor der Beimpfung vollständig verdunstet sein.

Die Blutkulturflaschen sind vor der Blutentnahme zu temperieren (25 – 36 °C). Eine über 36 °C hinausgehende Erwärmung ist zu vermeiden. Vor dem Injizieren des gewonnenen Blutes in die vorbereitete Kulturflasche ist unbedingt ein Kanülenwechsel vorzunehmen.

1.3.2.5 Begleitschein

Neben den persönlichen Daten des Patienten, dem Datum und der Uhrzeit der Blutentnahme sowie der einsendenden Station sollten die Verdachtsdiagnose, mögliche prädisponierende Grunderkrankungen und eine eventuelle antibiotische Vorbehandlung auf dem Begleitschein vermerkt werden. Um eine rasche Befundmitteilung zu gewährleisten, ist die Angabe der Telefonnummer des Einsenders wichtig. Die Flaschen müssen ebenfalls mit dem Namen des Patienten gekennzeichnet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.

1.3.2.6 Probentransport

Der Transport der beimpften Blutkulturflaschen zum Labor muss sofort erfolgen. Dabei sollen die Flaschen gegen Auskühlung geschützt werden. Eine artifizielle Erwärmung ist zu vermeiden.

1.3.3 Befundinterpretation

Der mehrfache Nachweis des gleichen Erregers aus aufeinander folgenden Blutkulturen ist beweisend für eine Sepsis durch diesen Erreger.

Typische Erreger wie z. B. *Staphylococcus aureus*, β -hämolyisierende Streptokokken, *E.coli* oder *Klebsiella pneumoniae* sind auch bei ein- oder zweimaligem Nachweis als ätiologisch relevant anzusehen. Beim Nachweis von *Staphylococcus epidermidis* und anderen Plasmakoagulase negativen Staphylokokken ist nur der mehrmalige Nachweis des gleichen Stammes bei dazu passender Klinik beweisend für eine ursächliche Bedeutung.

1.4 Katheterspitzen

1.4.1 Indikation zur Untersuchung

Intravasale Katheter sind nach einer Verweildauer von mehr als 2 Tagen häufig von koagulasenegativen Staphylokokken besiedelt. Aufgrund ihrer Glykokalix vermögen diese an den

Kunststoffen anzuhafte und sich dort zu vermehren. Eine hämatogene Aussaat dieser Keime führt häufig zu Fieberschüben. Zur Ursachenklärung ist die mikrobiologische Untersuchung der Katheter bei gleichzeitiger Entnahme von Blutkulturen durch periphere Venenpunktion angezeigt.

1.4.2 Materialentnahme und Transport

Die Katheter sind unter sterilen Kautelen mit einer sterilen Pinzette zu ziehen und bei Transportzeiten unter 2 Stunden in ein steriles Probenröhrchen, sonst in ein Röhrchen mit Transportmedium zu geben.

1.4.3 Befundinterpretation

Der Nachweis des gleichen Bakterienstammes von einer Katheterspitze und einer bei Temperaturerhöhung peripher entnommenen Blutkultur spricht für dessen kausale Bedeutung.

1.5 Liquor

1.5.1 Indikation zur Probennahme

- Verdacht auf Meningitis, Meningoenzephalitis und Hirnabszess
- differenzialdiagnostische Abklärung unklarer Meningoenzephalitiden und Enzephalitiden bzw. einer ZNS-Beteiligung bei polysystemisch verlaufenden Infektionskrankheiten

Die Tuberkulosedagnostik wird im Abschnitt 3 „Mykobakterien-Diagnostik“ abgehandelt.

1.5.2 Materialentnahme und Transport

Für die Entnahme von Liquor gelten die gleichen hygienischen Anforderungen wie für die anderen Punktate, die Probengewinnung erfolgt unter streng aseptischen Kautelen. Der gewonnene Liquor ist ungekühlt auf dem schnellsten Weg in das Labor zu bringen. Bei Verdacht auf eine akut verlaufende Infektion des ZNS ist die Bearbeitung des Untersuchungsmaterials als besonders dringlich einzustufen und vorrangig durchzuführen.

1.5.3 Befundinterpretation

Kontaminationen mit Keimen der Hautflora kommen vor, sind aber bei primären bakteriellen Meningitiden kein differentialdiagnostisches Problem.

Ein negatives Kulturergebnis schließt, insbesondere bei entsprechender Leukozytose des Liquors, das Vorliegen einer bakteriellen Genese nicht aus.

1.6 Punktate

1.6.1 Indikationen zur Entnahme von Punktaten

- Verdacht auf Pleura- bzw. Perikarderguss infektiöser Genese
- mikrobiologische Diagnostik bei Ascites
- differenzialdiagnostische Abklärung von Gelenkergüssen,
- Verdacht auf Gelenkinfektion
- mikrobiologische Diagnostik bei zystischen Organveränderungen (Kontraindikation: Echinokokkose-Verdacht)
- mikrobiologische Diagnostik bei Seromen und Hämatomen zum Ausschluss einer Superinfektion

Die Tuberkulosedagnostik wird im Abschnitt 3 „Mykobakterien-Diagnostik“ abgehandelt.

1.6.2 Materialentnahme und Transport

Punktatgewinnung von primär sterilen Körperflüssigkeiten wie Pleurapunktat und Gelenkpunktat ist nach sehr sorgfältiger Desinfektion der Punktionsstelle durchzuführen. Wichtig ist es, Keimeinschleppungen und Kontaminationen zu vermeiden. Je nach Entnahmestelle sind 1 bis 10 ml Punktionsflüssigkeit unter streng aseptischen Kautelen zu gewinnen und in ein steriles Probenröhrchen mit dicht schließender Schraubkappe zu geben. Das Röhrchen ist sofort nach der Probennahme zu verschließen und bei Umgebungstemperatur in das Labor zu senden.

1.6.3 Befundinterpretation

Bei Ausschluss einer Kontamination durch Keime der Hautflora sind die nachgewiesenen Erreger als relevant zu betrachten.

1.7 Sekrete des Respirationstraktes

1.7.1 Indikationen zur Materialentnahme

- akute eitrige Bronchitis
- exazerbierte chronische Bronchitis
- Bronchiektasen
- ätiologische Abklärung von Pneumonien
- mikrobiologisches Monitoring von Intensivpatienten

Die Tuberkulosedagnostik wird im Abschnitt 3 „Mykobakterien-Diagnostik“ abgehandelt.

1.7.2 Materialentnahme und Transport

1.7.2.1 Sputum

Zur kulturellen Diagnostik sollte ausschließlich eitriges Sputum eingesandt werden. Lediglich bei Verdacht auf Legionellose, Tuberkulose und bei immunsupprimierten Patienten kann erforderlichenfalls hiervon abgewichen werden. Die Sputumgewinnung sollte frühmorgens erfolgen. Zur Verminderung der Kontamination des expektorierten Materials durch Mund- und Rachenflora ist vor der Sputumgewinnung mit frischem Leitungswasser zu gurgeln, Zahnprothesen sind zu entfernen und eine gründliche Mundspülung durchzuführen.

Das gewonnene Material sollte möglichst innerhalb von 2 Stunden in das Labor gebracht werden, bei Zwischenlagerung ist Kühlschranksaufbewahrung notwendig.

1.7.2.2 Trachealsekret, Bronchialsekret, Bronchoalveoläre Lavage (BAL)

Gewonnenes Probenmaterial in dicht schließenden Gefäßen umgehend einsenden, bei Zwischenlagerung ist Kühlschranksaufbewahrung notwendig. Zum Nachweis von Chlamydien und zum Virusnachweis ist vorherige Rücksprache mit dem Labor notwendig.

1.7.3 Befundinterpretation

Bei allen peroral gewonnenen Untersuchungsmaterialien besteht ein mehr oder weniger großes Risiko der Kontamination durch Keime der Mundflora bzw. Standortflora der oberen Luftwege (z.B. alpha-hämolyisierende Streptokokken, koagulasenegative Staphylokokken, Neisseria Spezies). Diese Keime finden bei der Befundung von Sputumproben generell keine Berücksichtigung, sind aber auch in anderen respiratorischen Sekreten kritisch zu bewerten.

1.8 Stuhlproben

1.8.1 Indikationen zur bakteriologischen Stuhluntersuchung

- Basisdiagnostik bei der ätiologischen Abklärung von intestinalen Infektionen
- differenzialdiagnostische Abklärung unklarer Durchfallerkrankungen
- Therapiekontrolle bzw. Kontrolle der Ausscheidung darmpathogener Erreger
- Abklärung von Lebensmittelvergiftungen

1.8.2 Untersuchungsspektrum

Als Basisdiagnostik wird die Untersuchung auf Salmonellen, Shigellen, Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni/coli und enteropathogene E. coli durchgeführt. Hierbei werden seltenerer Enteritiserreger wie Aeromonas hydrophila und Plesiomonas shigelloides mit erfasst. Bei Verdacht auf Lebensmittelvergiftung erfolgt zusätzlich Untersuchung auf enterotoxinbildende Staphylococcus aureus- und Bacillus cereus-Stämme sowie Clostridium perfringens-Enterotoxin. Die Untersuchung auf enterohämorrhagische E. coli, Vibrionen, Listerien und die Clostridium-difficile Diagnostik werden nur auf Anforderung durchgeführt. Der Nachweis charakteristischer Virulenzmarker darmpathogener E. coli erfolgt mit molekularbiologischen Methoden (PCR) s. 2.6.

1.8.3 Materialentnahme und Transport

Für die Diagnostik von Darminfektionen sind in erster Linie Stuhlproben und Rektalabstriche einsetzbar. Rektalabstriche sollen wegen der eingeschränkten Untersuchungsmöglichkeiten nur eingesandt werden, wenn Stuhl nicht gewonnen werden kann. Bei Verdacht auf Typhus und Paratyphus ist die zusätzliche kulturelle Untersuchung von Blut immer notwendig.

Der Stuhl sollte in ein sauberes Gefäß oder eine frisch gespülte Toilettenschüssel entleert werden. Mit dem im Transportgefäß enthaltenen Löffelchen ist eine mindestens haselnussgroße Menge zu entnehmen. Blutige, schleimige oder eitrigte Anteile sollten bevorzugt entnommen werden. Sind zusätzliche parasitologische, virologische, oder infektions-immunologische Untersuchungen (z.B. Antigen-EIA) vorgesehen, sollte das Stuhlgefäß zur Hälfte gefüllt sein.

Rektalabstriche sollten mit speziell präparierten Tupfern, welche auf Anforderung zur Verfügung stehen, durchgeführt werden. Abstrichtupfer sind für den Nachweis bakterieller Toxine nicht verwendbar.

Die Proben für die kulturelle Diagnostik sollten möglichst innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme, spätestens aber binnen 24 Stunden in das Labor gebracht werden.

Bei Cholera-Verdacht ist das Laboratorium sofort telefonisch zu informieren und die Probe auf schnellstem Wege durch einen Kurier zu übermitteln.

1.8.4 Befundinterpretation

Der Nachweis eines Enteritiserregers ist ätiologisch beweisend. Ein einzelner negativer Untersuchungsbefund ist für eine Ausschlussdiagnostik jedoch nicht ausreichend. Hierfür sollten 3 negative Untersuchungsergebnisse vorliegen.

Der alleinige kulturelle Nachweis von *Clostridium difficile* ohne Toxinnachweis im Originalmaterial ist kritisch unter Berücksichtigung der klinischen Situation und des Toxinbildungsvermögens des isolierten Stammes zu bewerten.

Bei der ätiologischen Abklärung von Lebensmittelvergiftungen sind die mikrobiologischen Untersuchungsergebnisse verdächtiger Lebensmittel zu berücksichtigen.

1.9 Urin

Harnwegsinfektionen treten im ambulanten und klinischen Bereich sehr häufig auf. Etwa 3 % aller Patienten beim Allgemeinarzt zeigen Symptome einer Harnwegsinfektion und etwa 30 – 40 % aller nosokomialen Infektionen sind Harnwegsinfektionen.

1.9.1 Indikationen zur mikrobiologischen Urinuntersuchung

- Verdacht auf Harnwegsinfektion
- Pyelonephritis
- unklares Fieber bei Blasenverweilkatheter

Die Tuberkulosedagnostik wird im Abschnitt 3 „Mykobakterien-Diagnostik“ abgehandelt.

1.9.2 Materialentnahme

Die exakte Gewinnung des Urins ist Voraussetzung für einen verwertbaren bakteriologischen Befund. Kontaminationen sind zu vermeiden. Am besten geeignet ist der Morgenurin. Der Urin sollte möglichst vor Beginn einer antibakteriellen Chemotherapie gewonnen werden.

1.9.2.1 Mittelstrahlurin

Die Gewinnung von Mittelstrahlurin gilt als Methode der ersten Wahl. Um das hierbei bestehende Kontaminationsrisiko durch Urethraflora bzw. Standortflora des Genitale zu minimieren, ist eine sachgemäße Entnahmetechnik notwendig.

Es ist wichtig, den Patienten über geeignete Reinigungsmaßnahmen zur Vermeidung der Kontamination des Untersuchungsmaterials durch geschultes Personal bzw. Aushang auf den Toiletten zu instruieren. Zur korrekten Entnahme von Mittelstrahlurin sind folgende Materialien erforderlich:

1. sterile Baumwolltupfer
2. Seifenlösung (Flüssigseife)

3. warmes Leitungswasser
4. steriles Einweggefäß
5. steriles Urintransportgefäß
oder Urintauchkultur

Reinigung bei der Frau

1. Unterwäsche ablegen
2. Hände sorgfältig mit Seife und Wasser waschen
3. mit einer Hand die Labien spreizen und geöffnet halten, bis die Uringewinnung abgeschlossen ist
4. Vulva mit der anderen Hand von vorn nach hinten mit in Seifenlösung oder in handwarmes Wasser getauchten Tupfer reinigen
5. nachfolgend mit Tupfer und warmem Wasser abspülen

Reinigung beim Mann

1. Hände sorgfältig mit Seife und Wasser waschen
2. Präputium vollständig zurückziehen
3. Glans penis mit einem Tupfer und Seifenlösung waschen
4. mit einem zweiten Tupfer und warmem Wasser abspülen
5. mit einem dritten Tupfer das Orificium urethrae trocknen

Urinentnahme

Nachdem etwa ein Drittel des Harnblaseninhaltes in die Toilette entleert wurde, ohne Unterbrechung der Harnstrahles ca. 10 ml in einem sterilen Behälter auffangen. Dabei Verunreinigung durch z. B. Hand oder Kleidung vermeiden.

1.9.2.2 Katheterurin

Eine Katheterisierung zu diagnostischen Zwecken kann routinemäßig nicht empfohlen werden. Sie sollte nur angewendet werden, wenn eine einwandfreie Gewinnung von Mittelstrahlurin nicht möglich ist und eine Blasenpunktion nicht in Betracht gezogen wird.

Die sorgfältige Dekontamination des Orificium urethrae und dessen Umgebung ist auch bei dieser Art der Materialgewinnung eine wichtige präanalytische Maßnahme.

Grundsätzlich sind Einwegkatheter zu verwenden. Die Katheter sind unter aseptischen Bedingungen zu legen. Nach Einführung des Katheters wird die erste Urinprobe analog der Vorgehensweise beim Mittelstrahlurin verworfen und die Folgende steril aufgefangen.

Ein besonderes Risiko der Keimeinwanderung und der Kontamination des Probenmaterials besteht bei Dauerkatheterpatienten. Die Uringewinnung erfolgt durch Punktion des Katheters nach sorgfältiger Desinfektion der bei den meisten Ableitungssystemen bereits für die Punktion vorgesehen Einstichstelle. Eine Entnahme aus dem Urinauffangbeutel ist ohne diagnostische Aussagekraft!

1.9.2.3 Blasenpunktionsurin

Durch suprapubische Punktion der Harnblase ist eine Kontamination des Probenmaterials nahezu ausgeschlossen. Sie sollte nur nach strenger Indikationsstellung durchgeführt werden. Als Indikationen gelten:

- Schwierigkeiten hinsichtlich einwandfreier Uringewinnung durch andere Methoden
- fragliche bakteriologische Ergebnisse, insbesondere bei wiederholten Mischkulturen

1.9.3 Vorbereitung der Urinprobe und Probentransport

In unbehandeltem Nativurin kommt es bei Umgebungstemperatur zur Vermehrung von wenig anspruchsvollen Bakterienarten und damit zur Verfälschung der Keimzahl und Verschiebung der Keimrelationen. Um dies zu kompensieren, sind folgende Vorgehensweisen möglich:

- Nativurin in steriles Probentransportröhrchen füllen und binnen 2 Stunden in das mikrobiologische Labor geben
- Bei längeren Transportzeiten Durchführung einer Urintauchkultur (UTK). Auf vollständige Benetzung des Nährbodens der UTK und ausreichendes Abtropfen nach Benetzung ist zu achten. Anschließend die UTK in das Transportgefäß zurückgeben und bei Raumtemperatur bis zum Transport in das Labor (max. 2 - 4 Stunden) stehenlassen oder bei 37 °C bebrüten. Bei

bebrüteten Urintauchkulturen sollte die Bebrütungsdauer 24 Stunden und die Transportdauer 48 Stunden nicht überschreiten.

1.9.4 Befundinterpretation

Der Nachweis von 1 oder 2 pathogenen Keimarten in signifikanter Keimzahl ($> 10^5$ KBE/ml) aus Mittelstrahlurin bestätigt in der Regel das Vorliegen eines Harnwegsinfektes. Bei Nachweis von 1 oder 2 pathogenen Keimarten in Keimzahlen von $< 10^5$ KBE/ml gilt ein Harnwegsinfekt als möglich, wenn es sich um symptomatische Patienten, Kinder, Transplantierte sowie um Patienten mit chronisch-rezidivierenden Harnwegsinfektionen und Patienten unter Antibiotikatherapie handelt. In diesen Fällen ist eine Kontrolluntersuchung zu empfehlen.

Der Nachweis von 1 oder 2 pathogenen Keimarten aus Katheterurin in einer Keimzahl von $> 10^4$ KBE/ml spricht für das Vorliegen eines Harnwegsinfektes. Bei Nachweis von 1 oder 2 pathogenen Keimarten in Keimzahlen von $< 10^4$ KBE/ml gilt ein Harnwegsinfekt als möglich, wenn es sich um symptomatische Patienten, Kinder, Transplantierte, Patienten mit chronisch-rezidivierenden Harnwegsinfektionen und Patienten unter Antibiotikatherapie handelt. Bei Nachweis von 3 oder mehr Keimarten aus Mittelstrahl- und Katheterurin ist eine Kontamination wahrscheinlich und eine Kontrolluntersuchung erforderlich. Der Nachweis von mehr als 2 ätiologisch relevanten Keimarten ist bei Harnabflussstörungen und Dauerkatheterträgern möglich. Bei Untersuchung von Blasenpunktionsurin ist jede Keimart unabhängig von der Keimzahl als bedeutsam anzusehen.

2. Nachweis spezieller bakterieller Infektionserreger

2.1 Anaerobier

2.1.1 Sporenlose Anaerobier

Indikation

Obligate Anaerobier gehören zur normalen Standortflora des Mund-Rachen-Raumes, des Gastrointestinal- und Genitaltraktes. Wichtige klinische Untersuchungsmaterialien zum Nachweis von Anaerobiern sind Liquor bei Verdacht auf Hirnabszess, Pleurapunktat bei Pleuraempyem, Bronchiallavage, Lungenbiopsat bzw. Abszessmaterial bei Aspirationspneumonie und Lungenabszess, Aszitespunktat, Blasenpunktionsurin, Gelenkpunktat bei Verdacht auf Gelenkempyem, Empyem- oder Abszesseiter nicht genannter Lokalisationen sowie Wundmaterial.

Materialentnahme und Transport

Da Untersuchungsmaterialien für die Anaerobierdiagnostik von der Probenahme bis zur Verarbeitung im Labor vor Sauerstoffeinfluss geschützt werden müssen, empfiehlt sich der Versand von Eiterproben in Spritzen mit verschlossenem Konus und von Abstrich- und Gewebeproben in Transportmedium. Der Transport in das Labor sollte umgehend (max. Transportdauer 24 h) bei Raumtemperatur erfolgen.

2.1.2 Aktinomyzeten

Zum Nachweis von Aktinomykoseerregern eignen sich Abszesseiter, Fistelsekret und Gewebematerial aus den verdächtigen granulomatös-eitrigen Entzündungsherden. Bei Verdacht auf thorakale Aktinomykose kommen auch gezielt entnommenes Bronchialsekret bzw. ggf. Eiterproben bei Pleuraempyem in Betracht. Bei oraler oder bronchoskopischer Materialentnahme ist die Möglichkeit einer Kontamination des Untersuchungsmaterials durch Aktinomyzeten der Mundflora zu berücksichtigen. Dieses Kontaminationsrisiko besteht nicht bei perkutaner Inzision, Punktion oder Biopsie bzw. bei transtrachealer Aspiration und transthorakaler Lungenpunktion. Bei Verdacht auf aktinomyzetenbedingte Canaliculitis kann eitriges Exprimat aus den Tränenkanälchen am Abstrichtupfer aufgenommen und in Transportmedium versandt werden. Bei intrauterinen Infektionen sind Cervicalabstriche, entfernte IUP's und ggf. Operationsmaterial zu untersuchen. Die Entnahme von Fistelsekreten wird im Abschnitt „Fistelabstriche“ 1.1.2.7 beschrieben. Körnige Elemente in Eiter und Sekreten (Drusen) sind unbedingt für die Diagnostik sicherzustellen. Der Transport in das Labor sollte umgehend (max. Transportdauer 24 h) bei Raumtemperatur erfolgen.

2.2 Clostridien

2.2.1 Clostridium difficile

Indikation

Verdacht auf *C. difficile* assoziierte Diarrhoe (CDAD): Diarrhoe nach Antibiotikagabe; Nosokomiale Diarrhoe, die 72 Stunden nach Krankenhausaufnahme auftritt; Verdacht auf pseudomembranöse Colitis.

Aus dem Stuhl erfolgen der Nachweis von A- und B-Toxin mittels EIA als Direktnachweis sowie der kulturelle Erregernachweis. Weiterhin wird bei Anzucht des Erregers die Toxinbildungsfähigkeit des entsprechenden Stammes geprüft.

Materialentnahme und Transport

siehe Stuhlproben unter Punkt 1.8

Untersucht wird dünnflüssiger Stuhl mit einer Mindestmenge von 5 ml. Da das *C. difficile*-Toxin instabil ist und bei Raumtemperatur zerfällt, muss der Transport umgehend bei Raumtemperatur (max. Transportdauer 2 h) oder gekühlt bei 2 – 8 °C (max. Transportdauer 24 h) erfolgen.

Befundinterpretation

Der direkte Nachweis von *C. difficile* Toxin aus Stuhl und/oder der Nachweis eines *C. difficile* Stammes mit Toxinbildungsvermögen weisen auf das Vorliegen einer CDAD hin. Der kulturelle Nachweis eines *C. difficile* Isolates ohne Toxinbildungsvermögen bei negativem Toxin-Direktnachweis spricht für eine Besiedlung des Darmtraktes.

2.2.2 Clostridium perfringens (Gasbrand)

Beim Gasbrand (Gasödem) im eigentlichen Sinne handelt es sich im Gegensatz zu anderen gasbildenden Weichteilinfektionen um eine rasch progrediente, clostridienbedingte Myonekrose mit ausgeprägten toxischen Allgemeinsymptomen. Über 90 % der Erkrankungen werden durch Clostridium perfringens verursacht. Clostridium septicum, C. novyi und C. histolyticum sind seltene Gasbranderreger.

2.2.2.1 Clostridium perfringens Kultur

Indikation

Bei Gasbrandverdacht ist die sofortige notfallmäßige mikroskopische Untersuchung von exzidiertem Muskelgewebe indiziert (Bakterioskopie).

Materialentnahme und Transport

Die Entnahme des Untersuchungsmaterials soll an der proximal gelegenen Grenze der Myonekrose zum gesunden Muskelgewebe erfolgen. Es sollen mindestens 10 g befallenes Muskelgewebe in einem geeigneten sterilen Probentransportgefäß eingesandt werden. Unverzögerlicher Transport des Materials bei Raumtemperatur ist erforderlich. Für den Nachweis von Clostridium perfringens steht zusätzlich zur Bakterioskopie eine kulturelle Schnellmethode mit Prüfung charakteristischer biochemischer Leitreaktionen zur Verfügung. Eine Aussage über das Vorliegen von C. perfringens ist nach 3 - 4 Stunden möglich. In allen Fällen schließt sich an die Bakterioskopie und den Clostridium perfringens-Schnellnachweis eine konventionelle mikrobiologische Diagnostik an.

Befundinterpretation

Die Diagnose eines Gasbrandes (Gasödems) ist eine klinische Diagnose und erfordert eine sofortige therapeutische Intervention. Die mikrobiologische Diagnostik kann die Diagnosestellung unterstützen bzw. bestätigen, jedoch nicht ersetzen.

2.2.2.2 Clostridium perfringens PCR

Indikation

Toxintypbestimmung humaner und veterinärmedizinischer Clostridium perfringens-Isolate als alternative Methode zum Tierversuch, Nachweis enterotoxinbildender C. perfringens-Isolate bei Untersuchungen von Lebensmittelproben im Zusammenhang mit Erkrankungsgeschehen.

Materialentnahme und Transport

Clostridien-Isolate zur Toxintypbestimmung sind mit dem Tupfer eines Abstrichbestecks aufzunehmen und im Probenröhrchen mit Transportmedium bei Raumtemperatur einzusenden. Der Transport sollte umgehend (max. Transportdauer 24 h) erfolgen.

Befundinterpretation

Der Nachweis der Letaltoxingene mittels PCR erlaubt eine Zuordnung der untersuchten Clostridium perfringens-Stämme zu den Toxintypen A-E. Der Nachweis des C. perfringens Enterotoxingens in Isolaten aus Lebensmitteln ermöglicht deren Identifizierung als potentiellen Enterotoxinbildner.

2.2.3 Clostridium botulinum (Botulismus)

Das diagnostische Vorgehen bei Verdacht auf Botulismus ist abhängig von der Pathogenese des jeweiligen Erkrankungsfalles.

2.2.3.1 Clostridium botulinum Kultur und Toxinnachweis

Wird ein lebensmittelbedingter Botulismus vermutet, ist vorrangig der Nachweis von Clostridium botulinum und Botulinum-Toxin aus verdächtigen Lebensmitteln bzw. Lebensmittelresten und der Nachweis von Botulinum-Toxin im Serum des Patienten anzustreben. Lebensmittelproben sind im Originalzustand auf dem schnellsten Weg und möglichst gekühlt in das Labor zu bringen. Die Serumgewinnung muss vor Antitoxingabe erfolgen. Es sollten mindestens 2 ml in einem für Serum geeigneten Probentransportröhrchen gekühlt eingesandt werden. Die zusätzliche Untersuchung von Erbrochenem, Mageninhalt sowie Stuhl auf Clostridium botulinum und Botulinum-Toxin kann in den ersten 24 h nach Symptombeginn ebenfalls diagnostische Hinweise geben.

Bei Verdacht auf Säuglingsbotulismus sollte die Untersuchung von 3 zu verschiedenen Zeitpunkten entnommenen Stuhlproben auf Clostridium botulinum und Botulinum-Toxin erfolgen. Es sind jeweils mindestens eine haselnussgroße Menge geformten oder mindestens 1,5 ml flüssigen Stuhls im

sterilen Probentransportröhrchen gekühlt einzusenden. Der Toxinnachweis im Serum gilt als nicht zuverlässig, sollte aber versucht werden.

Bei Verdacht auf Wundbotulismus ist Wundmaterial (exzidiert oder mit Abstrichtupfer entnommen) im Abstrichröhrchen mit Transportmedium nach AMIES oder STUART einzusenden. Der Toxinnachweis im Serum wird zusätzlich empfohlen.

Der Toxinnachweis erfolgt im Maus-Bioassay (Tierversuch). Er dauert je nach vorhandener Toxinmenge 1 – 5 Tage. Eine Bestimmung des Toxintyps des jeweiligen *C. botulinum*-Stammes ist möglich.

2.2.3.2 Clostridium botulinum PCR

Indikation

Differenzierung zwischen *Clostridium botulinum* und morphologisch gleichen nichttoxinogenen Isolaten aus klinischen Probenmaterialien und verdächtigen Lebensmitteln ohne Einsatz des Tierversuches.

Materialentnahme und Transport

Clostridien-Isolate sind mit dem Tupfer eines Abstrichbestecks aufzunehmen und im Probenröhrchen mit Transportmedium bei Raumtemperatur einzusenden. Der Transport sollte umgehend (max. Transportdauer 24 h) erfolgen.

Befundinterpretation

Der Nachweis von Botulinum-Neurotoxigen-DNA in Stämmen, die aus klinischen Proben und Lebensmitteln angezüchtet wurden, identifiziert diese als *Clostridium botulinum*. Gleichzeitig ist eine Bestimmung des Toxintyps des jeweiligen *C. botulinum*-Stammes möglich. Eine Aussage über das tatsächliche Toxinbildungsvermögen kann jedoch nur mit Hilfe des Tierversuches (s.o.) getroffen werden.

2.2.4 Clostridium tetani (Tetanus)

Ein Tetanusverdacht kann durch eine mikrobiologische Untersuchung mit gelungenem Nachweis von *Clostridium tetani* bzw. Tetanus-Neurotoxin (Tetanospasmin) bestätigt, bei negativem Ausfall der Diagnostik jedoch nicht ausgeschlossen werden. Entscheidend ist die umgehende Einsendung von exzidiertem bzw. möglichst tief entnommenem Wundmaterial, einschließlich entfernter Fremdkörper, in einem sterilen Gefäß bei Raumtemperatur (s.o.). Der Toxinnachweis erfolgt im Maus-Bioassay (Tierversuch). Der Toxinnachweis im Serum gelingt in der Regel nicht, soll aber versucht werden. Die Serumgewinnung muss vor Antitoxingabe erfolgen. Es wird mindestens 2 ml Serum für den Toxinnachweis benötigt, der Transport erfolgt schnellstmöglich gekühlt.

2.3 Bordetella pertussis (Keuchhusten)

Hinweise zur serologischen Diagnostik s. 7.4.1

2.3.1 Bordetella pertussis Kultur

Indikation

Verdacht auf Keuchhusten, vor allem im Frühstadium der Erkrankung.

Die kulturelle Untersuchung führt vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern mit kurzer Erkrankungsdauer (Symptome erst 1 – 2 Wochen) ohne Antibiotikabehandlung zum Erfolg.

Materialentnahme und Transport

Das am besten geeignete Untersuchungsmaterial wird durch eine Nasopharyngeal-Absaugung gewonnen. In zweiter Linie kommt ein Nasopharyngeal-Abstrich in Frage. Dieser wird mit einem Dacron-Tupfer oder Kalzium-Alginat-Tupfer mit flexiblem Führungsdraht entnommen. Transorale Rachenabstriche führen im Vergleich zu den genannten Techniken zu einer deutlich niedrigeren Nachweisrate.

Da Bordetellen gegen Austrocknung extrem empfindlich sind, entweder bereitgestellte Kulturmedien direkt nach der Abnahme beimpfen oder es muss ein Transportmedium mit Aktivkohlezusatz verwendet werden. Der Transport sollte schnellstmöglich bei Raumtemperatur (max. Transportdauer 24 h) erfolgen.

2.3.2 Bordetella pertussis PCR

Indikation

Verdacht auf Keuchhusten, vor allem im Frühstadium der Erkrankung und bei bereits begonnener Antibiotikatherapie.

Die PCR ist schnell und sensitiv. Sie erfasst auch bereits abgestorbene Keime, z. B. nach antibiotischer Behandlung, und ist auch erfolgversprechend, wenn nur wenige Erreger vorhanden sind (fortgeschrittenes Stadium der Erkrankung, geimpfte Personen). Bei Jugendlichen und Erwachsenen ist jedoch die Sensitivität deutlich geringer.

Materialentnahme und Transport

Transnasal entnommener Nasopharyngealabstrich mit speziellem Entnahmetupfer (s.o.). Das gewonnene Material ist in ein Probentransportröhrchen ohne Transportmedium einzubringen. Der Transport sollte schnellstmöglich bei Raumtemperatur (max. Transportdauer 24 h) erfolgen. Wenn zusätzlich zur PCR der kulturelle Nachweis gewünscht wird, ist ein Tupfer mit Transportmedium zu verwenden (s.o.).

Befundinterpretation

Jeder Nachweis von Bordetella pertussis bzw. Bordetella pertussis-DNA gilt als signifikant. Die Diagnosestellung erfolgt bei Übereinstimmung des klinischen Bildes und entsprechender Anamnese.

2.4 Borrelien PCR

Indikation

Neben klinischen und serologischen Untersuchungen (siehe 7.4.2) kann auch der direkte Erregernachweis zur Abklärung einer möglichen Borreliose beitragen. Mit der PCR wird die DNA schon sehr weniger, vorhandener Borrelien nachgewiesen.

Die Untersuchung einer aus der Haut entfernten Zecke ist möglich, erlaubt aber keine Einschätzung eines möglichen Infektionsrisikos. Bitte beachten, dass der DNA-Nachweis aus der Zecke nicht von den Krankenkassen getragen wird.

Bei Auftreten einer Hautrötung (Erythem, typisch als Erythema chronicum migrans, sog. Wanderröte) gelingt der Borrelien-Nachweis in einer Hautprobe vom Randbezirk des betroffenen Areals, und erlaubt daher eine frühere Diagnosebestätigung als der Antikörpernachweis im Blut. Im späteren Verlauf einer Borreliose können die Erreger z. B. im Gelenkpunktat oder bei Verdacht auf Neuroborreliose in Liquorproben nachgewiesen werden.

Materialentnahme und Transport

Hautbiopsien, Gelenkpunkttate, Synovialisbiopsien oder Liquor (mind. 5 ml) in einem dicht schließenden sterilen Probentransportröhrchen innerhalb eines Tages bei Raumtemperatur in das Labor schicken.

Befundinterpretation

Die Nachweisrate (Empfindlichkeit) der PCR zum Erregernachweis bei der Borreliose ist abhängig vom Untersuchungsmaterial. Sie beträgt für Hautproben und Gelenkflüssigkeit ca. 50 – 70 %, für Liquor nur 10 – 30 %. Die PCR ersetzt daher nicht die anderen Untersuchungsmethoden, wie die Serologie.

2.5 Corynebacterium diphtheriae

2.5.1 Corynebacterium diphtheriae Kultur

Nasopharyngeal-, Rachen- und Tonsillenabstriche sind gleichermaßen geeignet. Falls Pseudomembranen zu sehen sind, werden diese ggf. unter laryngoskopischer Kontrolle mit einer Zange oder Pinzette abgezupft und die Materialentnahme im Randbereich der entstehenden Läsionen durchgeführt. Bei Verdacht auf eine kutane Infektion mit *C. diphtheriae* werden neben Wund- auch Nasopharyngeal- und Rachenabstriche gewonnen, um eine simultane pharyngeale Besiedlung nachzuweisen. Der Transport der Abstriche und ggf. weiterer Materialien erfolgt in einem Transportmedium bei Raumtemperatur (max. Transportdauer 24 h).

2.5.2 *Corynebacterium diphtheriae* PCR

Bei kultureller Anzucht von *Corynebacterium diphtheriae* muss nachgewiesen werden, dass es sich um einen Diphtherietoxin-bildenden Stamm handelt. Dies geschieht durch Nachweis von DNA-Fragmenten, die für das Diphtherie-Toxin kodieren.

Materialentnahme und Transport für die PCR

Als Material kommen *C. diphtheriae* Stämme auf Festnährmedien oder in Flüssigkultur in Frage. Alternativ kann Kulturmaterial mit dem Tupfer eines Abstrichbestecks aufgenommen und im Probenröhrchen mit Transportmedium bei Raumtemperatur eingesandt werden.

Befundinterpretation

Nur lysogen durch Bakteriophagen infizierte Stämme von *C. diphtheriae* können das Diphtherie-Toxin produzieren. Durch den PCR-Nachweis von DNA-Fragmenten, die für das Diphtherie-Toxin kodieren, wird das Vorliegen toxinogener Corynebakterien bestätigt. Erst der Nachweis eines toxinogenen Stammes sichert die Diagnose einer Diphtherie.

2.6 Darmpathogene *E.coli* (Virulenzmarker)

Indikation

Invasive und toxinbildende Stämme führen zu Durchfallerkrankungen bei Säuglingen und Erwachsenen. Anlass für eine Untersuchung sind beispielsweise blutige Stühle, hämolytisch urämisches Syndrom (HUS), thrombotisch thrombozytopenische Purpura (TTP), Nierenversagen mit Enteritis in der Anamnese, Durchfall nach Auslandsaufenthalt, Kontakt zu Erkrankten an Durchfall oder der Ausbruch einer enteralen Infektion im Wohn- oder Arbeitsumfeld sowie in Gemeinschaftseinrichtungen (Schule, Kindertagesstätte, Altenheim etc.).

Klinisch und pathogenetisch werden folgende Gruppen darmpathogener *E. coli* unterschieden.

EPEC – enteropathogene *E. coli*

EHEC – enterohämorrhagische *E. coli*

ETEC – enterotoxinbildende *E. coli*

EIEC – enteroinvasive *E. coli*

EAEC – enteroaggregative *E. coli*

Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich durch die Bildung unterschiedlicher Pathogenitätsfaktoren (stx_1 , stx_2 , *eaeA*, *EhlyA*, *EAF*, etc.). Der alleinige Nachweis eines Serotyps ist nicht beweisend für einen darmpathogenen *E.coli*.

Mittels der PCR werden die darmpathogenen *E. coli* durch den Nachweis von DNA-Fragmenten, die für die einzelnen Pathogenitätsfaktoren kodieren, differenziert.

Zusätzlich wird das von EHEC-Stämmen gebildete Shigatoxin in Anreicherungskulturen der Stuhlproben bzw. in Flüssigkulturen isolierter *E. coli* Stämme mittels EIA nachgewiesen.

Materialentnahme und Transport

Etwa haselnussgroßes Stück Stuhl oder 2 – 3 ml flüssigen Stuhl ins Stuhlgefäß geben. Bitte keine größeren Materialmengen verwenden!. Transport schnellstmöglich (max. Transportdauer 24 h) bei Raumtemperatur.

Als Material für die PCR kommen außerdem angezüchtete *E. coli* Stämme auf Festnährmedien oder in Flüssigkultur in Frage. Alternativ kann Kulturmaterial mit dem Tupfer eines Abstrichbestecks aufgenommen und im Probenröhrchen mit Transportmedium bei Raumtemperatur eingesandt werden.

Hinweise zur Bewertung

Durch die PCR kann das Vorhandensein charakteristischer Virulenzmarker darmpathogener *E. coli* nachgewiesen werden.

Die Wahrscheinlichkeit, einen *E. coli* mit Pathogenitätsfaktoren zu isolieren, wird umso geringer, je länger die Ansteckung zurückliegt. Die Isolierung kann misslingen, wenn eine Antibiotikatherapie begonnen wurde. Nach einer durchgemachten Erkrankung ist es jedoch möglich, dass die Erreger über längere Zeit, z. T. auch intermittierend, wieder ausgeschieden werden. Jeder Shigatoxin produzierende *E. coli* ist, unabhängig vom Vorhandensein weiterer Pathogenitätsfaktoren, als potentiell pathogen anzusehen.

2.7 Chlamydien

Für den Erregernachweis sind möglichst zellreiche Materialien zu gewinnen, da Chlamydien sich nur intrazellulär vermehren. Die kulturelle Anzucht ist sehr aufwendig und besitzt eine relativ geringe Sensitivität. Aus diesem Grund wird die Diagnostik von *Chlamydophila pneumoniae* und *Chlamydia trachomatis* mit Hilfe der PCR durchgeführt. Für die Untersuchung auf Infektionen durch *Chlamydophila psittaci* (Ornithose) wird die Serologie eingesetzt.

Hinweise zur serologischen Diagnostik siehe 7.4.3.

2.7.1 *Chlamydophila pneumoniae*-PCR

Indikation

Verdacht auf chlamydienbedingte Pneumonie, vor allem bei Jugendlichen und jüngeren Erwachsenen. Etwa 5 – 10 % aller Pneumonien werden durch Chlamydien verursacht.

Materialentnahme und Transport

Als Untersuchungsmaterial kommen in Frage: BAL, Sputum, Biopsiematerial, Trachealsekret, Rachengurgelwasser, Nasopharyngealsekret. Der Probentransport in das Labor sollte umgehend gekühlt in dichtschießenden sterilen Transportgefäßen erfolgen. Bei einer Transportzeit von bis zu 48 Stunden Material kühlen (2 - 8 °C), bei längeren Transportzeiten Material einfrieren und auf Trockeneis (-20 °C) versenden.

Biopsiematerial: Mindestens Millimeter-große Biopsien aus verdächtigen Gewebereichen in sterilem Wasser oder steriler isotoner Kochsalzlösung einsenden.

Bronchialsekret und BAL: Die beste Art der Materialgewinnung stellt die aus den für den Gasaustausch relevanten Regionen dar (alveolärer Bereich). Außerdem sind Kontaminationen durch Begleitflora bei BAL geringer als bei Bronchialsekret.

Andere Untersuchungsmaterialien: Untersuchung nach Absprache möglich, formalinfixiertes Material kann nicht bearbeitet werden.

Befundinterpretation

Die Methode ist ein geeignetes, zuverlässiges Werkzeug zum molekularbiologischen Nachweis von *Chlamydophila pneumoniae* und deren Abgrenzung gegen *Chlamydia trachomatis*.

2.7.2 *Chlamydia trachomatis* PCR

Indikation

Verdacht auf chlamydienbedingte urogenitale Infektion, z. B. im Rahmen der Abklärung einer STD (sexual transmitted disease); Verdacht auf chlamydienbedingte Konjunktivitis

Materialentnahme und Transport

Geeignet sind vor allem zellreiche Abstriche von Urethra, Zervix bzw. Konjunktiva sowie Erststrahl-Urin, Prostatasekret, Eiter oder Punktionsmaterial. Die Tupfer sind im Abstrichröhrchen ohne Transportmedium gekühlt (2 - 8 °C) innerhalb von 24 Stunden in das Labor zu senden. Wird diese Zeitspanne überschritten, müssen die Proben bei -20 °C eingefroren und tiefgekühlt auf Trockeneis eingesandt werden.

Befundinterpretation

Der Nachweis von *Chlamydia trachomatis*-DNA mittels PCR ist als beweisend für eine Infektion anzusehen. Insbesondere die urogenitalen Infektionen verlaufen relativ häufig asymptomatisch.

2.8 Legionellen

Die Legionellose ist eine systemische Infektionskrankheit, deren wichtigste klinische Manifestation die Legionellen-Pneumonie darstellt. Die Schnelldiagnostik der Legionellen-Pneumonie basiert vor allem auf dem Antigennachweis im Urin und dem direkten Nachweis mittels Immunfluoreszenz oder PCR aus Materialien des unteren Respirationstraktes. Zur Erregeranzucht sind ebenfalls Proben des unteren Respirationstraktes wie Bronchialsekrete und BAL aber auch Pleurapunktate geeignet. Hinweise zur serologischen Diagnostik siehe 7.4.12

Hinweise zur Untersuchung von Wasserproben siehe 9

2.8.1 Kultur bei Legionellose

Indikation

Verdacht auf Legionellen-Pneumonie.

Materialentnahme und Transport

Am besten geeignet sind BAL oder dünnflüssige Bronchialspülungen. Möglichst umgehendender Versand bei Raumtemperatur (2 - 3 h), ansonsten Kühlung bei 2 - 8 °C.

Hinweise zur Bewertung

Bei positiver Kultur erfolgt eine Speziesbestimmung und ggf. Serogruppenbestimmung der angezüchteten Legionellen. Dadurch ist eine Aufdeckung von Infektquellen und -ketten möglich. Bei positivem Befund deutet der kulturelle Nachweis mit einer relativ hohen Spezifität auf das Vorliegen einer Legionellose hin. Trotzdem muss immer der klinische Verlauf berücksichtigt werden.

2.8.2 Legionellen PCR

Indikation

Diese PCR-Diagnostik sollte gezielt bei klinischem Verdacht auf eine entsprechende Pneumonie angefordert werden, z. B. bei Pneumonien ohne anderen Erregernachweis oder Nichtansprechen auf β -Laktam-Antibiotika.

Materialentnahme und Versand

Am besten geeignet sind BAL oder dünnflüssige Bronchialspülungen. Möglichst umgehendender Versand (2 - 3 h), ansonsten Kühlung bei 2 - 8 °C.

Befundinterpretation

Die PCR Diagnostik ist zunächst nur ergänzend zur klinischen und konventionellen mikrobiologischen Diagnosestellung anzusehen. Bei entsprechendem Verdacht sollte eine ggfs. notwendige Erweiterung des Wirkspektrums der eingesetzten Antibiotika unabhängig vom PCR-Ergebnis erfolgen.

2.9 Mykoplasmen

2.9.1 Mycoplasma pneumoniae PCR

Indikation

Mycoplasma pneumoniae ist ein Erreger der atypischen Pneumonie vor allem bei Schulkindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen. Die typische Symptomatik umfasst Fieber, Kopfschmerzen und Hustenreiz bei nur geringer Sputumproduktion.

Materialentnahme und Transport

Am besten geeignet sind BAL oder dünnflüssige Bronchialspülungen. Desweiteren kommen als Untersuchungsmaterial in Frage: Bronchial- und Trachealsekret, Nasopharyngeal- und Rachenabstriche (vor allem bei Kindern, in 1 ml physiologischer NaCl-Lösung), provoziertes Sputum (bei Erwachsenen) sowie Pleurapunktat. Die Entnahme soll vor dem Beginn einer antibiotischen Therapie erfolgen. Möglichst umgehendender Versand innerhalb 2 - 3 Stunden ist günstig für die Untersuchung. Ansonsten Transport der Probe bei 2 - 8 °C innerhalb von 24 Stunden.

Befundinterpretation

Die Diagnose wird selten durch die Kultur gestellt. Die PCR, die auf dem DNA-Nachweis nach Amplifikation eines spezifischen Genomfragmentes beruht, zeichnet sich durch hohe Sensitivität, Spezifität und Schnelligkeit aus.

2.9.2 Urogenitale Mykoplasmen/Ureaplasmen Kultur

Indikation

Urogenitale Mykoplasmen/Ureaplasmen können insbesondere in der Schwangerschaft entzündliche Erkrankungen des Urogenitaltraktes hervorrufen.

Materialentnahme und Transport

Für die kulturelle Untersuchung sind Tubenabstriche, Cervical-, Vaginal- und Urethralabstriche, geschützte Endometriumabstriche und Fruchtwasser bzw. Eihautabstriche geeignet. Zur Entnahme sind Dacron- oder Baumwolltupfer zu verwenden. Da die Mykoplasmen eine deutliche Zytoadhärenz zeigen, sind zellreiche Abstriche wichtig.

Mykoplasmen sind durch ihre fehlende Zellwand sehr empfindlich gegenüber Austrocknung. Daher müssen alle Untersuchungsmaterialien sofort in ein Transportmedium inokuliert werden. Der Transport in das mikrobiologische Labor sollte sofort bei Raumtemperatur (max. Transportdauer 24 h) erfolgen.

2.10 Methicillin-Resistente Staphylococcus aureus (MRSA)

2.10.1 Nachweis von MRSA mittels Kultur

Indikation zur Untersuchung

Methicillin-Resistente Staphylococcus aureus Stämme (MRSA) stellen ein hygienisches und therapeutisches Problem sowohl in Krankenhäusern als auch in Pflegeeinrichtungen dar. Sie können den Körper des Patienten an verschiedenen Stellen besiedeln (Nase, Achsel, Leiste, Stirn) und zu schweren Infektionen, wie z.B. Wundinfektionen, Sepsis, Pneumonie, auch führen. Von einem besiedelten Patienten können die MRSA-Stämme auf andere Patienten und das Pflegepersonal übertragen werden. Zur Abklärung der Besiedlung von Patienten mit MRSA erfolgen Abstriche von den genannten Regionen zum Nachweis dieses Erregers. Anlass für die Untersuchung sind vor allem: früherer Nachweis einer Besiedlung durch MRSA, Kontakt zu einem MRSA-Patienten, Vorbereitung zur Organtransplantation, Übernahme von Patienten aus auswärtigen Intensivstationen, Übernahme von Patienten aus Ländern mit hoher MRSA-Prävalenz.

Materialentnahme und Transport

Zur Untersuchung gelangen Tupferproben, die von den oben genannten Lokalisationen entnommen wurden. Für den Abstrich werden sterile Tupfer verwendet, die zum Transport in das Labor in ein Transportmedium gegeben werden. Für jede Abstrichstelle ist ein gesonderter Tupfer zu verwenden. Um eine MRSA-Besiedlung mit hoher Sensitivität beurteilen zu können, sollten keine Einzelabstriche sondern immer Abstrichserien von jeweils 3 Proben untersucht werden. Bei einer maximalen Transportdauer von 24 Stunden ist der Abstrich bei Raumtemperatur zu transportieren. Zu jedem Material gehört ein vollständig ausgefüllter Untersuchungsauftrag, auf dem neben den Daten des Einsenders und des Patienten die Entnahmestelle und der Hinweis, dass es sich um Untersuchungen zum Nachweis von MRSA handelt, angegeben werden sollten.

2.10.2 Nachweis von MRSA und cMRSA aus Kulturmaterial mittels PCR

Indikation zur Untersuchung

Abklärung, ob es sich bei einem angezüchteten Staphylococcus aureus Stamm um einen MRSA oder cMRSA handelt.

Materialentnahme und Transport

Als Material kommen S. aureus Stämme auf Festnährmedien oder in Flüssigkultur in Frage. Alternativ kann Kulturmaterial mit dem Tupfer eines Abstrichbestecks aufgenommen und im Probenröhrchen mit Transportmedium bei Raumtemperatur eingesandt werden.

Befundinterpretation

Bei Nachweis des *mecA* Gens (Resistenzgen) handelt es sich bei dem untersuchten Stamm um einen MRSA, bei zusätzlichem Nachweis der Gene für das Panton-Valentine-Leukozidin (PVL, Pathogenitätsfaktor) um einen cMRSA-Stamm.

2.11 Neisseria meningitidis PCR

Indikation

Diese Untersuchung sollte bei Verdacht auf Meningokokkenmeningitis bzw. -sepsis, der nicht durch die Kultur bestätigt werden konnte, durchgeführt werden.

Materialentnahme und Transport

Lumbale, nur in Ausnahmefällen bei strengster Indikationsstellung subokzipitale Liquorpunktion unter strikter Einhaltung steriler Kautelen. Umgehender Versand ins Labor. Bitte verwenden sie als Transportgefäß ausschließlich sterile Röhrchen mit Schraubverschluss! Alternativ oder zusätzlich Gewinnung und umgehende Einsendung von EDTA-Blut.

Befundinterpretation

Die PCR zum Nachweis der Meningokokken-DNA im Liquor und im Blut besitzt eine hohe Sensitivität und Spezifität. Sie kann auch bei bereits begonnener Antibiotikatherapie zu einem positiven Ergebnis führen.

2.12 Neisseria gonorrhoeae Kultur

Indikation

N. gonorrhoeae ruft beim Menschen in der Mehrzahl der Fälle eine lokale, eitrige Entzündung der Schleimhäute des Urogenitaltraktes hervor. Bei der Frau imponiert die Erkrankung in erster Linie als Zervizitis, gefolgt von Endometritis, Salpingitis, Bartholinitis bzw. Urethritis. Beim Mann ist die Urethritis die häufigste klinische Manifestation; aufsteigende Infektionen können eine Prostatitis oder Epididymitis hervorrufen.

Materialentnahme und Transport

Als Untersuchungsmaterial kommen je nach Lokalisation Urethral-, Zervikal- und Tubenabstriche in Frage, bei extragenitaler Gonorrhoeae Konjunktival-, Rachen- und Rektalabstriche.

Jeweils zwei Abstriche werden mit einem Dacron- oder Kalziumalginattupfer gewonnen. Eitriges Urethralesekret wird bei Männern am Orificium externum urethrae entnommen. Bei fehlendem Sekret wird der Urethralabstrich im Abstand von einer Stunde nach der letzten Miktion genommen, wobei der Tupfer mit steriler isotonischer NaCl-Lösung befeuchtet unter Rotation ca. 1 - 2 cm tief in die Harnröhre eingeführt und dort einige Sekunden belassen wird. Kann ein Harnröhrenabstrich nicht erfolgen, werden alternativ die ersten 10 – 15 ml Urin aufgefangen, sofort zentrifugiert und das Sediment auf Gonokokken Spezialnährmedien inokuliert.

Vor der Entnahme von Zervikalabstrichen wird vorhandener Mukus mit einem Tupfer entfernt. Anschließend wird ein zweiter Abstrichtupfer in die Cervix uteri eingeführt und um 360 Grad gedreht. Bei der Entnahme des Tupfers muss ein Kontakt mit der Vaginalwand vermieden werden. Bei Patientinnen mit einer Bartholinitis wird eitriges Exsudat am Ausführungsgang der Drüse gewonnen.

Die Proben sollten sofort auf Spezialmedien inokuliert werden. In Transportmedien bleiben Gonokokken nur 12 – 24 h vermehrungsfähig. Der Transport sowohl der Spezialmedien als auch der Transportmedien muss schnellstmöglich bei Raumtemperatur in das mikrobiologische Labor erfolgen.

Befundinterpretation

Jeder kulturelle Nachweis von N. gonorrhoeae sichert die Diagnose Gonorrhoe. Nur bei chronischem Verlauf ist auch eine serologische Diagnostik indiziert (siehe 7.4.17)

3. Mykobakterien-Diagnostik (Tuberkulose)

3.1 Untersuchung auf Mykobakterien (Tuberkulose)

Alle Materialien mit entsprechender Anforderung werden auf *Mycobacterium tuberculosis* und nicht-tuberkulöse Mykobakterien (MOTT) untersucht. Bei klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer Tuberkulose sollten Proben zur Sicherung der Diagnose vor Beginn einer tuberkulostatischen Therapie gewonnen werden. Die Auswahl des Untersuchungsmaterials richtet sich nach der Organmanifestation. Wegen der von Probe zu Probe variablen und oft nur geringen Bakteriendichte sind - sofern möglich - mindestens drei, an verschiedenen Tagen gewonnene Proben zu untersuchen. Bei Verdacht auf extrapulmonale Tuberkulose ist auch die Einsendung von Sputum sinnvoll, da sich in der Lunge meist der Primärherd befindet.

Zur Behandlungskontrolle sind erneute Einsendungen im Abstand von 2 bis 4 Wochen zweckmäßig (jeweils eine Probe).

3.2 Materialentnahme und Transport

Für die Labordiagnostik auf Mykobakterien ist ausreichend Material zur Verfügung zu stellen. Auf dem Begleitschein ist unbedingt die gewünschte Untersuchung "Mykobakterien (TBC)" anzukreuzen, da Spezialmedien mit verlängerter Inkubationszeit eingesetzt werden müssen.

Geeignete Materialien

- Sputum: mindestens 2 ml (optimal 5 - 10 ml), im Morgensputum ist die Bakterien-ausbeute am höchsten; Sputum maximal 1 h sammeln, kein 24 h-Sammelsputum! Evtl. Gewinnung nach vorheriger Provokation (z.B. Inhalation steriler, warmer 5%iger NaCl-Lösung)
- Bronchialsekret oder -lavage mindestens 5 ml; bronchoskopisch gewonnenes Material ist Sputum in der Ausbeute überlegen
- Urin: Morgenurin nach Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr am Abend vorher, als Mittelstrahl-Urin, mindestens 30 ml; kein 24 h-Sammelurin wegen der stärkeren Verunreinigung durch Begleitkeime; nur sinnvoll bei Verdacht auf Urogenitaltuberkulose
- Punktate: z. B. Pleura-, Aszites-, Abszess-, Gelenkpunktate, möglichst aseptisch gewonnen, möglichst große Menge, mindestens aber 10 ml; nur Originalmaterial, nicht in Blutkulturflaschen!
- Liquor: mindestens 0,5 ml, bei dringendem Verdacht auf tuberkulöse Meningitis möglichst mehr als 2 ml
- Biopsien: dürfen beim Versand nicht austrocknen, daher in ein wenig steriler Kochsalzlösung verschicken; nicht in Formaldehyd fixieren!
- Abstriche: sind weniger geeignet als Biopsien (zu geringe Erregermenge); sie sind nur akzeptabel, wenn das Material nicht auf andere Weise gewonnen werden kann; vor Austrocknung geschützt verschicken (Transportmedium)
- Menstrualblut, Ejakulat, Prostatasekret: bei Verdacht auf Urogenitaltuberkulose, so viel wie möglich
- Knochenmark: bei Verdacht auf Miliartuberkulose bzw. disseminierte Mykobakteriose, mindestens 2 ml in Heparinröhrchen
- Blut: nur bei immungeschwächten Patienten mit Verdacht auf disseminierte Mykobakteriose, 5 - 10 ml **Heparin**blut; keine Blutkulturflaschen, keine Serumröhrchen, kein EDTA-Blut
- Stuhl: mind. 1 g, nur bei immungeschwächten Patienten (HIV-Patienten) oder bei gezielter Fragestellung Darmtuberkulose

Nicht geeignete Probenmaterialien

- eingetrocknete Abstriche
- 24 h-Sammelsputum oder 24 h-Sammelurin
- zerbrochene oder undicht verschlossene Probenröhrchen
- Formalin-fixierte Biopsien (nur für die PCR geeignet)
- Blut oder Punktate in Blutkulturflaschen

Probentransport und Lagerung

Die Proben sind möglichst schnell ins Labor zu bringen, die Transportdauer sollte 24 h nicht überschreiten. Das Material muss in sterilen, auslauf- und bruch sicheren Gefäßen transportiert werden. Die Gefäße müssen mit dem Patientennamen, der Angabe der Probenart und dem Entnahmedatum beschriftet sein. Sie sind bis zum Versand kühl bei 4 °C zu lagern, der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.

3.3 Durchgeführte Untersuchungen

Mikroskopie

Das Probenmaterial wird entweder nach Anreicherung oder direkt zum Präparat verarbeitet. Die Präparate werden Auramin gefärbt und auf säurefeste Stäbchen untersucht. Die Nachweisgrenze in angereicherten Proben liegt bei etwa 10^4 Keime/ml, in unvorbehandelten Materialien bei etwa 10^5 Keime/ml. Das Ergebnis des Präparates liegt wochentags innerhalb von 24 h nach Materialeingang im Labor vor.

Kulturelle Anzucht

Eingesandtes Untersuchungsmaterial wird homogenisiert, evtl. durch Laugeneinwirkung dekontaminiert (Abtötung schnell wachsender Begleitflora), durch Zentrifugieren konzentriert und auf Spezial-Nährböden für die Anzucht von Mykobakterien angelegt. Die Nährböden werden aufgrund des langsamen Wachstums der Mykobakterien bis zu 8 Wochen bebrütet. Positive Befunde sind in der Regel nach 2-3 Wochen zu erwarten. Bei Keimwachstum werden Mykobakterien durch molekularbiologische und biochemische Methoden identifiziert. Von Erstisolaten des Mycobacterium tuberculosis Komplex wird darüber hinaus eine **Empfindlichkeitsprüfung** durchgeführt. Die getesteten Medikamente sind Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamid, Ethambutol und Streptomycin.

Die Anzucht von Mykobakterien kann gestört werden, wenn schnell wachsende Begleitflora die Nährmedien überwuchert. Ebenso kann eine bereits begonnene Therapie mit Tuberkulostatika die Anzucht von Mykobakterien verhindern. MOTT finden sich häufig in der Umwelt (z.B. Wasser) und sind meist apathogen oder lediglich fakultativ pathogen. Ihr Nachweis kann daher ohne klinische Bedeutung sein. Eine Identifizierung bis zur Speziesebene findet daher nur nach Rücksprache mit dem Einsender statt.

Nukleinsäurenachweis mittels Amplifikationstechnik (NAT)

Der Nukleinsäurenachweis (NAT, z. B. mittels PCR) auf Mycobacterium tuberculosis-Komplex dient dem Nachweis eines spezifischen Genabschnittes von M. tuberculosis, M. bovis, M. bovis BCG, M. africanum, M. canettii und M. microti in Patientenproben. Die NAT ist eine schnelle Methode (Dauer etwa ein Arbeitstag) im Gegensatz zur Kultur. Außerdem ist sie mit einer Nachweisgrenze von ca. 10 - 100 Mykobakterien pro ml Probenmaterial wesentlich empfindlicher als die Mikroskopie. Ein negatives NAT-Ergebnis schließt aber eine Tuberkulose nicht aus!

Das Verfahren ist nicht zur ungerichteten Ausschlussdiagnostik geeignet.

Die Durchführung des Nukleinsäurenachweises ist indiziert:

- bei respiratorischen Sekreten von Patienten mit klinischem, radiologischem und/oder histologischem Verdacht auf eine Lungentuberkulose, bei denen mikroskopisch keine säurefesten Stäbchen nachweisbar sind
- bei mikroskopisch positiven Proben mit säurefesten Stäbchen, wenn es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch um MOTT handeln kann (z.B. Atemwegssekrete bei AIDS Patienten)
- bei Liquor cerebrospinalis bei Verdacht auf Meningitis tuberculosa

Für den Nukleinsäurenachweis ist keine zusätzliche Einsendung nötig, verwendet wird ein Teil des zur Kultur auf Mykobakterien eingesandten Materials.

Interferon-Gamma-Release-Assay (IGRA)

In Ergänzung der direkten Tuberkulose-Diagnostik wird als Gamma-Interferon-Test der QuantiFERON-TB Gold-in-Tube-Test durchgeführt.

Der QuantiFERON-Test ist ein indirekter in-vitro-Test zum Nachweis einer latenten oder aktiven Infektion mit Bakterien des Mycobacterium tuberculosis-Komplexes. Er misst die zellvermittelte Immunreaktion (Interferon-Gamma-Produktion von T-Lymphozyten) auf Tuberkulose-spezifische

Peptidantigene (ESAT-6, CFP-10 und TB7.7(p4)). Diese Proteine fehlen in den BCG-Stämmen und den meisten nichttuberkulösen Mykobakterien (Ausnahmen: *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*).

Indikation

Der QuantiFERON-Test wird zur Diagnostik einer latenten Tuberkulose z. B. bei Umgebungsuntersuchungen bei folgenden Fragestellungen eingesetzt:

- Bestätigung eines positiven Tuberkulin-Hauttests (Eliminierung falsch-positiver Ergebnisse im Hauttest nach BCG-Impfung und bei atypischer Mykobakteriose)
- Bestätigung bzw. Ausschluss einer latenten Tuberkulose bei nicht durchführbarem oder nicht bewertbarem Hauttest

Materialentnahme und Transport

- Für die Blutentnahme werden spezielle Röhrchen benötigt, die in der benötigten Anzahl beim TLLV angefordert werden können. Die Röhrchen bis zur Verwendung bei 2 – 25 °C lagern. Verfallsdatum beachten.
- Pro Blutentnahme werden **drei Entnahmeröhrchen** benötigt:
 1. Nullkontrolle (grauer Verschluss)
 2. TB-spezifisches Antigen (roter Verschluss)
 3. Positiv-Kontrolle mit Mitogen (lila Verschluss; optional)Die Röhrchen sollten bei der Blutentnahme in dieser Reihenfolge befüllt werden. Die Positiv-Kontrolle dient zur Überprüfung, ob genügend T-Lymphozyten in der Blutprobe vorhanden sind. Sie ist notwendig bei der Untersuchung von Patienten mit Lymphopenie oder unter Immunsuppression. Falls es bei der Blutentnahme nicht möglich ist, die insgesamt erforderlichen 3 ml Blut zu gewinnen, kann bei einem immunkompetenten Patienten auf die Positiv-Kontrolle verzichtet werden.
- Pro Patient **genau je 1 ml** venöses Blut in jedes der drei Entnahmeröhrchen füllen (bis zur schwarzen Markierungslinie).
- Die Röhrchen durch 8- bis 10-maliges Umkehren oder durch 5 Sekunden langes Schütteln mischen. Dabei die **gesamte Innenwand** des Röhrchens mit Blut benetzen.
- Die Röhrchen müssen schnellstmöglich, spätestens jedoch **16 Stunden nach Blutentnahme** im TLLV eintreffen (Kurierdienst nutzen). Die Aufbewahrung und der Transport müssen bei **Raumtemperatur** (25 ± 5 °C) erfolgen. Die Blutproben nicht im Kühlschrank oder Gefrierschrank aufbewahren!

3.4 Befundinterpretation

Mikroskopisch ist keine Unterscheidung zwischen Tuberkulosebakterien und MOTT möglich. Allerdings spricht der mikroskopische Nachweis säurefester Stäbchen in Sekreten des Respirationstrakts mit hoher Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Tuberkulose (Ausnahme: AIDS Patienten).

Mikroskopisch und/oder NAT positive, kulturell negative Befunde können bei behandelten Patienten auftreten.

Die Bewertung eines positiven Nukleinsäurenachweises hat immer im Zusammenhang mit Mikroskopie, Kultur und Klinik zu erfolgen.

Jeder kulturelle Nachweis von *M. tuberculosis* ist als pathologisch anzusehen.

Einzelisolate von MOTT aus Sputum oder Urin sind häufig Kontaminanten ohne klinische Bedeutung. Hier ist eine Speziesidentifizierung meist nicht notwendig. Eine medizinische Bedeutung von MOTT ist anzunehmen, wenn der Keimnachweis aus primär sterilem Material erfolgte oder in mehreren, an verschiedenen Tagen gewonnenen Proben gelingt oder der mikroskopische Nachweis positiv ist. Die klinischen Daten müssen auf eine atypische Mykobakteriose hinweisen.

Ein positives Ergebnis des QuantiFERON-Tests unterstützt die Diagnose einer TB-Infektion. Eine Unterscheidung zwischen latenter Infektion, länger zurückliegender Erkrankung und aktiver Tuberkulose ist nicht möglich. Für die Bestätigung bzw. den Ausschluss einer TB-Erkrankung sind daher weitere klinische und diagnostische Untersuchungen notwendig.

4. Sonstige bakteriologische Untersuchungen

4.1 Untersuchung von Lebensmitteln im Zusammenhang mit Erkrankungen

4.1.1 Indikation zur Untersuchung

Lebensmittel können bei nicht sachgerechter Zubereitung oder Lagerung mit Mikroorganismen kontaminiert werden. Diese Mikroorganismen selbst, deren Toxine oder Abbauprodukte des Lebensmittels können bei Aufnahme dieser Lebensmittel Erkrankungen hervorrufen. Als Symptome können Durchfall, Erbrechen, Unwohlsein, Kreislaufstörungen und damit im Zusammenhang stehende Krankheitserscheinungen auftreten.

Die Äußerung eines Verdachtes, dass ein verzehrtes Lebensmittel eine körperliche Beeinträchtigung im Sinne einer Erkrankung hervorgerufen hat, ist der Anlass zur Untersuchung von Lebensmitteln auf Lebensmittelvergifter. Dieser Verdacht wird in der Regel von einem Bürger gegenüber dem Gesundheits- oder dem Veterinär- und Lebensmittel- Überwachungsamt geäußert.

Ziel der Untersuchung ist die Ermittlung der Belastung der Lebensmittel mit Mikroorganismen, insbesondere mit Bakterien, die als Lebensmittelvergifter bekannt sind bzw. als pathogen oder potentiell pathogen für den Menschen eingeschätzt werden.

4.1.2 Gewinnung der Proben

Zur Untersuchung gelangen Lebensmittelproben, die im Zusammenhang mit Erkrankungen beim Menschen stehen. Sichergestellt werden diese Proben in der Regel vom Veterinär- und Lebensmittel-Überwachungsamt, in Ausnahmefällen auch vom Gesundheitsamt. Einsendungen von Privatpersonen werden nur nach Rücksprache und Auftragserteilung durch die genannten Ämter oder die Abteilung Lebensmitteluntersuchung des TLLV entgegengenommen.

Die Proben sollten in der Regel gekühlt oder gefroren in das Labor gebracht werden. Sie sind in getrennten, dafür geeigneten Gefäßen zu transportieren. Auslaufen, Eindringen von fremden Materialien sowie das Durchmischen der Proben sind auszuschließen.

Die Probenmenge je Untersuchungsgut sollte so groß sein, dass alle notwendigen Untersuchungen durchgeführt werden können, bei Einzelproben mindestens 50 g, bei Mischproben mindestens 100 g. Zu jeder Probe ist ein Probenbegleitschein erforderlich. Mehrere Proben, die zu einem Vorgang gehören, können auf einem Begleitschein zusammen erfasst werden.

Auf dem Begleitschein sind mindestens der Einsender, die Probennummer der einsendenden Stelle, die Entnahmestelle, die Art der Probe, der Grund für die Untersuchung, Hinweise besonders zur Art des Verdachtes oder der Beschwerde und das Datum sowie die Unterschrift erforderlich. In der Regel sollten die standardisierten Probenbegleitscheine nach LFGB verwendet und entsprechend ausgefüllt werden.

4.2 Tupferabstriche auf spezifische Lebensmittelvergifter

4.2.1 Indikation zur Untersuchung

Lebensmittel können bei nicht sachgerechter Zubereitung oder Lagerung mit Mikroorganismen kontaminiert werden. Unzureichend gereinigte Arbeitsmittel und unsaubere Arbeitsumgebung fördern den Verbleib und das Wachstum von Mikroorganismen in Bereichen der Lebensmittelherstellung und Bearbeitung. Ziel der Untersuchung ist die Ermittlung der Belastung des Umfeldes der Lebensmittelbereitung mit Mikroorganismen, insbesondere mit Bakterien, die als Lebensmittelvergifter bekannt sind bzw. als pathogen oder potentiell pathogen für den Menschen eingeschätzt werden.

4.2.2 Gewinnung der Proben

Zur Untersuchung gelangen Tupferproben von Flächen und Gegenständen, auf oder mit denen Lebensmittel, die in den öffentlichen Verkehr gebracht werden, zubereitet werden.

Abgenommen werden diese Proben in der Regel vom Veterinär- und Lebensmittel-Überwachungsamt, in Ausnahmefällen auch vom Gesundheitsamt. Einsendungen von Privatpersonen werden nur nach Rücksprache und Auftragserteilung durch die genannten Ämter oder die Abteilung Lebensmitteluntersuchung des TLLV entgegen genommen.

Die Tupfer sollten in einem Transportmedium bei Raumtemperatur in das Labor gebracht werden. Da meist mehrere Tupferproben von einem Vorgang abgenommen werden, ist zu jedem Vorgang ein Probenbegleitschein erforderlich. Auf dem Begleitschein sind mindestens der Einsender, die Probennummer der einsendenden Stelle, die Entnahmestelle der Proben und der Grund für die Untersuchung anzugeben. Hinweise zur Art des Verdachteten oder der Beschwerde und das Datum sowie die Unterschrift sind erforderlich. In der Regel sollte das „Protokoll über bakteriologische Betriebsüberwachung“ entsprechend der Vorgabe des Bundesverbandes der Lebensmittelkontrolleure verwendet und entsprechend ausgefüllt werden.

4.3 Untersuchung von Spielsand auf bakterielle Kontamination

4.3.1 Indikation zur Untersuchung

Spielsand kann bei hoher Belastung mit bakteriellen Verunreinigungen infolge des Eintrags von organischem Material fäkaler und nicht fäkaler Art für Kinder eine potentielle Gefahrenquelle werden. Vor allem bei kleineren Kindern ist die orale Aufnahme von Spielsand nicht auszuschließen. Besteht der Verdacht der erhöhten Kontamination von Spielsand durch fäkale Verunreinigungen, kann die Kontrolle der bakteriellen Belastung einen Hinweis auf die Notwendigkeit des Austausches des Sandes geben.

4.3.2 Gewinnung der Proben

Zur Untersuchung gelangt Spielsand, der vom Gesundheitsamt oder anderen Stellen im Auftrag des Gesundheitsamtes entnommen wurde. Für die mikrobiologische Untersuchung sind quer durch den Sandkasten 5 – 7 Einzelproben zu entnehmen, die zu einer Gesamtprobe zusammen gefasst werden. Die erste und die letzte Probenahmestelle sollten ca. 50 cm vom Spielkastenrand entfernt sein. Die zu verwendende Metallschaufel wird mit Spiritus benetzt und abgeflammt. Die Probenahme erfolgt verteilt über den Sandkasten von der Oberfläche bis in ca. 15 cm Tiefe, besser bis zum Boden. Die Proben (insgesamt ca. 1 kg Sand) können in den gleichen sterilen Behälter gegeben werden, der anschließend luftdicht verschlossen und in das Labor gebracht wird.

Für jede Gesamtprobe eines Sandspielkastens ist ein Untersuchungsauftrag mit den Angaben über Ort und Lage des Sandkastens und Grund der Untersuchung auszustellen. Der Transport in das Labor sollte bei Raumtemperatur zeitnah zur Probenahme erfolgen.

4.4. Untersuchung auf bioterroristisch relevante bakterielle Erreger

Bei Verdacht auf das Ausbringen bioterroristisch relevanter bakterieller Erreger ist das verdächtige Material unter besonderen Sicherheitsbedingungen zu asservieren und ins Labor zu transportieren.

4.4.1 Materialentnahme und Transport

Vor Durchführung einer mikrobiologischen Diagnostik ist sicher zu stellen, dass es sich nicht um Explosivstoffe, radioaktive Materialien oder chemische Kampfstoffe handelt. Vor der Materialasservierung ist eine Risikoanalyse vorzunehmen. Je nach vorliegender Situation müssen unterschiedliche Schutzmaßnahmen ergriffen werden. Jedem Material ist ein ausgefüllter Begleitschein beizulegen, mit genauer Angabe von Einsender, Art des Materials, Fundort und –zeit, gewünschter Untersuchung, bescheinigter Prüfung auf Radioaktivität und Sprengstoffe.

Vorgehen bei geschlossenem Behältnis (Umschlag, Päckchen)

Hier ist das Risiko einer Exposition mit Krankheitserregern in der Regel gering. Der Gegenstand sollte in folgender Weise asserviert werden:

- Anlegen von zwei Paar Einweghandschuhen (ggf. Schutzkittel oder Einmaloverall)
- Verbringen des Gegenstandes in einen reißfesten Plastikbeutel geeigneter Größe
- Einbringen des sorgfältig verschlossenen ersten Plastikbeutels in einen zweiten, gleichfalls zu verschließenden Kunststoffbeutel
- Ausziehen des äußeren Handschuhpaares durch Umstülpen und Entsorgung in einen Plastiksack
- Einbringen des doppelten Beutels mit der Probe in eine geeignete, möglichst stoßfeste Umverpackung (z. B. Styroporbox, verschließbarer Kunststoffbehälter, fester Karton), ausgefüllten Begleitschein beilegen, Umverpackung fest verschließen

- Entsorgung der restlichen Schutzkleidung (zweites Handschuhpaar, ggf. Schutzkittel/Overall) in den Plastiksack mit dem ersten Handschuhpaar. Sack verschließen. Händedesinfektion durchführen.
- Beschriftung der Umverpackung mit Angaben zu Fundort, Datum und Uhrzeit, Absender und Empfänger

Vorgehen bei geöffnetem Behältnis und Umweltproben

- Anlegen eines der Gefahr entsprechenden Einwegschutzanzuges (z. B. Overall) mit Kapuze (Alternativ: Einmal-Haube)
- Anlegen von Einweg-Plastik-Überziehtiefeln
- Anlegen einer partikelfiltrierenden Halbmaske (FFP3)
- Anlegen einer Arbeitsschutzbrille mit seitlichem Spritzschutz
- Anlegen von doppelten Einweghandschuhen
- Probenentnahme:
 - Pulver, Erde, Flüssigkeiten: mit Einmal-Spatel oder -Löffel in ein geeignetes dichtschießendes Probengefäß aus Kunststoff mit Außengewinde füllen (Gefäße für mikrobiologische Untersuchungsmaterialien, z. B. Stuhlröhrchen), Probengefäß verschließen, Probengefäß von außen mit geeignetem Flächendesinfektionsmittel (nach RKI Liste Wirkungsspektrum B, z. B. 1% Peressigsäure) abwischen, äußeres Handschuhpaar durch Umstülpen ausziehen, in einen Plastiksack entsorgen.
Probengefäß in ein widerstandsfähiges, wasserdichtes, auslaufgeschütztes Schutzgefäß mit Saugeinlage nach EN 829 bringen, Schutzgefäß verschließen, beschriften (Art der Probe, Entnahmedatum). Schutzgefäß (evtl. auch mehrere) in eine geeignete, möglichst stoßfeste Umverpackung bringen (z. B. Styroporbox, verschließbarer Kunststoffbehälter, fester Karton), ausgefüllten Begleitschein beilegen, Umverpackung fest verschließen. Entsorgung der restlichen Schutzkleidung (zweites Handschuhpaar, Überschuhe, Overall, Atemmaske) in den Plastiksack mit dem ersten Handschuhpaar. Sack verschließen. Händedesinfektion durchführen. Beschriftung der Umverpackung mit Angaben zu Fundort, Datum und Uhrzeit, Absender und Empfänger.
 - Geöffnete Postsendungen, Gegenstände: in einen reißfesten Plastikbeutel verbringen, Beutel verschließen, äußerliche Wischdesinfektion durchführen, äußeres Handschuhpaar durch Umstülpen ausziehen, in einen Plastiksack entsorgen.
Einbringen des sorgfältig verschlossenen ersten Plastikbeutels in einen zweiten, gleichfalls zu verschließenden Kunststoffbeutel, den doppelten Beutel mit der Probe in eine geeignete, möglichst stoßfeste Umverpackung (z. B. Styroporbox, verschließbarer Kunststoffbehälter, fester Karton) legen, Entsorgung der restlichen Schutzkleidung (zweites Handschuhpaar, Überschuhe, Overall, Atemmaske) in den Plastiksack mit dem ersten Handschuhpaar. Sack verschließen. Händedesinfektion durchführen.
Ausgefüllten Begleitschein dem Probenbeutel beilegen, Umverpackung fest verschließen. Beschriftung der Umverpackung mit Angaben zu Fundort, Datum und Uhrzeit, Absender und Empfänger.

4.4.2 Vorgehen bei Situationen mit Hinweisen auf aktive Verstäubung oder Vernebelung

Die hier beschriebenen Maßnahmen sind nur dann zu empfehlen, wenn Räume oder begrenzte Bereiche betreten werden müssen, in denen davon auszugehen ist, dass infektiöse Stäube oder Nebel entstehen konnten und verbreitet wurden.

Es sollten organisatorisch folgende Bereiche eingerichtet werden:

Schwarzbereich: Bereich, in dem Raumluft oder Oberflächen mit infektiösen Erregern kontaminiert sein könnten

Graubereich: Dekontaminationsstelle; nicht kontaminierter Bereich, der geeignet ist, Dekontaminationsmaßnahmen (Personen, Geräte, Proben) durchzuführen ohne potentielle Kontamination der Umwelt

Weißbereich: nicht kontaminierter äußerer Absperrbereich für Einsatzkräfte

Probenentnahme innerhalb des Schwarzbereiches:

- Vor Betreten des Schwarzbereiches Anlegen eines Einwegoveralls, darüber ein Schutzanzug, der dicht mit einem Partikelfiltergerät mit Vollmaske (P3) abschließt und den gesamten Körper vor Aerosolen und Stäuben schützt (z. B. Chemikalienschutzanzug)
- Die Probenentnahme sollte durch im Landkreis bestimmte Personen erfolgen und muss geeignet sein, erregerehaltiges Material zu sammeln: Pulver, Erde, Flüssigkeiten in dichtschießende Probenröhrchen bringen, Gegenstände in einen reißfesten Plastikbeutel verbringen, von Oberflächen Tupferabstrichproben oder Wischproben nehmen, evtl. Luftproben sammeln (mit Luftkeimsammler)
- Die gesammelten, primär verpackten Proben werden in den Graubereich gebracht, wo sie äußerlich desinfiziert und von zusätzlichem Personal weiter verpackt und in Gefahrgutbehälter gebracht werden (Schutzkleidung und weitere Verpackungsmaßnahmen wie oben unter „Vorgehen bei geöffnetem Behältnis und Umweltproben“ beschrieben)
- Die verpackten Proben im Gefahrgutbehälter werden nach Ablegung der Schutzkleidung in den Weißbereich gebracht, wo die Umverpackung erfolgt sowie das Ausfüllen und Beilegen der Begleitscheine

Die Mehrzahl bioterroristisch relevanter bakterieller Erreger ist der Risikogruppe 3 zugeordnet, wodurch beim Transport diagnostischer Proben die besonderen Anforderungen zur Beförderung von Gefahrgütern der Klasse 6.2 zu beachten sind. Es müssen bauartgeprüfte, UN-zertifizierte, zusammengesetzte Verpackungen entsprechend Verpackungsordnung P 650 verwendet werden, und es darf nur ein Transport auf dem Landweg erfolgen.

Die Organisation des Transportes von Umweltproben zur Untersuchung auf bioterroristische Erreger erfolgt durch den zuständigen Landkreis / kreisfreie Stadt. Die Zuständigkeit ist territorial festzulegen. Der Versand der Proben muss umgehend erfolgen. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.

Für den Transport der Proben in das Labor bestehen zwei Möglichkeiten:

- Probentransport durch Einsatzkräfte (z. B. Feuerwehr) als Notfallbeförderung zur Rettung menschlichen Lebens und der Umwelt. Dieser Transport ist von Gefahrgutbestimmungen freigestellt. Die Außenverpackung sollte aus einem innen abgepolsterten, verschleißbaren Behältnis aus Metall oder stabilem Kunststoff bestehen und sicher im Fahrzeug gelagert sein.
- Probentransport durch einen Kurierdienst. Hierbei müssen ggf. notwendige Beförderungspapiere (Frachtbrief) ausgefüllt und beigelegt werden.

4.4.3 Durchgeführte Untersuchungen

Die Proben können im Labor auf folgende mögliche bioterroristische Erreger untersucht werden:

- Milzbrand (*Bacillus anthracis*)
- Pest (*Yersinia pestis*)
- Brucellose (*Brucella* spp.)
- Botulismus (*Clostridium botulinum*, inkl. Nachweis des Botulinum-Toxins)
- *Staphylococcus aureus* Enterotoxin Typ B Bildung
- *Clostridium perfringens* Epsilon-Toxin Bildung
- Multiresistente *Mycobacterium tuberculosis* Stämme

4.4.4 Befundinterpretation

Beim Nachweis bioterroristisch relevanter bakterieller Erreger in einer Probe wird für das weitere Vorgehen auf die Empfehlungen des Robert Koch Instituts verwiesen.

5. Mykologische Untersuchungen

5.1 Untersuchung von klinischem Material auf Pilze

5.1.1 Indikation zur Untersuchung

Pilzinfektionen sind schwierig zu diagnostizieren, da die klinische Symptomatik vielgestaltig und wenig spezifisch ist. Ein direkter Verdacht auf eine opportunistische Pilzinfektion ergibt sich meist erst dann, wenn andere infektiöse Erreger nicht gefunden wurden oder eine antibakterielle Therapie die Symptomatik nicht verbesserte. Die Diagnose opportunistischer Pilzinfektionen beruht immer auf einer Synopsis des klinischen Bildes und der Laborbefunde.

Sprosspilze (Hefen, z. B. Candida)

- Klinischer Verdacht auf Soor (Schleimhautmykose)
- Klinischer Verdacht auf invasive Candidose bei einem Risikopatienten (immunsupprimierter Patient: z. B. hämatologische Erkrankung, maligner Tumor, Zytostatikatherapie, Immundefekt, AIDS, Diabetes mellitus, nach Bauchoperation, längerdauernde Intensivtherapie, Frühgeborenes)
- Überwachung von Risikopatienten ohne klinische Symptome
- Verdacht auf chronische mukokutane Candidose
- Verdacht auf Kryptokokkose, z. B. bei AIDS (Liquor, Respirationstrakt)
- Klinischer Verdacht auf Pityriasis versicolor (Sprosspilzerkrankung der Haut)

Schimmelpilze (z. B. Aspergillus)

- Klinischer Verdacht (z. B. persistierende systemische Infektionszeichen trotz mehrtägiger Breitspektrumantibiose oder auffälliges Röntgenbild) auf invasive Schimmelpilzerkrankung (z. B. Aspergillose, Zygomycose, Fusariose) bei einem Risikopatienten (neutropenischer Patient nach z. B. Zytostatikatherapie, nach Knochenmark-, Lungen- oder Lebertransplantation)
- Wundinfektion nach Tropenaufenthalt, Verdacht auf subkutane oder tiefe Verletzungsmykose
- Verdacht auf außereuropäische Systemmykose (z. B. Histoplasmose, Blastomykose, Coccidioidomykose) nach Aufenthalt in einem Endemiegebiet

Hautpilze (Dermatophyten)

- Klinischer Verdacht auf Hautpilzerkrankung (Tinea)
- Klinischer Verdacht auf Nagelpilzerkrankung (Onychomykose)

5.1.2 Materialentnahme und Transport

Für die mykologische Labordiagnostik ist ausreichend Material zur Verfügung zu stellen. In der Regel reicht für die Untersuchung auf Bakterien und Sprosspilze/Schimmelpilze die Einsendung einer Probe. Auf dem Begleitschein ist in diesem Fall unbedingt die gewünschte Untersuchung "Pilze" anzukreuzen, da Spezialmedien mit verlängerter Inkubationszeit eingesetzt werden müssen. Für die Untersuchung auf Dermatophyten gelten besondere Bedingungen (siehe unten).

Geeignete Materialien

Untersuchung auf Sprosspilze (Hefen)

- Abstriche von Mundhöhle, Vagina, Urethra, Glans penis, Wunden: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.1
- Mundspülwasser: Dieses Material ist zur quantitativen Bestimmung von Sprosspilzen im Rachenraum geeignet. Der Patient gurgelt eine Minute lang 10 bis 15 ml steriles Wasser oder sterile Kochsalzlösung und speit anschließend das Gurgelwasser in ein steriles weithalsiges Transportgefäß. Das Material sofort ins Labor bringen, es kann kurzfristig (< 5 h) kühl bei 2 - 8 °C gelagert werden.
- Eiter, Exsudat, Drainageflüssigkeit: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.1, 1.6

- Gewebeproben: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.2
- Blutkultur: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.3. Wichtig ist die Entnahme mehrerer Blutkulturen, da die Keimdichte bei einer Fungämie meist sehr gering ist.
- Katheterspitzen: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.4
- Liquor: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.5
- Sputum, Trachealsekret, Bronchialsekret, Bronchoalveoläre Lavage: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.7
- Stuhl: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.8
- Urin: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.9
- Klebebandabrisspräparat bei Pityriasis versicolor: Verdächtige Hautstellen können mittels Wood-Licht-Beleuchtung (UV-Licht bei 365 nm) eingegrenzt werden. Ein Abrisspräparat mit transparentem Klebeband (z. B. Tesafilm kristallklar) durchführen. Klebeband auf einen Objektträger kleben und bei Raumtemperatur ins Labor schicken.

Untersuchung auf Schimmelpilze

- Eiter, Exsudat, Drainageflüssigkeit: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.1, 1.6
- Gewebeproben: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.2
- Sputum, Trachealsekret, Bronchialsekret, Bronchoalveoläre Lavage: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.7
- Katheterspitzen: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.4
- Blutkulturen: Entnahme und Versand siehe Bakteriologie 1.3. Bei einer systemischen Infektion durch Schimmelpilze ist die Blutkultur fast immer negativ (Ausnahme: Infektionen durch *Fusarium* sp., *Scedosporium* sp.).

Untersuchung auf Hautpilze (Dermatophyten)

Abstriche sind nicht geeignet zum Nachweis von Dermatophyten! Keine mit der Schere abgeschnittenen Nagelteile oder Haare ins Labor schicken!

- Haut: Mykoseverdächtige Krankheitsherde mit Mulltupfer oder Schwämmchen mit 70 %igem Ethanol desinfizieren. Alle Auflagerungen – auch lose anhaftende Hautschuppen - entfernen. Mit sterilem Skalpell oder scharfem Löffel vom Rande des Herdes möglichst viele (20 - 30) Schuppchen lösen. Schuppen in einem sterilen Gefäß ohne Zusätze sammeln. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.
- Nägel: Nach gründlicher Reinigung mit 70 %igem Ethanol zunächst alle leicht ablösbaren bröckeligen Teile entfernen. Mit sterilem Skalpell oder kleinem scharfen Löffel bzw. einer Fräse Material aus den befallenen Arealen der Nagelplatte (Rand der Läsion) ablösen. Nagelspäne in einem sterilen Gefäß ohne Zusätze sammeln. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.
- Haare: Evtl. vorhandene Krusten und grobe Schuppen entfernen, ggf. Entnahmestelle mit 70 %igem Ethanol abtupfen. Einige Haarstümpfe mit Epilationspinzette entnehmen. Wichtig ist das Vorhandensein der Haarwurzel! Auffällige Haare (grau oder entfärbt, glanzlos oder weißliche Hülle, abgebrochen) für die Probengewinnung bevorzugen. Evtl. Haarstümpfe mit dem Skalpell oder scharfem Löffel „ausgraben“. Beim Favus sind die Scutula (Borken mit Pilzelementen) geeignet. Haare in einem sterilen Gefäß ohne Zusätze sammeln. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.

5.1.3 Durchgeführte Untersuchungen

Mikroskopie

Materialien zur Untersuchung auf Schimmelpilze und Dermatophyten werden mikroskopisch mittels Calcofluorweiß-Präparat untersucht, Materialien zur Untersuchung auf Sprosspilze (außer Stuhl) mittels Gram-Präparat. Von Liquor wird zur Untersuchung auf *Cryptococcus neoformans* ein Tuschepräparat angefertigt. Das Ergebnis mikroskopischer Präparate liegt innerhalb von 1 - 3 h vor.

Kulturelle Anzucht

Die Anzucht auf Pilze erfolgt auf Spezialnährmedien. Pilze wachsen langsamer als Bakterien. Bei Sprosspilzen (Hefen) ist eine Anzüchtung normalerweise innerhalb von 48 h möglich, Schimmelpilze benötigen bis zu 7 Tagen, Dermatophyten und Erreger außereuropäischer Systemmykosen 3 bis 4 Wochen.

Empfindlichkeitsprüfung

Standardisierte Verfahren zur Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Antimykotika gibt es für Spross- und Schimmelpilze. Eine Indikation zur Empfindlichkeitsprüfung besteht insbesondere dann, wenn der Verdacht auf eine invasive Mykose gegeben ist.

Es werden folgende Antimykotika getestet:

Sprosspilze:	Flucytosin, Amphotericin B, Fluconazol, Voriconazol, Caspofungin, Anidulafungin
Schimmelpilze	Flucytosin, Amphotericin B, Itraconazol, Voriconazol, Caspofungin, Anidulafungin
Dermatophyten:	Eine Empfindlichkeitsprüfung ist nicht indiziert.

5.1.4 Befundinterpretation

Candida Arten werden auch bei Gesunden häufig im Magen-Darm-Trakt als Besiedler gefunden. Ein Nachweis aus diesen Materialien liefert daher erst bei hohen Keimzahlen einen Hinweis auf das Vorliegen einer Mykose: z. B. Mundspülwasser, Sputum, Stuhl $> 10^5$ KBE/ml. Im Urin weisen Keimzahlen $\geq 10^3$ KBE/ml auf eine Mykose hin (bei Ausschluss einer Genitalmykose). Der Nachweis von Pilzen aus primär sterilen Materialien ist stets als pathologisch zu werten.

Saccharomyces cerevisiae ist die taxonomische Bezeichnung für die Bier-/Brothefe; ihr Nachweis im Mund und Gastrointestinal-Trakt ist als Normalbefund zu betrachten.

Schimmelpilzsporen sind regelmäßig in der Umgebungsluft nachzuweisen. Der Nachweis von Schimmelpilzen aus Materialien des Respirationstrakts ist daher immer im Zusammenhang mit dem klinischen Bild zu bewerten. Andererseits kann auch beim Vorliegen einer invasiven Aspergillose die Kultur negativ sein.

Der Nachweis von Dermatophyten in menschlichem Material ist generell als pathologisch zu werten. Bei Befall mehrerer Mitglieder einer Gemeinschaft (Familie, Kaserne, Kindergarten etc.) ist immer die kulturelle Identifizierung anzustreben. Je nach Erreger werden weitere hygienische Maßnahmen erforderlich (z. B. Identifizierung und Sanierung infizierter Haustiere). Man beachte: Haut-/Haar-/Nagelmykosen können auch durch Pilze anderer Gattungen hervorgerufen werden (z. B. Candida spp., Aspergillus spp., Scopulariopsis brevicaulis).

5.2 Untersuchung von Umweltproben auf Schimmelpilze

Schimmelpilzwachstum in Innenräumen kann bei Feuchteschäden in Mauerwerks- und Gebäudestrukturen auftreten, wird zunehmend aber auch in Gebäuden beobachtet, die aus energetischen Gründen aufwändig abgedichtet wurden. Die gesundheitliche Bewertung der Schimmelpilzbelastungen geschieht wegen einer Reihe noch offener Fragen nicht immer sicher. Indikationen zur Untersuchung auf Schimmelpilze in Innenräumen können sein:

- Sichtbarer Schimmelbefall in Innenräumen
- Gesundheitliche Probleme (z. B. allergische Reaktionen wie Rhinitis, Asthma), die im Zusammenhang mit dem Aufenthalt in einem mit Schimmelpilzen belasteten Raum stehen können

5.2.1 Materialentnahme und Transport

Der Umfang der Materialeinsendung richtet sich nach der konkreten Fragestellung und ggf. nach den Wünschen des Auftraggebers. Die Materialentnahme ist ggf. mit dem Labor abzusprechen.

Geeignete Materialien

- Materialproben von Tapeten, Putz, Holzverkleidungen: Sichtbar befallenes Material mit einem geeigneten scharfen Gegenstand von der Wand entfernen und in ein sauberes Transportgefäß bringen (z. B. Plastikbeutel, Alufolie, steriles Röhrchen). Entnommen werden sollten mindestens 10 cm^2 bzw. 10 - 20 Putzbröckel. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur.
- Tupferabstriche von befallenen Flächen: Mit einem feuchten sterilen Tupfer die befallenen Flächen abstreichen. Tupfer in einem Gefäß ohne Transportmedium bei Raumtemperatur ins Labor schicken.
- Luftkeimmessungen zur Bestimmung der kultivierbaren luftgetragenen Pilzsporen (siehe 10.2.1)
- Abklatschproben (siehe 10.2.2)

Den Materialien muss ein ausgefüllter Begleitschein mit Angaben über Art und Entnahmeort des Materials beigelegt werden. Bei Privatpersonen müssen außerdem vollständiger Name und Adresse angegeben werden, sowie eine unterschriebene Kostenübernahmeerklärung beigelegt werden.

5.2.2 Durchgeführte Untersuchungen

Mikroskopie

Materialproben und Abstriche werden mikroskopisch mittels Baumwollblau-Präparat auf Pilzelemente untersucht. Das Ergebnis mikroskopischer Präparate liegt innerhalb von 1 – 3 h vor.

Kulturelle Anzucht

Die Anzucht auf Pilze erfolgt auf unterschiedlichen Spezialnährmedien. Einige innenraumrelevante Schimmelpilzarten wachsen nur langsam, daher beträgt die Bebrütungsdauer 8 – 10 Tage.

5.2.3 Befundinterpretation

Die Bewertung des erhobenen Befundes erfolgt entsprechend dem „Leitfaden zur Vorbeugung, Untersuchung, Bewertung und Sanierung von Schimmelpilzwachstum in Innenräumen“ des Umweltbundesamtes von 2002 unter Berücksichtigung aktualisierter Bewertungshilfen für Luftproben im Schimmelpilzsanierungs-Leitfaden von 2005. Schimmelpilze sind in der Lage allergische Reaktionen auszulösen. Bestimmte Arten können im Einzelfall bei stark immunsupprimierten Patienten invasive Infektionen verursachen.

6. Parasitologische Untersuchungen

An Parasitosen ist im Rahmen der Diagnostik bei Patienten zu denken, die in der Anamnese einen Auslandsaufenthalt vor allem in den Tropen bzw. in den Subtropen angeben.

Bei folgenden klinischen und paraklinischen Auffälligkeiten sollte in diesen Fällen eine parasitologische Diagnostik in Betracht gezogen werden: Eosinophilie, blutig-schleimige Diarrhoen, Magen- und Darmbeschwerden, Fieber, Anämie, Leukopenie, blutiger Harn, Leberbeteiligung, Ekzeme.

6.1 Stuhl

6.1.1 Indikation zur Untersuchung

Magen-Darm-Erkrankungen nach Aufenthalt in den Tropen und Subtropen stellen die Hauptindikation zur Untersuchung auf Darmparasiten. Da Infektionen in Deutschland nicht ausgeschlossen werden können, sind bei anhaltenden ungeklärten Magen-Darm-Erkrankungen ebenfalls Untersuchungen auf Darmparasiten angezeigt.

Untersucht wird auf:

Protozoen Darmamöben (*Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*)
 Flagellaten (*Giardia lamblia*)
 Coccidien (*Cryptosporidium*, *Microsporidium*)

Helminthen adulte Würmer, Wurmteile u. Larven z. B.
 Bandwurm (*Taenia* spp.)
 Spulwurm (*Ascaris lumbricoides*)
 Madenwurm (*Enterobius vermicularis*)

 Wurmeier von z.B.
 Pärchenegel (*Schistosoma mansoni*)
 Peitschenwurm (*Trichuris trichiura*)
 Gruben- u. Hakenwurm (Ancylostomatiden)
 Spulwurm (*Ascaris lumbricoides*)
 Zwergbandwurm (*Hymenolepis nana*)
 Lungeneigel (*Paragonimus westermani*)

6.1.2 Materialentnahme und Transport

Der Stuhl sollte in ein sauberes Gefäß oder eine frisch gespülte Toilettenschüssel entleert werden. Mit dem im Stuhlröhrchen enthaltenen Löffelchen ist eine mindestens haselnussgroße Menge zu entnehmen. Blutige, schleimige oder eitrige Anteile sollten bevorzugt entnommen werden.

Grundsätzlich sollen alle zur parasitologischen Untersuchung vorgesehenen Materialien bis zum Versand gekühlt (2 - 8 °C) gelagert werden. Der Transport sollte umgehend (max. Transportdauer 24 h) bei Raumtemperatur erfolgen. Eine Ausnahme bildet die mikroskopische Untersuchung auf vegetative Formen von Protozoen, z. B. bei Verdacht auf Amöbenruhr. Hier ist ein sofortiger Transport körperwarmen Stuhls in das Labor notwendig.

Bei selten zu erwartenden Parasiten sollten spezifizierte Angaben vom Einsender gemacht und ein eventueller Erregerverdacht geäußert werden.

6.1.3 Durchgeführte Untersuchungen

Mikroskopie

Stuhlproben auf Helminthen werden nach Sedimentation im Nativpräparat untersucht.

Die mikroskopische Untersuchung auf Protozoen erfolgt nach Chlorazol-Färbung.

Die mikroskopische Untersuchung auf Kryptosporidien erfolgt nach modifizierter Ziehl-Neelsen-Färbung.

Enzymimmunoassay

Verschiedene Antigene von Protozoen (*Entamoeba*, *Giardia*) und Kryptosporidien werden im Stuhl mittels Enzymimmunoassay nachgewiesen.

6.1.4 Befundinterpretation

Bei negativen Protozoen- und Helminthenbefunden sollte eine weitere Materialeinsendung im Abstand von 1- 2 Tagen erfolgen, da Protozoen und Helminthen nicht regelmäßig ausgeschieden werden.

6.2 Bronchiallavage (BAL)

6.2.1 Indikation zur Untersuchung auf Pneumocystis jirovecii

Patienten mit Immunschwäche sowie unklarem Lungenbefund, Fieber und Pneumonieverdacht sind auf Pneumocystis-Pneumonie (PCP) zu untersuchen. Der Nachweis von Pneumocystis jirovecii (neuerdings den Pilzen zugerechnet) erfolgt aus Bronchiallavage.

6.2.2 Materialentnahme und Transport

Es sind ca. 10 ml bronchoaveoläre Spülflüssigkeit zu entnehmen und in einem sterilen Sputumröhrchen mit Schraubverschluss umgehend gekühlt zur Untersuchung einzusenden (max. Transportdauer 24 h). In Ausnahmefällen kann das Material bis zu 24 Stunden bei 2 – 8 °C gelagert werden.

Eine telefonische Vorinformation wird erwünscht.

6.2.3 Durchgeführte Untersuchungen

Der mikroskopische Nachweis aus dem Material erfolgt nach Giemsa-Färbung oder Silberfärbung nach Grocott.

6.2.4 Befundinterpretation

Bei negativem Untersuchungsbefund und weiter bestehendem klinischen Verdacht auf Pneumocystis-Pneumonie ist eine Kontrolluntersuchung angezeigt.

6.3 Urin

6.3.1 Indikation zur Untersuchung

Verdacht auf Bilharziose, die klinisch mit einer Hämaturie, mit Miktionsbeschwerden und rezidivierenden Harnwegsinfektionen einhergeht.

6.3.2 Materialentnahme und Transport

Zum Nachweis des Bilharziose-Erregers Schistosoma haematobium sind 100 – 150 ml Spontanurin oder Sammelurin (aus der Zeit von 9.00 bis 16.00) bzw. das Sediment des Sammelurins in sterilen Gefäßen aufzunehmen und per Kurier einzusenden.

6.3.3 Durchgeführte Untersuchungen

Mikroskopische Untersuchung des Urinsedimentes im Nativpräparat.

6.3.4 Befundinterpretation

Der Nachweis der Eier von Schistosoma haematobium sichert die Diagnose einer Bilharziose. Bei negativem Untersuchungsbefund und weiter bestehendem klinischem Verdacht ist eine Kontrolluntersuchung angezeigt, da die Eiausscheidung diskontinuierlich erfolgt.

6.4 Arachno-entomologische Untersuchungen

6.4.1 Indikation zur Untersuchung

Hygieneschädlinge, Vorrats- und Materialschädlinge sowie Lästlinge können im bebauten menschlichen Umfeld Beeinträchtigungen des Menschen und Schäden an Vorräten und Materialien hervorrufen.

Hygieneschädlinge sind z. B. Flöhe, Läuse, Schaben, Milben

Materialschädlinge sind z. B. Moderkäfer, Schimmelkäfer, Nagekäfer, Kleidermotten

Vorratsschädlinge sind z. B. Rüsselkäfer, Speckkäfer, Brotkäfer, Mehlkäfer, Motten

Lästlinge sind z. B. Kellerasseln, Wespen, Freilandameisen

6.4.2 Materialentnahme und Transport

Von den befallenen Lebensmitteln, Materialien oder Gegenständen sind verdächtige Objekte zu entnehmen und in ein trockenes verschließbares Behältnis zu geben (keine Klebefolie). Objekte sind zerquetschen. Die Proben sind innerhalb von 24 Stunden in das Labor zu bringen. Zur Beratung hinsichtlich geeigneter Probenahme- bzw. Fangtechniken ist eine Rücksprache mit dem untersuchenden Labor zu empfehlen.

6.4.3 Befundinterpretation

Von den eingesandten Proben erfolgt die Artbestimmung. Es werden entsprechende Hinweise zur Prophylaxe und Bekämpfung gegeben.

7. Infektionsserologie

(bakteriologisch, parasitologisch, virologisch)

7.1 Untersuchungsindikationen

Führt eine Infektion zu humoraler Immunität, können die entstehenden Antikörper zur Serodiagnose genutzt werden. Es werden mit unterschiedlichen Tests Antikörper der Klassen IgG, IgM, IgA nachgewiesen. Antikörperbestimmungen sind indiziert bei klinischem Verdacht auf Infektionskrankheiten, bei denen ein Direktnachweis des Erregers nicht möglich, nicht mehr möglich oder nur sehr schwer möglich ist (z. B. Lues, Borreliose, Echinokokkose, postinfektiöse reaktive Arthritis, Virusinfektionen).

7.2 Materialentnahme und Transport

Für die Untersuchung auf Antikörper wird Serum benötigt. Notwendig sind 5 - 10 ml Patientenblut, das in einer Monovette (ohne Zusätze) abgenommen und umgehend bei Raumtemperatur in das Labor transportiert wird. Die Monovette und ein ausgefüllter Untersuchungsantrag müssen eindeutig mit den Patientendaten gekennzeichnet sein. Der Untersuchungsantrag sollte darüberhinaus alle relevanten Informationen enthalten, wie Absenderangabe, gewünschte Untersuchungen, Entnahmedatum, (Verdachts-) Diagnose. Im Labor wird das Serum vom Blutkuchen abgetrennt. Die Zeit zwischen der Probenentnahme bis zur Gewinnung von Serum darf 72 Stunden nicht überschreiten. Während dieser Zeit ist eine Lagerung der Monovette im Kühlschrank bei 2 – 8 °C möglich, nicht einfrieren!

Als Untersuchungsmaterial ist nicht geeignet:

- hämolytisches Serum
- lipämischer Serum
- Serum im unbeschrifteten Röhrchen
- ausgelaufene Probe
- zu geringes Probenvolumen (< 1 ml Patientenblut)
- thermisch inaktiviertes Serum
- Zeit zwischen Probenentnahme und Probeneingang > 72 Stunden

Zum Nachweis einer Titerbewegung sind je nach Erreger 2 Proben im Abstand von 5 Tagen bis 3 Wochen einzusenden.

7.3 Befundinterpretation

Der Nachweis von IgM- und/oder IgA-Antikörpern bzw. ein Titeranstieg komplementbindender Antikörper lassen in der Regel auf eine akute Infektion schließen. Der Nachweis von IgG-Antikörpern in einer Einzelprobe spricht am ehesten für eine länger bestehende oder durchgemachte Infektion (Serumnarbe, Z. n. Impfung). Ein negatives Testergebnis spricht gegen das Vorliegen spezifischer Antikörper. Eine Infektion mit dem vermuteten Erreger kann dann aber nur ausgeschlossen werden, wenn es sich nicht um Patienten mit einer Immunschwäche handelt und die Blutentnahme nach der Latenzzeit bis zur Bildung spezifischer Antikörper erfolgte (in der Regel 2 bis 4 Wochen, aber auch bis zu 6 Monate möglich, z. B. bei HIV).).

In der Verlaufsbeurteilung sprechen ansteigende Titer für eine akute Infektion oder eine Reinfektion.

7.4 Spektrum der serologischen Untersuchungen

7.4.1 Bordetella pertussis (Keuchhusten)

Indikation

Die Anzüchtung und der DNA-Nachweis von Bordetella pertussis sind nur in einem frühen Stadium der Erkrankung möglich (siehe 2.3). Deshalb kann in späteren Erkrankungsstadien der Nachweis von spezifischen IgA- und IgG-Antikörpern im Serum hilfreich bei der Diagnosesicherung sein.

Durchgeführte Untersuchungen

EIA, getrennte Erfassung von IgG, IgA gegen das Pertussis-Toxin (PT)

Hinweise zur Bewertung

Die Antikörperbildung setzt erst 5 – 10 Tage nach Beginn des Stadium convulsivum ein. Für eine akute Infektion sprechen:

(1) einmalig deutlich erhöhter Wert beim IgG-Antikörper-Nachweis (z. B. IgG-PT Einzelwert ≥ 100 U/ml). Der serologische Nachweis eines Einzelwertes ist ≤ 36 Monate nach Impfung mit azellulären Pertussis-Impfstoffen nicht verwertbar.

(2) Deutlicher Titeranstieg zwischen zwei Proben beim IgG- oder IgA-Antikörpernachweis im Abstand von ca. 2 - 4 Wochen.

7.4.2 Borrelia burgdorferi

Indikation

Antikörpernachweis bei V.a. Borrelieninfektion bei

- anamnestisch gesichertem Zeckenstich (eine signifikante Antikörperantwort ist frühestens drei Wochen nach dem Stich zu erwarten)
- klinischem Verdacht auf Erythema migrans, borrelienassoziierte Arthritis, Bannwarth-Syndrom, Acrodermatitis chronica atrophicans, Neuroborreliose

Durchgeführte Untersuchungen

Im Sinne einer Stufendiagnostik erfolgt zunächst der IgG- und IgM-Antikörper-Nachweis im Borrelien-EIA. Der EIA wird qualitativ als "positiv" oder "negativ" bewertet. Bei positivem Ausfall wird ein Lues-Suchtest durchgeführt, um falsch-positive Befunde aufgrund kreuzreagierender Antikörper gegen Treponemen auszuschließen.

Als Bestätigungstest bei positivem EIA folgt ein Borrelien-Immunoblot gegen rekombinante Antigene von *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* und *B. afzelii* mit getrennter Bestimmung von IgM und IgG.

Bei Verdacht auf Neuroborreliose kann neben Serum auch Liquor zur Untersuchung auf intrathekale Antikörper eingesandt werden.

Hinweise zur Bewertung

Im Stadium I der Lyme-Borreliose kann in ca. 20 - 50 % der Fälle mit einem positiven Antikörpernachweis gerechnet werden. Bei kurzer Krankheitsdauer findet man vorwiegend IgM-Antikörper, während bei längerer Krankheitsdauer IgG-Antikörper überwiegen. Analog kann man im Stadium II in ca. 70 - 90 % der Fälle einen positiven Antikörpernachweis erwarten. Im Stadium III lassen sich Antikörper - meist nur vom IgG-Typ - bei nahezu 100 % der Fälle nachweisen.

Ein negativer Antikörpernachweis schließt eine frühe Infektion nicht aus. Bei negativem Antikörpernachweis und weiter bestehendem Verdacht auf eine Lyme-Borreliose im frühen Stadium (I oder II) sollte eine serologische Verlaufskontrolle nach 2 bis 3 Wochen durchgeführt werden. Dagegen ist eine seronegative Spätmanifestation sehr selten und am ehesten bei erst kurz dauernder klinischer Symptomatik zu erwarten.

Ein positiver Antikörpernachweis kann Ausdruck einer klinisch manifesten, einer zurückliegenden, ausreichend behandelten oder einer spontan ausgeheilten Infektion sein. Im Zusammenhang mit dem klinischen Bild können erstens ein positiver IgM-Antikörpernachweis und zweitens ein signifikanter Antikörperanstieg bzw. eine Serumkonversion Hinweise auf eine aktive Infektion geben. IgG-Antikörper – in Einzelfällen auch IgM-Antikörper - können auch nach erfolgreicher Therapie über lange Zeit persistieren. Cave: Falsch-positive IgM-Nachweise kommen vor; ein isolierter IgM-Befund (ohne IgG-Antikörper) spricht gegen das Vorliegen einer Spätmanifestation!

7.4.3 Chlamydien

Indikation

Drei Chlamydienspezies verursachen die meisten bekannten humanen Infektionen: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae* und *Chlamydophila psittaci*. *C. trachomatis* ist Erreger von Infektionen des Urogenitaltraktes, der Augen und von Pneumonien bei Neugeborenen. *C. pneumoniae* ist in erster Linie Erreger pulmonaler Infektionen. Es besteht eine hohe Durchseuchung innerhalb der Normalbevölkerung, die bis zu 70 % betragen kann. In der letzten Zeit ist *C. pneumoniae* in der Diskussion wegen der fraglichen Beteiligung an der Pathogenese der Arteriosklerose und bestimmter neurologischer Erkrankungen. Leider ist die Serologie bei diesen Untersuchungen wegen der hohen Durchseuchung in der Normalbevölkerung nur von fraglichem Wert. *C. psittaci* ist der Erreger der Ornithose, die durch den Kontakt mit kranken Papageienvögeln oder Geflügel erworben wird. Infektionen werden in der Regel serologisch diagnostiziert.

Durchgeführte Untersuchungen

KBR mit gattungsspezifischem Antigen; bei V.a. Ornithose; Grenztiter KBR 1: ≥ 10

Mikro-Immunfluoreszenz-Test (MIF) mit speziesspezifischen Antigenen aller drei Arten, getrennte Erfassung von IgG, IgA, IgM, quantitativ

Hinweise zur Bewertung

Mit der KBR werden gattungsspezifische Antikörper erfasst. Eine positive KBR-Reaktion kann auf eine Ornithose hinweisen, muss aber durch den spezifischeren MIF-Test bestätigt werden..

Ein einzelner, niedriger IgG-Antikörpertiter gegen *C. pneumoniae* spricht für eine zurückliegende Infektion (Durchseuchung mit zunehmenden Alter bis zu 80%). Ein Nachweis von IgM-Antikörpern und/oder ansteigenden IgG-Antikörpern in 2 Serumproben spricht für eine aktive, persistierende oder kürzlich zurückliegende Infektion. Das Ergebnis der Antikörperteste muss immer im Zusammenhang mit dem klinischen Bild gesehen werden.

7.4.4 Echinokokken

Indikation

Erreger der Echinokokkose sind der Hundebandwurm (*Echinococcus granulosus*) und der Fuchsbandwurm (*Echinococcus multilocularis*).

Eine serologische Untersuchung sollte durchgeführt werden bei klinischem Verdacht:

- *Echinococcus granulosus*: Zysten (flüssigkeitsgefüllte bis solide Raumforderungen, evtl. mit Verkalkung) in Leber, Lunge und selten auch in anderen Organen, v. a. bei Personen aus Mittelmeerländern und aus anderen Endemiegebieten
- *Echinococcus multilocularis*: infiltrativ wachsende Raumforderungen (DD Malignome!), vorwiegend in der Leber, äußerst selten andere Organe

als Screening:

- *Echinococcus multilocularis*: bei Exposition (Jäger, Waldarbeiter, Straßenarbeiter, Veterinäre usw.)

Durchgeführte Untersuchungen

Untersuchung auf *Echinococcus* species: indirekter Hämagglutinationstest, qualitativ und quantitativ, Grenztiter 1: ≥ 32

Speziesdifferenzierung und Screening auf *E. multilocularis*: EIA mit *E. multilocularis* spezifischem, rekombinantem Antigen

Hinweise zur Bewertung

Die Nachweissicherheit der serologischen Verfahren liegt bei über 90 %. IHA-Titer zwischen 1:512 und 1:2048 werden bei Patienten mit zystischer Echinokokkose als mittlerer Serumtiter angesehen.

7.4.5 FSME-Virus

Indikation

- Anamnese: Zeckenstich, Aufenthalt in Endemiegebieten
- Verdacht auf FSME mit biphasischem Verlauf: 1. Phase: Grippaler Infekt mit Fieber, eventuell gastrointestinale Symptome, Dauer 3-7 Tage, danach symptomfreies Intervall, ca. 1 Woche, 2.Phase (Organmanifestation): Starker Fieberanstieg, > 38 °C, ZNS-Manifestation mit aseptischer Meningitis, Meningoencephalitis oder Meningomyelitis/-radikulitis. Selten Begleithepatitis oder –myocarditis. Letalität 0,5-2,0 % (Europa). Residualzustände: schlaaffe Lähmung, Kopfschmerzen, verringerte Leistungsfähigkeit. Bei Kindern meist mit milderer Symptomatik.
- Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

EIA, getrennte Erfassung von spezifischen IgG- und IgM-Antikörpern (Anti-FSME-IgG, -IgM) qualitativ.

Hinweise zur Bewertung

Zur Sicherung der Diagnose ist die serologische Untersuchung von spezifischen IgG- und, IgM-Antikörpern die Methode der Wahl.

- Spezifische IgM- und IgG-Antikörper positiv: gesicherte Infektion, sofern eine Antikörperinduktion durch eine Immunisierung auszuschließen ist.
- Spezifische IgM- und IgG-Antikörper negativ: bei Erkrankungsverdacht ist eine Kontrolluntersuchung innerhalb weniger Tage erforderlich.

- Spezifische IgM-Antikörper positiv und IgG-Antikörper negativ: Verdacht auf FSME, Kontrolleinsendung in 2 bis 7 Tagen notwendig.
- Spezifische IgM-Antikörper negativ und IgG-Antikörper positiv: Immunität, Ausnahmen: passive Immunisierung, Impfdurchbruch, kreuzreaktive Antikörper.

Nach einer Infektion sind neutralisierende IgG-Antikörper lebenslang nachweisbar. Die Schutzdauer nach vollständiger aktiver Immunisierung beträgt nach bisherigem Erkenntnisstand zwischen 3 - 5 Jahren. Niedrige Titer rechtfertigen nicht den Aufschub von Auffrischimpfungen.

Kreuzreaktionen mit Antikörpern anderer Flaviviren (Gelbfieber-, Japan-Enzephalitis-Virus, Dengueviren) sind möglich.

7.4.6 Hepatitis-A-Virus (HAV)

Indikation

- Verdacht auf akute Hepatitis
- Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

EIA (MEIA), Erfassung von spezifischen IgM-Antikörpern und Gesamt-Antikörpern (IgG und IgM) gegen Hepatitis A, qualitativ.

Hinweise zur Bewertung

- Antikörper gegen HAV im Serum (bei negativem HAV-IgM): nach früher durchgemachter Infektion, aktiver Impfung oder kurzzeitig nach passiver Immunisierung mit antikörperhaltigem Immunglobulin. Das Testsystem wurde vom Hersteller so modifiziert, dass ein positives Ergebnis gleichzeitig Immunität anzeigt.
- Anti-HAV-IgM positiv: ein Zeichen für eine akute oder kürzlich durchgemachte Infektion. Zusammen mit einer entsprechenden Klinik diagnostisch aussagekräftig.

7.4.7 Hepatitis-B-Virus (HBV)

Indikation

- a. Verdacht auf akute Hepatitis
- b. Verlaufskontrolle
- c. Verdacht auf chronische Hepatitis
- d. Infektiosität
- e. Umgebungsuntersuchungen
- f. Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

EIA (MEIA): HBsAg und Bestätigungstest, HBeAg, Anti-HBc, Anti-HBc-IgM, Anti-HBe, Anti-HBs.

- zu a. Zuerst anti-HBc (Gesamt-Antikörper), zur Klärung anti-HBc-IgM und HBsAg, Anti-HBs
- zu b. Bei akuter Hepatitis-B: Zu Beginn HBsAg oder HBeAg, nach 6 Wochen Kontrolle. Dann vierteljährliche Kontrollen bis HBsAg negativ und anti-HBs positiv wird.
- zu c. Bestimmung von HBsAg und Anti-HBc, falls positiv HBeAg und Anti-HBe sowie anti-HBc-IgM
- zu d. Zur genauen Beurteilung der Infektiosität eines Virusträgers ist der quantitative HBV-DNA-Nachweis mittels NAT (Nukleinsäure-Amplifikationstechnik) erforderlich (externes Labor).
- zu e. Nicht immune Kontaktpersonen, die als Erregerquelle in Frage kommen, sind auf HBsAg und Anti-HBc zu testen. Falls allein Anti-HBc nachweisbar ist, muss auf Anti-HBs geprüft werden.
- zu f. Vor Impfung sind Personen mit Expositionsrisiko auf Anti-HBc zu testen. Bei positivem Anti-HBc sollte eine weitere Klärung der Krankheitsphase des Patienten durch Untersuchungen auf Anti-HBs und falls negativ durch HBsAg herbeigeführt werden.
Nach Impfung sind Personen mit erhöhtem Risiko 4 Wochen nach Abschluss der Impfung quantitativ auf Anti-HBs zu untersuchen.

Hinweise zur Bewertung

Bis auf Anti-HBs handelt es sich um qualitative Untersuchungsergebnisse der Hepatitis-B-Marker

- zu a. HBsAg ist nicht immer positiv, Anti-HBc-IgM weist auf eine akute Hepatitis B hin.
Niedrige Titer von Anti-HBc-IgM bei HBs-Trägertum weisen auf eine mögliche nicht durch HBV verursachte Leberschädigung hin. Selten tritt in der Frühphase der Hepatitis B anti-HBs auf.

- zu b. Falls die Infektion ausheilt, fällt HBsAg innerhalb von 6 Wochen unter 50 %, HBeAg wird negativ. Bis HBsAg vollständig absinkt dauert es bis zu einem Jahr. Anti-HBe und Anti-HBs erscheinen in der Regel während der Rekonvaleszenz. Nach einigen Jahren verschwindet Anti-HBe. Anti-HBs und Anti-HBc verbleiben lebenslang.
- zu c. Bei der Erstdiagnose einer chronischen Hepatitis B kann HBsAg und ein mäßig positives Anti-HBc-IgM zu finden sein. HBV-DNA ist fast immer mit PCR und mit Anti-HBe oft nachweisbar. Typisch sind fluktuierende Verläufe mit Ruhephasen mit positivem HBsAg und Anti-HBc aber kein Anti-HBc-IgM. Eine Reaktivierung beginnt mit einem HBV-DNA- und danach mit einem GPT-Anstieg, gefolgt von einer Anti-HBc-IgM-Erhöhung. Ein positives HBeAg spricht für eine hohe Virusvermehrung und eine hohe Virämie. Bei einem Abfall von HBeAg verringert sich die Virämie und GPT steigt. Nach einem längeren chronischen Verlauf treten Virusmutanten auf, die keine HBeAg-Bildung bewirken. Der Patient ist meist Anti-HBe negativ und kann aber eine hohe Virämie aufweisen. Der Gewebeumbau der Leber kann nicht virologisch, sondern nur histologisch bestimmt werden. Bei Leberzirrhose und Leberkarzinom sind u. U. HBV-DNA oder HBsAg, seltener Anti-HBc nicht im Serum nachweisbar.
- zu d. Hohe Infektiosität liegt bereits 2 bis 3 Monate vor Ausbruch einer akuten Hepatitis B vor. Blut ist hochinfektiös ab einer Genomzahl von 10^9 /ml. Die Viruskonzentration in Speichel und Sperma ist etwa um den Faktor 1000 geringer. Bei einer Genomzahl unter 10^6 /ml bleibt eine Hepatitis B hinsichtlich der Infektiosität erfahrungsgemäß im Alltag und Berufsleben ohne Konsequenzen (siehe dazu die Empfehlungen der DVV bezüglich Tätigkeitseinschränkungen im medizinischen Bereich).
- zu e. In Speziallaboratorien kann eine Infektkette durch Sequenzierung und Genotypisierung geklärt werden.
- zu f. Immunität ist gegeben, wenn Anti-HBs über 10 IU/l liegt. Ohne vorherige Impfung muss auch Anti-HBc positiv sein (natürliche Immunität). Wenn Anti-HBs nach kompletter Impfung negativ bleibt, sollte bei fehlender Voruntersuchung immer auf Anti-HBc und HBsAg getestet werden. Ist beides negativ, erfolgt eine erneute Impfung. Anti-HBs in Gegenwart von HBsAg oder HBV-DNA weist auf das Vorliegen von Escape-Mutanten des HBV hin.

7.4.8 Hepatitis-C-Virus (HCV)

Indikation

- Verdacht auf eine HCV-Infektion
- Ausschluss bei unklarer Hepatitis, GPT-Erhöhung, kryptogener Leberzirrhose
- Ausschluss bei scheinbar bekannter Ursache, wie HBsAg-Positiven und alkoholischer Lebererkrankung

Durchgeführte Untersuchungen

EIA (MEIA): anti-HCV, qualitativ, Immunoblot zur Verifizierung des serologischen Ergebnisses

Hinweise zur Bewertung

Ein bestätigter Anti-HCV-Nachweis beweist das Vorliegen einer aktiven oder früheren HCV-Infektion. Eine negative Reaktion im Anti-HCV-Test schließt eine akute HCV-Infektion nicht aus. Akute und chronische HCV-Infektionen lassen sich serologisch nicht differenzieren.

Eine Klärung der Infektiosität ist über einen HCV-RNA-Nachweis mittels NAT (Nukleinsäure-Amplifikationstechnik) möglich. Die vorherige Rücksprache mit dem untersuchenden Labor über Transport und Abnahme des geeigneten Patientenmaterials ist sinnvoll. Drei negative HCV-RNA-Nachweise innerhalb eines halben Jahres belegen eine ausgeheilte HCV-Infektion.

7.4.9 Hepatitis-E-Virus (HEV)

Indikation

Verdacht auf akute Hepatitis bei Patienten, die aus Endemiegebieten eingereist sind bei negativem Anti-HAV-IgM, Anti-HBc-IgM, Anti-HCV

Durchgeführte Untersuchungen

EIA: Anti-HEV-IgG, qualitativ, Immunoblot: Anti-HEV-IgG

Hinweise zur Bewertung

Bei positivem Anti-HEV-IgG, eindeutiger Symptomatik und vorheriger Aufenthalt in einem Endemiegebiet ist eine HEV-Infektion wahrscheinlich. Zur Absicherung der Untersuchung ist eine zweite Untersuchung 8-10 Tage später sinnvoll (Titeranstieg).

7.4.10 HIV Typ 1 und 2

Indikation

- Feststellung des Infektionsstatus
- Verdacht auf frische Infektion/kürzliche Exposition

Durchgeführte Untersuchungen

EIA (MEIA): Anti-HIV-1 und -2 (IgG/IgM), p24-Antigen, qualitativ, Immunoblot: Anti-HIV-1 und -2, im positiven Fall Zweituntersuchung zum Ausschluss einer Probenverwechslung.

Hinweise zur Bewertung

Reaktiver Antikörper/Antigen-EIA und positiver Bestätigungstest: Patient ist HIV-infiziert (Ausnahme: Kinder unter 21 Monaten, Leihimmunität).

Negativer Antikörper/Antigen-EIA: Es liegt keine HIV-Infektion vor (Ausnahme: kurz zurückliegende Exposition, Patienten mit humoralem Immundefekt. Auf Grund einer natürlich verzögerten Antikörperbildung sind Verlaufsuntersuchungen u. U. bis zu 3 oder 6 Monaten nötig.)

Reaktiver Antikörper/Antigen-EIA und negativer Bestätigungstest: Patient befindet sich eventuell in der Früh- oder Spätphase der Erkrankung, in der nur das HIV-Antigen nachweisbar ist. Zur Klärung muss eine HIV-PCR (externes Labor) durchgeführt werden.

7.4.11 Influenzaviren

Indikation

Verdacht auf akute Infektion

Durchgeführte Untersuchungen

EIA: Anti-Influenza-A- und -B-IgA, qualitativ

Hinweise zur Bewertung:

Der spezifische IgA-Nachweis in Einzelseren dient bei entsprechender klinischer Symptomatik im Rahmen der Influenza-Surveillance als Kriterium einer akuten oder kürzlich aufgetretenen Influenza.

7.4.12 Legionella pneumophila

Indikation

V. a. Legionellose bzw. Legionellen-Pneumonie

Durchgeführte Untersuchungen

Indirekte Immunfluoreszenz zum Nachweis von IgG Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* (Serogruppe 1 - 14) und anderen *Legionella species* im Serum.

Hinweise zur Bewertung

Titer von 1:< 128 sind unspezifisch und damit negativ zu bewerten.

Titer von 1:128 sind grenzwertig. Zum Beweis einer akuten Infektion sollte nach 14 - 21 Tagen in einer weiteren Serumprobe ein vierfacher Titeranstieg zu finden sein. Titer von 1: 256 und höher gelten als positiv, müssen aber als Einzeltiter vorsichtig interpretiert werden. Ein negativer Antikörpernachweis schließt eine Legionellose nicht aus. Der Legionellen-Antikörpernachweis hat wegen der im Verlauf der Erkrankung erst spät auftretenden Antikörperbildung (oft erst nach 3 - 6 Wochen) in der Akutdiagnostik der Legionellosen nur geringe Bedeutung und dient vornehmlich der retrospektiven Differentialdiagnostik. Bei entsprechendem Verdacht sollte deshalb die Einsendung von Sekreten aus dem tiefen Respirationstrakt (z. B. BAL) zum direkten Nachweis mittels Kultur und PCR erfolgen (siehe 2.8). Zusätzlich wird die Einsendung von Urin (3x) zum Nachweis von Legionellen-Antigen empfohlen.

7.4.13 Leptospira interrogans

Indikation

Leptospiren wurden zunächst als Erreger der Weilschen Krankheit (Morbus Weil) erkannt. Weitere durch andere Serovaren verursachte Krankheiten sind u. a. das Schlamm-, Feld-, Ernte-, Reisfeld- und Canicolarfieber. Die Anzüchtung der Leptospiren ist unpraktikabel. Die serologische Untersuchung ist neben dem direkten, mikroskopischen Erregernachweis der wichtigste Weg zum Nachweis einer Infektion.

Durchgeführte Untersuchungen

KBR mit gattungsspezifischem Antigen, bei positivem Befund mit Einzelantigen der Serovare; Grenztiter KBR 1: ≥ 10

Hinweise zur Bewertung

Bei frischer Infektion steigen die Antikörpertiter in der 2. Woche an und erreichen das Maximum in der 3. – 5. Woche.

7.4.14 Lues (*Treponema pallidum*)

Indikation

Treponema pallidum ist der Erreger der Syphilis (Lues). Da der Erreger nicht anzüchtbar ist, haben serologische Methoden in der Diagnose einen hohen Stellenwert. Die Bewertung des serologischen Status beruht auf der Beurteilung verschiedener Parameter.

Durchgeführte Untersuchungen

Folgende serologische Stufendiagnostik wird durchgeführt:

- Stufe 1: TPPA, allgemeiner Antikörpersuchtest, Grenztiter: 1: \geq 80
- Stufe 2: Fluoreszenz-Treponema-Antikörper-Absorptionstest (FTA-abs) als Bestätigungstest bei positivem TPPA, Bewertung als: reaktiv – schwach reaktiv – nicht reaktiv
- Stufe 3: Cardiolipin-Agglutinationstest zum Nachweis antilipoidaler Antikörper, Grenztiter: 1: \geq 2
- Stufe 4: IgM-Antikörper-Nachweis mittels EIA und Immunoblot; Bewertung als positiv - negativ

Bei Verdacht auf Neurolues kann neben Serum auch Liquor zur Untersuchung eingesandt werden.

Hinweise zur Bewertung

Ist der TPPA als Suchtest negativ, kann auf weitere Untersuchungen verzichtet werden, sofern kein klinischer Verdacht auf eine Frühinfektion (< 3 Wochen) besteht. Dann ist erneute Einsendung im Abstand von 1 – 2 Wochen notwendig.

Bei positivem TPPA wird die serologische Diagnostik erweitert: als Bestätigungstest dient der FTA-abs, zur Erkennung der Aktivität der Erkrankung die Cardiolipin-Reaktion und der IgM-Nachweis.

Positive Cardiolipin- und/oder IgM-Antikörpernachweise zeigen eine behandlungsbedürftige Treponemeninfektion an. Bei bekannter Behandlungsanamnese ist eine Kontrolle in 3 Monaten erforderlich zum Nachweis eines Titerabfalls.

Unspezifisch positive Reaktionen im Cardiolipin-Test treten auf bei allen Erkrankungen, bei denen aus betroffenen Zellen lipoidhaltige Mitochondrien freigesetzt werden: Infektiöse Mononukleose, Tuberkulose, Lepra, Malaria, Kollagenosen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Lebererkrankungen, Karzinome, außerdem auch bei Gravidität.

7.4.15 Masernvirus

Indikation

- Verdacht auf akute Infektion
- Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

EIA: Anti-Masern-IgM qualitativ, Anti-Masern-IgG, qualitativ und quantitativ

Hinweise zur Bewertung

Die Diagnose einer akuten Masern-Infektion kann oft klinisch gestellt werden. Der positive IgM-Nachweis kann dies bestätigen. Bei einem negativen Masern-IgG und typischer Symptomatik ist eine weitere Einsendung sinnvoll, da das IgM oft nach dem Beginn des Exanthems auftritt. Bei Impfdurchbrüchen ist der vierfache Titeranstieg des Masern-IgG beweisend. Bei passiver Antikörperübertragung, z. B. bei Säuglingen, verläuft die Erkrankung in abgeschwächter Form und muss zusätzlich virologisch abgeklärt werden.

Die zum Nachweis einer Immunität notwendigen Messwerte für die Antikörperkonzentration sind den Herstellerangaben des verwendeten EIA-Testsystems zu entnehmen.

7.4.16 Mumpsvirus

Indikation

- Verdacht auf akute Infektion
- Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

EIA: Anti-Mumps-IgM qualitativ, Anti-Mumps-IgG, qualitativ und quantitativ

Hinweise zur Bewertung

IgM-Antikörper sind 2-4 Tage nach Symptombeginn zu erwarten und ca. 2-3 Monate nachweisbar. Seltene Reinfektionen sind möglich, aber ohne IgM-Antikörper-Nachweis.

IgG-Antikörper bleiben lange vorhanden und zeigen einen Schutz vor einer Zweiterkrankung an. Bei spezifischen IgG-Antikörpern bestehen Kreuzreaktionen mit Parainfluenzavirus Typ 2. Die zum Nachweis einer Immunität notwendigen Messwerte für die Antikörperkonzentration sind den Herstellerangaben des verwendeten EIA-Testsystems zu entnehmen.

7.4.17 Neisseria gonorrhoeae

Indikation

Verdacht auf chronische oder disseminiert verlaufende Gonorrhoe, v. a. extragenitale Komplikationen, z. B. Arthritis, Perihepatitis

Durchgeführte Untersuchungen

KBR: Grenztiter KBR 1: ≥ 10

Hinweise zur Bewertung

Hinweisend für eine Infektion sind Titer 1: > 10 und vor allem Titerbewegungen. Nach erfolgreicher Behandlung ist mit einem Absinken des KBR-Titers unter die Nachweisgrenze zu rechnen. Falsch erhöhte Titer werden bei Infektionen durch andere Neisserien, z. B. Meningokokken, gesehen.

7.4.18 Parvovirus B19

Indikation

- Abklärung unkomplizierter Infektionen (Ringelröteln, Exanthem)
- Immunstatus

Durchgeführte Untersuchungen

EIA: Anti-Parvovirus B19-IgM, -IgG, qualitativ

Hinweise zur Bewertung

Bei einer akuten Infektion sind IgM- und eventuell IgG-Antikörper gegen Parvovirus-B19 nachweisbar bzw. eine Serokonversion. IgG-Antikörper gegen Parvovirus B19 sind bei einer länger zurückliegenden Infektion nachweisbar.

Der zusätzliche Nachweis des Parvovirus B19-Genoms im Blut (PCR) und weitere Spezialuntersuchungen bei Verdacht auf eine Parvovirus B19-Infektion in der Schwangerschaft sowie der Nachweis intrathekaler Antikörper bei einem Meningitis-Verdacht müssen in einem Speziallabor erfolgen.

7.4.19 Q-Fieber

Indikation

- Atypische Pneumonie, besonders nach Kontakt mit Rindern, Schafen oder Ziegen (akutes Q-Fieber)
- Verdacht auf Endokarditis, Karditis, granulomatöse Hepatitis (chronisches Q-Fieber)

Durchgeführte Untersuchungen

KBR mit Phase I Antigen und KBR mit Phase II Antigen; Grenztiter 1: ≥ 10

EIA mit Phase II Antigen, IgG (quantitativ) und IgM (qualitativ)

Hinweise zur Bewertung

In einem frühen, akuten Stadium der Erkrankung werden vorwiegend Antikörper gegen das Phase II Antigen gebildet, in einem späteren Stadium (nach einigen Wochen) und der chronischen Form Antikörper gegen Phase I Antigen.

7.4.20 Rötelnvirus

Indikation

- Verdacht auf akute Infektion
- Immunität/Impferfolg

Durchgeführte Untersuchungen

HHT, EIA : Anti-Röteln-IgM qualitativ, Anti-Röteln-IgG, qualitativ und quantitativ

Hinweise zur Bewertung

Die Feststellung einer akuten Infektion ist, falls keine Schwangerschaft vorliegt, unproblematisch durch die Klinik und den positiven Röteln-IgM-Antikörper-Nachweis zu klären.

Zur Immunitätskontrolle HHT:

- Nachweis schützender Antikörper vor Eintritt einer Schwangerschaft, damit gegebenenfalls eine Rötelnimpfung rechtzeitig durchgeführt werden kann.
- Mutterschaftsvorsorge im 1. Trimenon, Röteln-HHT-Titer < 1:32 - Kontrolle bis zum 18. Schwangerschaftsmonat.

Immunität:

- HHT \geq 1:32, EIA \geq 35 IU/ml
- HHT 1:8 oder 1:16, EIA \geq 7-10 IU/ml (Bereich der Basisimmunität mit unsicherem Schutz vor Erkrankung)

Im Falle einer Schwangerschaft sind weitere Untersuchungen zur Klärung einer möglichen Infektion notwendig (externes Labor): Röteln-E2-IgG-Konformationsantikörper, Prüfung der Avidität der röteln-spezifischen Antikörper (Western-Blot). Da u. U. eine perinatale Rötelndiagnostik nötig wird, muss dies in einem Zentrum für Perinataldiagnostik durchgeführt werden.

8. Virologische Untersuchungen

8.1 Allgemeine Hinweise

Die Entnahme von Probenmaterial für den Virusnachweis soll gezielt und bei der Diagnostik von Gruppenerkrankungen ausgewählt erfolgen. Grundsätzlich gilt die Forderung, das Material so früh wie möglich zu entnehmen, da zu Beginn einer Erkrankung die Virusausscheidung in der Regel am größten ist.

Die für virologische Untersuchungen einzusendenden Materialien sollen bis zum Transport gekühlt gelagert werden (2 - 8 °C).

Da Viren unterschiedlich resistent gegen Umwelteinflüsse sind, ist ein möglichst schneller Transport in das Labor wichtig. Für die Entnahme, den Transport und die zwischenzeitliche Lagerung von Probenmaterial werden entsprechende Hinweise bei Anforderung von Transportsystemen mitgeliefert.

Weitere Angaben zu den Untersuchungen siehe Anlage 1 Liste viraler Erreger und möglicher Untersuchungen zum Nachweis von Infektionen und Anlage 3 Versandbedingungen der wichtigsten Untersuchungsmaterialien.

Für eine optimale virologische Diagnostik empfehlen wir **eine Rücksprache mit dem Labor** vor der Probenentnahme.

8.2 Abstrichmaterial

(Rachenabstriche, Nasenabstriche, Konjunktivalabstriche, Bläscheninhalt, ausnahmsweise Rektalabstriche: Siehe auch unter Stuhl)

8.2.1 Indikation

- Verdacht auf virale Infektionen der oberen Luftwege (u. a. Adeno-, Respiratory-Syncytial-, Influenza-, Parainfluenza-, Enteroviren)
- Verdacht auf generalisierte Infektion mit Effloreszenzen/Exanthem an der Haut und Effloreszenzen/Enanthem an der Schleimhaut (u. a. Enteroviren, Herpes-simplex-Virus)
- Verdacht auf beginnende Infektionen durch Enteroviren (Coxsackie-, ECHO- und Polioviren)
- Verdacht auf Influenza (Influenza A, B, HPAI), neue Influenza (A/H1N1)
- Verdacht auf Infektion des Auges (einschließlich Keratocconjunctivitis epidemica durch Adenoviren, Herpes-simplex-Virus)

8.2.2 Materialentnahme und Transport

Material zur Virusisolierung und für die PCR-Diagnostik sollte innerhalb der ersten drei Krankheitstage entnommen werden. Dies geschieht im betroffenen Bereich mit Hilfe eines sterilen Abstrichtupfers (wird vom TLLV mit Hinweisen zur Materialabnahme bereitgestellt).

Es ist wichtig, durch ausreichend intensives Abstreichen neben vorhandenem Sekret auch zelluläre Bestandteile zu gewinnen. Der Tupfer muss danach unmittelbar in das Transportmedium für virologische Untersuchungen gegeben werden. Bis zum Transport in das Labor, innerhalb von maximal 48 Stunden, ist das Material bei 2 - 8 °C aufzubewahren. Der Transport ist ebenfalls gekühlt vorzunehmen.

Eine Austrocknung des Probenmaterials soll unbedingt vermieden werden. Falls keine geeigneten Transportsysteme zur Verfügung stehen, ist das Einlegen von Abstrichtupfern in sterile physiologische Kochsalzlösung alternativ möglich. Bakteriologische Transportmedien sind nicht einzusetzen.

8.2.3 Befundinterpretation

Die Isolierung eines viralen Erregers und der Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren (DNA bzw. RNA) sind jeweils in der Regel beweisend für eine entsprechende Infektion. Der fehlende kulturelle Nachweis schließt eine virale Infektion nicht aus. Während durch die PCR ein relativ schneller Nachweis gelingt, erlaubt die Virusisolierung weitere Untersuchungen im Rahmen epidemiologischer Fragestellungen.

8.3 Stuhl

8.3.1 Indikation

- Verdacht auf virusbedingte Durchfallerkrankungen (insbesondere durch Noro-, Rota-, Astro-, Adeno- und Enteroviren)
- Virusnachweis bei systemischen Infektionen durch Enteroviren (z. B. Hand-Fuß-Mund-Krankheit, „Sommergrippe“, Infektionen des Zentralnervensystems) oder Adenoviren

8.3.2 Materialentnahme und Transport

Stuhlprobe

Material für die Virusisolierung, den Antigen-Nachweis und für die PCR-Diagnostik ist innerhalb der ersten 3 Krankheitstage bis zu zwei Wochen nach Krankheitsbeginn in Abhängigkeit vom vermuteten Erreger zu entnehmen.

In diesem Zeitraum ist mit der höchsten Ausscheidung von Viren zu rechnen. Die Ausscheidung von noch infektiösen enteralen Viren kann bei Rotaviren bis ca. 9 Tage, bei Noroviren bis zu 14 Tagen und bei Astroviren bis mehrere Tage nach dem Ende der Diarrhoe anhalten, währenddessen Enteroviren u. U. monatelang im Stuhl ausgeschieden werden können.

Der Stuhl sollte in ein sauberes Gefäß oder eine frisch gespülte Toilettenschüssel entleert werden. Mit dem im Transportgefäß enthaltenen Löffelchen ist eine mindestens haselnussgroße Menge zu entnehmen. Sind zusätzliche bakteriologische, parasitologische, quantitativ-mikrobiologische oder immunologische Untersuchungen (Antigen-EIA) vorgesehen, sollte das Stuhlgefäß zur Hälfte gefüllt sein.

Rektalabstrich

Ist die Stuhlgewinnung nicht möglich, kommt eine Probengewinnung durch einen Rektalabstrich in Betracht.

Dazu sollte der Patient mit angewinkelten Knien auf der Seite gelagert werden. Der Tupfer wird bis zum Rektum eingeführt und vorsichtig gedreht.

Rektalabstriche müssen in Transportmedium für virologische Untersuchungen transportiert werden. Sie eignen sich nicht für Untersuchungen mit Hilfe eines EIAs zum Antigennachweis von Rota-, Astro- und Adenoviren. Da durch einen Rektalabstrich zu wenig Material für eine Virusisolierung und eine zusätzliche PCR gewonnen werden kann, muss für jede zusätzliche Untersuchung ein weiterer Abstrich eingesandt werden.

8.3.3 Befundinterpretation

Bei einer Isolierung von Viren bzw. einem Direktnachweis mittels EIA oder PCR aus Stuhl bzw. Rektalabstrich ist eine ätiologische Abklärung der Erkrankung in der Regel gegeben.

Der fehlende Nachweis schießt eine virale Erkrankung nicht zwingend aus.

8.4 Liquor

8.4.1 Indikation

- Verdacht auf virale Meningitis, Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (insbesondere durch Entero-, Adeno-, Masern-, Mumps-, FSME-Viren, Herpesvirus-Gruppe)
- Differentialdiagnostische Abklärung akuter schlaffer Paresen (AFP), Verdacht auf Poliomyelitis

8.4.2 Materialentnahme und Transport

Die Entnahme des Liquors durch Punktion erfolgt unter streng aseptischen Kautelen.

Als Transportgefäß dienen sterile Röhrchen mit Schraubverschluss. Für die Untersuchung ist eine Menge von mindestens 0,5 ml, besser 1 ml Liquor ohne Zusätze nötig.

Die Lagerung und der Transport sollten bei 2 - 8 °C erfolgen. Wenn eine Verarbeitung innerhalb von 24 bis 48 h nicht möglich ist, sollte die Probe bei minus 70 °C eingefroren werden.

Material für die Virusisolierung/PCR möglichst innerhalb der ersten Krankheitswoche entnehmen.

Besteht der Verdacht auf eine Erkrankung durch humane Herpesviren kommen geeignete Virustatika zum Einsatz. Durch eine PCR muss geklärt werden, ob die Erkrankung des ZNS tatsächlich durch diese Erreger ausgelöst wurde. Falls noch der Nachweis von intrathekalen Antikörpern angestrebt

wird, muss dieser in einem geeigneten Speziallabor durchgeführt werden. Eine bis zu 3 Wochen dauernde Virusisolierung ist möglich, aber nicht die Methode der Wahl. Eine zusätzliche Einsendung von Stuhlproben und Rachenabstrichen zum Liquor ist z. B. bei Infektionen durch Enteroviren sinnvoll.

8.4.3 Befundinterpretation

Die Isolierung von Viren oder der Direktnachweis mittels PCR aus Liquor ist diagnostisch signifikant. Der fehlende Nachweis schließt eine virale Erkrankung nicht zwingend aus.

8.5 Spülflüssigkeiten, Punktate

(Nasenaspirat, Rachenspülwasser, BAL, Pleura-, Perikard-, Peritoneal- bzw. Synovialflüssigkeit)

8.5.1 Indikation

Abklärung einer viralen Genese unklarer Krankheitsbilder

8.5.2 Materialentnahme und Transport

Die Materialien werden unter den für sie typischen Bedingungen gewonnen und ohne Zusätze in sterile Transportröhrchen mit Schraubverschluss gegeben. Die Lagerung und der Transport erfolgen innerhalb von 24 h gekühlt bei 2 - 8 °C.

8.5.3 Befundinterpretation

Die Anzucht von Viren oder der Nachweis mittels PCR aus Spülflüssigkeiten und Punktaten ist diagnostisch signifikant. Der fehlende Nachweis schließt eine virale Erkrankung nicht zwingend aus.

8.6 Bioptate, Sektionsmaterialien

(Lungengewebe, Bronchus, Trachea, Darm)

8.6.1 Indikation

Abklärung einer viralen Genese unklarer Krankheitsbilder und Todesfälle im Zusammenhang mit respiratorischen und enteralen Erkrankungen, siehe unter 8.2 Abstrichmaterial und 8.3 Stuhlproben.

8.6.2 Materialentnahme und Transport

Die Materialien werden unter den für sie typischen Bedingungen entnommen und in ein steriles Transportgefäß mit Schraubverschluss gegeben. Optimal ist ein etwa kirschgroßes Gewebestück. Die Lagerung und der Transport erfolgen innerhalb von 24 h gekühlt bei 2 - 8 °C. Falls der Einsender über Lagermöglichkeiten von ca. minus 70 °C verfügt, können diese ebenfalls genutzt werden. Der Transport in das Labor ist dann aber unter Beibehaltung dieser Temperatur abzusichern.

8.6.3 Befundinterpretation

Der Nachweis von Viren aus Geweben ist diagnostisch signifikant. Der fehlende Nachweis schließt eine virale Erkrankung nicht zwingend aus.

9. Trink- und Badewasseruntersuchung

9.1 Indikation

Im Arbeitsgebiet Wasserhygiene werden die amtlichen Wasserproben aus dem Freistaat Thüringen untersucht. In dem akkreditierten Laboratorium wird eine Vielzahl mikrobiologischer und chemischer Untersuchungen durchgeführt.

Gesetzliche Grundlagen:

Trinkwasserverordnung 2001

EU-Badegewässerrichtlinie 2006/7/EC, Thüringer Badegewässerverordnung vom 30. Juni 2009

9.2 Materialentnahme und Transport

Die Materialentnahme wird von geschulten Mitarbeitern der Gesundheitsämter unter Beachtung der Standardarbeitsanweisungen durchgeführt. Der Transport erfolgt gekühlt, die maximale Transportdauer beträgt 24 Stunden.

9.3 Untersuchungsparameter

Mikrobiologisch

Parameter	Methode	Anwendungsbereich	Bemerkung
Koloniezahl bei 2 Temperaturen	Plattengussverfahren	Trinkwasser Badewasser Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
E. coli / Coliforme	Colilert	Trinkwasser Badewasser	Sterile Plastikflasche mit 130 ml
E. coli	Mikrotiterplatten-Methode	Oberflächenwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
E. coli	Anreicherungsverfahren	Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Coliforme	Anreicherungsverfahren	Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Intestinale Enterokokken	Membranfiltration	Trinkwasser Badewasser Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Intestinale Enterokokken	Mikrotiterplatten-Methode	Oberflächenwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Pseudomonas aeruginosa	Membranfiltration	Trinkwasser Badewasser Oberflächenwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Pseudomonas aeruginosa	Anreicherungsverfahren	Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Clostridium perfringens	Membranfiltration	Trinkwasser Badewasser Mineralwasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Legionellen	Spatelverfahren, Membranfiltration	Trinkwasser Badewasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml
Salmonellen	Membranfiltration	Alle Arten von Wasser	Sterile Glasflasche mit 250ml-1l
Schimmelpilze	Membranfiltration	Alle Arten von Wasser	Sterile Glasflasche mit 250 ml

Chemisch

Parameter	Methode	Anwendungsbereich
Benzol	Headspace-GC/MS	Trinkwasser
Bor	ICP/MS	Trinkwasser
Bromat	Ionenchromatographie	Trinkwasser
Chrom	ICP/MS	Trinkwasser
Cyanid	Photometrie	Trinkwasser
1,2-Dichlorethan	Headspace-GC/MS	Trinkwasser
Fluorid	Ionenchromatographie	Trinkwasser
Nitrat	Ionenchromatographie	Trinkwasser/Badewasser
PSM u. Biozidprodukte		
Organische Insektizide	GC/MS	Trinkwasser
Organische Herbizide	LC/MS	Trinkwasser
PSM-Metaboliten	GC/MS	Trinkwasser
Quecksilber	ICP/MS	Trinkwasser
Selen	ICP/MS	Trinkwasser
Tetrachlorethen	Headspace-GC/MS	Trinkwasser
Trichlorethen	Headspace-GC/MS	Trinkwasser
Antimon	ICP/MS	Trinkwasser
Arsen	ICP/MS	Trinkwasser
Benzo-(a)-pyren	LC/Fluoreszenz	Trinkwasser
Blei	ICP/MS	Trinkwasser
Cadmium	ICP/MS	Trinkwasser
Kupfer	ICP/MS	Trinkwasser
Nickel	ICP/MS	Trinkwasser
Nitrit	Ionenchromatographie	Trinkwasser
PAK	LC/Fluoreszenz	Trinkwasser
Trihalogenmethane	Headspace-GC/MS	Trinkwasser/Badewasser
Aluminium	ICP/MS	Trinkwasser/Badewasser
Ammonium	Photometrie	Trinkwasser
Chlorid	Ionenchromatographie	Trinkwasser
Eisen	ICP/MS	Trinkwasser/Badewasser
Färbung (SAK 436 nm)	Photometrie	Trinkwasser
Geruchsschwellenwert	Sensorik	Trinkwasser
Geschmack	Sensorik	Trinkwasser
Elektr. Leitfähigkeit	Konduktometrie	Trinkwasser
Mangan	ICP/MS	Trinkwasser
Natrium	ICP/MS	Trinkwasser
TOC	Photometrie	Trinkwasser
Oxidierbarkeit	Titration	Trinkwasser/Badewasser
Sulfat	Ionenchromatographie	Trinkwasser
Trübung	Photometrie	Trinkwasser
pH-Wert	Potentiometrie	Trinkwasser/Badewasser
Calcitlösekapazität	Berechnung	Trinkwasser
Säurekapazität	Titration	Trinkwasser
Calcium	ICP/MS	Trinkwasser
Magnesium	ICP/MS	Trinkwasser
Kalium	ICP/MS	Trinkwasser
Uran	ICP/MS	Trinkwasser
Chlorophyll	Photometrie	Badewasser
Microcystin	Enzymimmunoassay	Badewasser
Gesamtposphor	ICP/MS	Badewasser

9.4 Bewertung der Ergebnisse

Anhand der Untersuchungsergebnisse der Wasserproben werden Gutachten für die Gesundheitsämter erstellt. Die Bewertung der Ergebnisse erfolgt entsprechend der in den gesetzlichen Grundlagen vorgegebenen Richt- und Grenzwerte.

10. Innenraumluftuntersuchungen

Das Arbeitsgebiet Innenraumluft beinhaltet Untersuchungen der Innenraumluft von öffentlichen Einrichtungen, Gemeinschaftseinrichtungen und Wohnungen, die Erstellung von Gutachten und die Durchführung von Beratungen für Gesundheitsämter, andere Behörden und für private Personen, die sich mit ihren Problemen an das Gesundheitsamt zur Bewertung von Gesundheitsgefahren wenden.

Qualitätsbeeinträchtigungen der Raumlufte können sich bei den Raumnutzern z. B. durch Reizerscheinungen an Augen, Haut und Atemwegen, häufige Kopfschmerzen, allgemeines Unwohlsein sowie Geruchsbelästigungen bemerkbar machen. Plötzlich auftretende ölig-schmierige bzw. schwarz-graue Ablagerungen auf Wänden und Einrichtungsgegenständen, nahezu ausschließlich in der Heizperiode sind gleichfalls auf belastete Raumlufte zurückführbar.

Raumluftebelastungen können nach Sanierung von Gebäuden, Renovierung von Räumen, Aufstellen von neuen Möbeln und Einrichtungsgegenständen, Neuverlegung von Fußbodenbelägen sowie auch durch Aktivitäten der Raumnutzer wie z. B. Heimwerkertätigkeit und Hobbyausübung auftreten. Schimmelpilzbefall in Form von sichtbarem und verdecktem Befall kann die Raumluftequalität ebenfalls beeinträchtigen.

Das Untersuchungsspektrum für Innenraumluftebelastungen gliedert sich in

- ◆ Chemische Raumluftekontaminanten und
- ◆ Mikrobiologische Raumluftekontaminanten

10.1 Chemische Raumluftekontaminanten

Für die notwendigen Vor-Ort-Lufteprobenahmen wird mit dem Auftraggeber ein Termin abgestimmt. Gleichzeitig wird über die für die Probenahmen erforderlichen Raumlüftungs- und Heizungsbedingungen informiert.

In dem beanstandeten Raum sind aktive und passive Probenahmen als Schadstoffanreicherungsproben aus der Luft auf Adsorbiermaterial bzw. Absorptionslösungen sowie Entnahmen von Materialproben und Hausstaub möglich.

Nach entsprechender Probenvorbereitung bestehen Untersuchungsmöglichkeiten für folgende Substanzgruppen:

- flüchtige und schwerflüchtige organische Verbindungen wie z. B. Alkane, Aromaten, Aldehyde, Ketone, Alkohole, Ester, Terpene, chlororganische Verbindungen;
- anorganische Verbindungen (z. B. Kohlenmonoxid, Kohlendioxid);
- biozide Wirkstoffe in Hausstaubproben, die in dem jeweiligen Verdachtsraum gesammelt worden sind.

Ist eine Identifizierung von Quellen für Innenraumluftebelastungen notwendig, können ggf. Materialproben untersucht und mit den Ergebnissen der Raumlufteuntersuchungen verglichen werden.

Erstellung von Gutachten

Die Untersuchungsergebnisse und ihre gesundheitliche Bewertung werden in Gutachten dokumentiert.

Zur Bewertung der Untersuchungsergebnisse hinsichtlich möglicher gesundheitlicher Risiken werden Richtwerte der Innenraumlufthygiene-Kommission des Umweltbundesamtes sowie Durchschnittswerte aus verschiedenen Studien herangezogen.

10.2 Mikrobiologische Raumluftekontaminanten

Die betroffenen Räume werden besichtigt und ein Begehungsprotokoll wird erstellt. In dem Protokoll werden wichtige Angaben z. B. Temperatur und Feuchtigkeit im Raum, Nutzung des Raumes sowie gesundheitliche Beeinträchtigungen der Raumnutzer festgehalten.

10.2.1 Untersuchung durch Luftkeimsammlungen (Kurzzeitmessung)

In dem von sichtbarem oder verdecktem Schimmelpilzbefall betroffenen Raum bzw. Gebäude werden definierte Luftvolumina angesaugt und über geeignete Nährböden geleitet. Dabei gelangen luftgetragene Schimmelpilzsporen auf die Nährböden. Die Nährböden werden mehrere Tage bebrütet, um kultivierbare Schimmelpilzarten anzuzüchten. Dadurch ist sowohl die Ermittlung der Gesamtkoloniezahl als Berechnungsgrundlage für die Luftkeimbelastung pro Kubikmeter als auch eine Differenzierung der einzelnen vorhandenen Schimmelpilzarten möglich.

Die gleiche Untersuchung wird in der Außenluft in Gebäudenähe durchgeführt. Durch Vergleich beider Messergebnisse kann eine Schimmelpilzquelle im Innenraum festgestellt werden. Sie ist dann zu vermuten, wenn die Gesamtkoloniezahl der Schimmelpilze im Innenraum deutlich über der in der Außenluft liegt und/oder das ermittelte Artenspektrum im Innenraum deutlich von dem der Außenluft abweicht.

10.2.2 Untersuchung durch Oberflächenkontaktproben

Liegt sichtbarer Schimmelpilzbefall vor, werden ergänzend zu den Luftkeimsammlungen von dem befallenen Material wie z. B. Tapete, Putz oder Dämmmaterialien Oberflächenkontaktproben genommen. Das kann durch Abklatschproben, Tupferwischproben und Klebefilmpräparate erfolgen.

Oberflächenkontaktproben liefern Hinweise auf die eigentliche Lokalisation der Schimmelpilzquelle und ermöglichen durch Bestimmung der vorkommenden Schimmelpilzarten eine klare Abgrenzung des Artenspektrums im Innenraum von dem der Außenluft. Außerdem können Sporen mit geringem Flugvermögen erfasst werden, die der Luftkeimsammlung nur bedingt zugänglich sind. Bei einer Abklatschprobe wird ein geeignetes Nährmedium gegen die Befallsfläche gedrückt und nach Abschluss der Kultivierung ausgewertet.

Die Tupferwischprobenahme erfolgt durch Wischen mit einem sterilen Tupfer über die Befallsfläche. Sie bietet den Vorteil, dass das Material einer Probe auf mehreren verschiedenen Nährmedien angelegt werden kann. Damit kann den unterschiedlichen Wachstumsansprüchen verschiedener Schimmelpilzarten entsprochen werden. Das Klebefilmpräparat wird durch Überführen der Schimmelpilze von befallenem Material auf eine durchsichtige Klebefolie erhalten. Die Auswertung erfolgt mikroskopisch. Wird in dem Präparat Myzel (Pilzgeflecht) festgestellt, so ist das als Nachweis für Schimmelpilzwachstum auf dem beprobten Material zu werten.

10.2.3 Erstellung von Gutachten

Die Bewertung des erhobenen Befundes erfolgt entsprechend dem "Leitfaden zur Vorbeugung, Untersuchung, Bewertung und Sanierung von Schimmelpilzwachstum in Innenräumen" (Schimmelpilz-Leitfaden) des Umweltbundesamtes von 2002 unter Berücksichtigung aktualisierter Bewertungshilfen für Luftproben im Schimmelpilzsanierungs-Leitfaden von 2005. Schimmelpilze sind in der Lage allergische Reaktionen auszulösen und können im Einzelfall bei stark immunsupprimierten Patienten invasive Infektionen verursachen.

11. Krankenhaushygienische Untersuchungen

11.1 Allgemeines

Das Aufgabengebiet der Krankenhaushygiene umfasst hygienisch-mikrobiologische und hygienisch-messtechnische Überprüfungen zur Kontrolle von Reinigungs-, Desinfektions- und Sterilisationsverfahren bzw. -geräten für die Aufbereitung von Medizinprodukten, Untersuchungen von Medizinprodukten und Hygieneutensilien nach deren hygienischer Aufbereitung sowie Umgebungsuntersuchungen auf mikrobielle Kontamination bzw. Belastung von Arbeitsflächen, Geräten, Raumluft, Wasser und anderen hygienerelevanten Gegenständen.

Weiterhin werden bauliche, ausrüstungstechnische und raumluftechnische Maßnahmen zur Infektionsprophylaxe in Krankenhäusern (einschließlich Labore und Apotheken), Arztpraxen und vergleichbaren medizinischen Einrichtungen kontrolliert.

Hygienisch-mikrobiologische sowie hygienisch-messtechnische Untersuchungen erfolgen für Gesundheitsämter, andere Behörden und medizinische Einrichtungen, die sich an die Gesundheitsämter zur Bewertung und Abwehr von Infektionsgefahren wenden.

Mit den Untersuchungen ist eine entsprechende Begutachtung und Beratung zu dem jeweiligen krankenhaushygienischen Sachverhalt verbunden.

11.2 Überprüfung von Sterilisationsverfahren

11.2.1 Untersuchungsgegenstand

Überprüfung folgender Sterilisationsverfahren

- thermische Sterilisationsverfahren
 - Dampfsterilisation,
 - Heißluftsterilisation,
- Gassterilisationsverfahren
 - Niedertemperatur-Dampfverfahren mit Formaldehyd (NTDF).

11.2.2 Material und Methode

- biologische Methode
 - mit genormten Bio-Indikatoren zur mikrobiologischen Überprüfung,
- physikalische Methode
 - mit Datenloggern (Temperatur, Druck, Zeit) zur parametrischen Überprüfung.

Hinweise:

- Material wird durch das Fachgebiet Krankenhaushygiene bereitgestellt,
- Exposition der Bio-Indikatoren und/oder Datenlogger im freien Nutzraum des Sterilisators und an besonders schwierigen Stellen im Sterilisiergut (siehe einschlägige DIN),
- Anzahl der Bio-Indikatoren/Datenlogger in Abhängigkeit von Nutzraumgröße,
- zur Testung dürfen die Bio-Indikatoren nicht aus der Sterilverpackung genommen werden!
- unbehandelte Transportkontrolle bei Bio-Indikatoren als Referenz mitführen!
- Datenlogger sind in Abstimmung mit dem Anwender zeitlich zu programmieren!
- im Einzelfall kann eine Durchführung der Testung durch unser Personal erfolgen.

11.2.3 Transport

- auf dem Postweg bzw. per Kurier über Gesundheitsämter; ohne besondere Anforderungen

11.2.4 Auswertung der Untersuchung

- mittels Bio-Indikatoren
 - Nachweis der mikrobiologischen Wirksamkeit des jeweiligen Verfahrens (Sterilität),
 - Hinweis auf mögliche Beschickungsfehler,
 - Hinweis auf mögliche technische Gerätemängel,
- mittels Datenlogger
 - direkter Nachweis der verfahrensnotwendigen Parameter (auch F-Wert),
 - Hinweis auf Beschickungsfehler,

- Nachweis von Fehlern der Temperatur- bzw. Druckregelung des Sterilisators.

11.3 Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren

11.3.1 Untersuchungsgegenstand

Überprüfung folgender thermischer und chemisch-thermischer Desinfektionsverfahren

- in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) für Instrumente, Zubehör aus Anästhesie und Intensivmedizin, OP-Schuhe, Steckbecken, Endoskope,
- in Mehrtank- und Eintank-(stations-)Geschirrspülmaschinen für Geschirr aus Krankenhäusern und anderen medizinischen und Pflegeeinrichtungen,
- in Waschmaschinen für Wäsche aus Krankenhäusern und anderen medizinischen und Gemeinschaftseinrichtungen,
- in Dekontaminationsanlagen für Bettgestelle, Nachttische, Transportwagen, Entsorgungscontainer,
- in Dampf-Desinfektionsapparaten für Verfahren bei 75 °C bzw. 105 °C (Matratzenaufbereitung, Abfall-Dekontamination).

11.3.2 Material und Methode

- biologische Methode
 - mit Bio-Indikatoren für Dampf-Desinfektionsapparate,
 - mit Prüfkörpern (für RDG's, Geschirrspülmaschinen, Waschmaschinen, Endoskopwaschmaschinen, Dekontaminationsanlagen) zur mikrobiologischen Überprüfung der Verfahren,
- physikalische Verfahren
 - mit Datenloggern (Temperatur, ggf. Druck) zur parametrischen Überprüfung.

Hinweise:

- Bereitstellung der Bio-Indikatoren und Prüfkörper (jeweils in Set-Form für ein Programm) und der Datenlogger durch unser Labor,
- Exposition der Bio-Indikatoren/Prüfkörper und/oder Datenlogger zwischen dem Desinfektionsgut und an besonders schwierigen Stellen im Gerät/Apparat,
- Anzahl der Bio-Indikatoren/Prüfkörper/Datenlogger in Abhängigkeit von Nutzraumgröße
- keine Entnahme der Bio-Indikatoren (Dampf-Desinfektionsapparate) zur Testung aus den Glasröhrchen!
- aseptische Entnahme der behandelten offenen Prüfkörper und einzelne Verpackung in sterile Transportgefäße,
- unbehandelte Transportkontrolle(n) bei Bio-Indikatoren/Prüfkörpern als Referenz mitführen!
- Datenlogger sind in Abstimmung mit dem Anwender zeitlich zu programmieren!
- Im Einzelfall kann die Testung vor Ort durch unser Personal erfolgen.

11.3.3 Transport

- Bioindikatoren-Sets und Datenlogger auf dem Postweg ohne besondere Anforderungen, Prüfkörper-Sets und Datenlogger per Kurier über Gesundheitsämter,
- Prüfkörper gekühlt (Kühlbox) anliefern, Haltbarkeit vor Ort: drei Tage im Kühlschrank,
- nach erfolgter Testung sind die Prüfkörper auf schnellstem Wege gekühlt ins Prüflabor zur Auswertung zu schicken.

11.3.4 Auswertung der Untersuchung

- Bio-Indikatoren
 - Nachweis der mikrobiologischen Wirksamkeit des Verfahrens,
 - Hinweis auf mögliche Beladungsfehler,
 - Hinweis auf mögliche technische Defekte des Desinfektions-Apparates.
- Prüfkörper
 - Nachweis der mikrobiologischen Wirksamkeit des Verfahrens,
 - Hinweis auf Reinigungsleistung im getesteten Verfahren,

- Hinweis auf mögliche Beladungsfehler (Überladung, Spülschatten),
- Hinweis auf Fehlfunktionen des Gerätes (z.B. Unterdosierung von Reinigungs- bzw. Desinfektionsmitteln, technische Mängel).
- Datenlogger
 - direkter Nachweis der verfahrensnotwendigen Parameter bei thermischer Desinfektion,
 - A₀-Wert-Berechnung,
 - Hinweis auf Beschickungsfehler,
 - Hinweis auf Kalibrierfehler.

11.4 Krankenhaushygienische Umgebungsuntersuchungen

11.4.1 Untersuchungsgegenstand

- Keimnachweis von belebten und unbelebten Oberflächen:
 - Hände des Personals,
 - hygienerrelevante Flächen (Risikobereiche),
 - Flächen und Lumina aufbereiteter Instrumente (Endoskope),
- hygienisch-mikrobiologische Untersuchung von Wasser/Flüssigkeiten aus medizinischen Geräten:
 - aus Dialysegeräten,
 - aus wasserführenden Geräten (z.B. Beatmungsgeräte, Inhalatoren, Befeuchterwasser),
 - Spülflüssigkeiten aus Reinigungs- und Desinfektionsgeräten,
- hygienische Überprüfung der Raumluftreinheit.

11.4.2 Material und Methode

- Abklatschverfahren (z. B. mit Rodac-Platten), Abstriche, Abschwemmverfahren zum Keimnachweis von Oberflächen (qualitativer und/oder quantitativer Keimnachweis),
- Durchspülverfahren zum Keimnachweis aus Lumina von Geräten/Instrumenten,
- Membranfiltration zur Bearbeitung von Wasser- bzw. Flüssigkeitsproben aus medizinischen Geräten (quantitativer und qualitativer Keimnachweis),
- Gussplatten zur Ermittlung der Keimzahl in flüssigen Proben,
- Luftkeimmessung mittels
 - Luftkeimsammler (Impaktionsmethode, Membranfiltermethode),
 - Sedimentationsplatten.

Hinweise:

- Bereitstellung von geeignetem und ausreichendem Material (Anzahl der Rodac-Platten, Abstrichtupfer) sowie sterilen Probengefäßen in Abhängigkeit von der Fragestellung der beabsichtigten Untersuchung nach Absprache durch unser Labor,
- sorgfältige Entnahmetechnik, Verwendung steriler Probengefäße, eindeutige Kennzeichnung und ordnungsgemäßer Umgang mit dem Untersuchungsmaterial zur Vermeidung von Kontamination bzw. Probenverlust,
- ausreichend Probenmaterial in Abhängigkeit vom Untersuchungsgang entnehmen! (z.B. 100 oder 200 ml Probenflüssigkeit zur Membranfiltration),
- im Einzelfall Durchführung der Probenahme/Messung vor Ort durch unser Personal.

11.4.3 Transport

- Materialtransport zur Probenentnahme auf schnellstem Wege direkt zum Anwender bzw. per Kurier in gekühltem Zustand,
- Rücktransport des Untersuchungsmaterials in das Prüflabor in gekühltem Zustand unmittelbar nach der Probenahme.

11.4.4 Auswertung

Anhand von

- Richtlinien/Empfehlungen des Robert Koch-Institutes,
- Leitlinien von Fachgesellschaften (z.B. DGKH, VHD, Arbeitskreis für angewandte Hygiene in der Dialyse),

- Reinheitsklassen nach GMP und IMA-Index sowie
 - spezifischen Nutzeranforderungen und
 - Erfahrungswerten
- zum Nachweis der Wirksamkeit von Hygienemaßnahmen.

11.5 Hygienische Kontrolle von Gesundheitswäschereien

11.5.1 Gegenstand der Kontrolluntersuchungen

- Prüfung des Desinfektionswaschverfahrens auf Wirksamkeit,
 - Abtötung des Testkeims bei CTD-Waschverfahren,
 - Physikalische Prüfung des TD-Waschverfahrens,
- Keimnachweis von belebten und unbelebten Oberflächen,
 - Fertigwäsche sowie Arbeits-, Lager- und Transportflächen,
 - Hände des Personals (Händedesinfektion),
 - Containeroberfläche nach Reinigung und Desinfektion,
- Hygienisch-mikrobiologische Untersuchung des letzten Spülwassers,
- Hygienebegehung hinsichtlich räumlich-funktioneller Gestaltung.

11.5.2 Material und Methode

- biologische Methode
 - mit Prüfkörpern (Baumwollträger) zur mikrobiologischen Überprüfung der Verfahren,
 - mit Gussplatten zur Ermittlung der Keimzahl im letzten Spülwasser,
 - mit Anreicherungsverfahren zum Ausschluss von Indikatorkeimen (qualitativer Keimnachweis),
 - mit Abklatschverfahren (z. B. mit Rodac-Platten) von der sauberen Wäsche (quantitativer Keimnachweis),
- physikalische Methode
 - mit Datenloggern (Temperatur) zur parametrischen Überprüfung.

Hinweise:

- Bereitstellung der Prüfkörper (jeweils in Set-Form für ein Programm), ggf. der Datenlogger, der Abklatschplatten sowie der sterilen Transportgefäße und Flaschen durch unser Labor,
- Exposition der Prüfkörper und/oder Datenlogger in der Wäsche, aseptische Entnahme der behandelten offenen Prüfkörper und einzelne Verpackung in sterile Transportgefäße sowie aseptische Entnahme des letzten Spülwassers, unbehandelte Transportkontrolle für Prüfkörper als Referenz mitführen,
- Datenlogger sind in Abstimmung mit dem Anwender zeitlich zu programmieren,
- Durchführung der Wäschereikontrollen vor Ort durch unser Personal.

11.5.3 Transport

- nach erfolgter Untersuchung und Begehung werden die Prüfkörper, Wasserflaschen und Abklatschplatten sowie ggf. Datenlogger auf schnellstem Wege gekühlt durch unser Personal ins Prüflabor zur Auswertung transportiert.

11.5.4 Auswertung der Untersuchung

- Prüfkörper
 - Nachweis der mikrobiologischen Wirksamkeit des Verfahrens (Reduktionsfaktor- Bestimmung),
- Letztes Spülwasser
 - Koloniezahlbestimmung und Ausschluss von Indikatorkeimen (E. coli, Pseudomonas aeruginosa),
- Abklatschproben
 - Koloniezahlbestimmung und ggf. Ausschluss von Indikatorkeimen,
- Datenlogger
 - direkter Nachweis der Prozessparameter bei thermischer Desinfektion,
 - A₀-Wert-Berechnung,
 - Hinweis auf Beschickungsfehler,
 - Hinweis auf Kalibrierfehler.

Die Aus- und Bewertung der Untersuchungen erfolgt nach der **RKI-Richtlinie** sowie nach den zugehörigen Vorgaben von **Höller/Krüger/Martiny/Zschaler: Qualitätssicherung von Reinigungs- und Desinfektionsprozessen (Behr's Verlag)** in Form eines Gutachtens.

11.6 Hygienische Prüfungen von RL-Anlagen / med. Reinräumen

11.6.1 Untersuchungsgegenstand

Prüfung folgender Reinraumbereiche mit infektionsprophylaktischer Aufgabenstellung:

- OP-Räume,
- Intensivtherapieräume bzw. Isolierzimmer,
- Zentralsterilisation und
- mikrobiologische und pharmazeutische Laboratorien.

11.6.2 Material und Methode

Vor Ort erfolgen die Untersuchungen durch unser Personal, ggf. in Absprache mit dem Nutzer/Auftraggeber.

- Begehung der raumlufttechnisch versorgten Räume und der Lüftungszentrale,
- Prüfung der Luftreinheit anhand von Partikel- und/oder Keimzahlmessungen (Impaktions-, Membranfilter- und Sedimentationsverfahren),
- Prüfungen der mikrobiologischen Oberflächenreinheit mit Abklatsch- bzw. Tupferproben,
- Prüfung der Partikel- bzw. Keimelimination per Partikelabklinguntersuchungen,
- Prüfung der Luftströmungen im Raum sowie an Türöffnungen zu Umgebungsräumen per Visualisierung mittels Testnebel,
- ggf. Differenzdruckmessungen zwischen benachbarten Räumen sowie
- Raumklimamessungen.

Bei *TAV-Zuluftsystemen* erfolgt eine Untersuchung auf spezifische Parameter:

- Qualität des turbulenzarmen Reinfeldes per Partikel- und Turbulenzgradmessungen,
- Qualität des Abströmens und der Abschirmung sowie der Größe des turbulenzarmen Schutzbereiches,
- mikrobiologisches Monitoring (Sedimentations- und Impaktionsmethode) und
- Raumklimaparameter.

11.6.3 Auswertung der Untersuchungen

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgt in Form eines Gutachtens anhand von:

- zutreffenden Normen (z.B. DIN 1946/4, VDI 2083, DIN EN ISO 14644, VDI 6022),
- Richtlinien (RKI-Richtlinie, DGKH-Leitlinie, GMP-Leitfaden),
- Planungsgrundlagen und
- spezifischen Nutzeranforderungen.

Anlage 1

Liste viraler Erreger und möglicher Untersuchungen zum Nachweis von Infektionen

Erreger	Material	Methode
Adenoviren	Stuhl	Antigennachweis mittels EIA,
	Abstriche (Na, Ra, Au), Aspirate (Na, Ra, Au), Stuhl, (Rektalabstr.), Liquor, Gewebe	Virusisolierung, PCR
Astrovirus	Stuhl	Antigennachweis mittels EIA
Enteroviren	Stuhl, Liquor, Abstriche (Ra, Rektalabstr.), Aspirate (Ra), Gewebe	Virusisolierung, PCR
FSME-Virus	Serum	EIA (IgM-und IgG-Antikörper)
Hepatitis-A-Virus	Serum	EIA (IgM-und Gesamtantikörper)
Hepatitis-B-Virus	Serum	EIA (HBsAG, HBeAG, Anti-HBc, Anti-HBc-IgM, Anti-HBe, Anti-HBs, HBsAg-Bestätigungstest)
Hepatitis-C-Virus	Serum	EIA (Anti-HCV) Line-Immuno-Assay
Hepatitis-E-Virus	Serum	EIA (Anti-HEV) Line-Immuno-Assay
Herpes-simplex-Virus	Bläscheninhalt, Abstrich, Gewebe	Virusisolierung
HIV Typ 1 und 2	Serum	EIA (HIV-Antikörper/Antigen) Immunoblot
Influenzaviren	Abstriche (Na, Ra), Aspirate (Na, Ra), Liquor, Gewebe	Virusisolierung PCR
	Serum	EIA (IgA-Antikörper)
Masernvirus	Serum	EIA (IgM-und IgG-Antikörper)
Mumpsvirus	Serum	EIA (IgM-und IgG-Antikörper)
Noroviren	Stuhl (Erbrochenes)	PCR
Parainfluenzaviren	Abstriche (Na, Ra, Au), Aspirate (Na, Ra, Au), Liquor, Gewebe	Virusisolierung
Parvovirus B19	Serum	EIA (IgM-und IgG-Antikörper)
Respiratory-Syncytial-Virus	Abstriche (Na, Ra, Au), Aspirate (Na, Ra, Au), Liquor, Gewebe	Virusisolierung PCR
	Serum	HAHT (IgM-und IgG-Antikörper) Immunstatus
Rötelnvirus	Serum	EIA (IgM-und IgG-Antikörper)
Rotaviren	Stuhl	Antigennachweis mittels EIA

Au: Auge; Na: Nase; Ra: Rachen; Rektalabstr.: Rektalabstrich

EIA: Enzym-Immuno-Assay

PCR: Polymerasekettenreaktion

HAHT: Hämagglutinationshemmungstest

Anlage 2

Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Infektionen durch bakterielle und parasitologische Erreger

Erkrankung	Erreger	Material	Antikörperklassen	Untersuchungsmethoden
Borreliose	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	Se, Lq	IgG, IgM	EIA, Immunoblot
Ornithose, Psittakose	<i>Chlamydophila psittaci</i>	Se	IgG + IgM, IgG, IgM, IgA	KBR (gattungsspezifisch) MIF (speziesspezifisch)
Echinokokkose	<i>Echinococcus granulosus</i> <i>Echinococcus multilocularis</i>	Se	IgG + IgM IgG	IHA (gattungsspezifisch), EIA (<i>E. multilocularis</i>)
Gonorrhoe (Tripper)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Se	IgG + IgM	KBR
Keuchhusten (Pertussis)	<i>Bordetella pertussis</i>	Se	IgG, IgA	EIA
Legionellose (Legionärskrankheit)	<i>Legionella pneumophila</i> <i>Legionella species</i>	Se	IgG	IFT (<i>L. pneumophila</i> Serogruppe 1-14, <i>Leg. sp.</i>)
Leptospirose (z.B. M. Weil)	<i>Leptospira interrogans</i>	Se	IgG + IgM	KBR
Lues (Syphilis)	<i>Treponema pallidum</i>	Se, Lq	IgG + IgM IgM	TPPA, FTA-abs, Cardiolipin-Agglutinationsreaktion, IgM-EIA, IgM-Immunoblot
Q-Fieber	<i>Coxiella burnetii</i>	Se	IgG + IgM IgG, IgM	KBR (Phase I und Phase II-Antigen) EIA (Phase II Antigen)

Se: Serum; Lq: Liquor

EIA: Enzym-Immuno-Assay

KBR: Komplementbindungsreaktion

MIF: Mikro-Immunfluoreszenztest

IHA: Indirekte Hämagglutination

IFT: Immunfluoreszenztest

TPPA: *Treponema pallidum* Partikel Agglutinationstest

FTA-abs: Fluoreszenz-*Treponema*-Absorptionstest

Anlage 3

Versandbedingungen der wichtigsten Untersuchungsmaterialien

Material	Untersuchung auf				Transport		
	Bakterien	Viren	Protozoen	Pilze	Raumtemperatur 18 – 24 °C	gekühlt 2 - 8 °C	gefroren -20°C
Abstrich	X			X	X		
Abstrich		X				X	
Bronchiallavage (BAL)	X	X	X	X		X	
Blutkultur	X			X	X		
Bioplat	X			X	X		
Bioplat		X				X	
Liquor	X			X	X		
Liquor		X				X	
Nasen-Rachen- abstrich	X			X	X		
Punktat	X			X	X		
Punktat		X				X	
Quantiferon-Röhrchen	X (TB)				X	auf keinen Fall !!	
Serum zur Antikörperbestimmung	X	X	X			X	
Serum zur Toxinbestimmung	X					X	
Sputum	X	X	X	X		X	
Stuhl	X (Kultur)		X		X		
Stuhl	X (Toxin)	X				X	
Urin	X					X	
Wundabstrich	X			X	X		
Wundabstrich anaerob	X				X		
Lebensmittel	X					X	X
Tapete, Putz, Abstriche auf Schimmelpilze				X	X		
Trinkwasser	X			X		X	
Badewasser	X			X		X	
Bioindikatoren	X				X		
Prüfkörper	X					X	
Spülflüssigkeiten	X	X		X		X	
Dialysewässer	X			X		X	
Oberflächenabstriche	X			X		X	
Sedimentations- und Abklatschplatten	X			X		X	