



Präanalytik Handbuch

Inhaltsverzeichnis

1. Mikrobiologisches Untersuchungsmaterial	2
2. Anforderungsschein, Probengefäße und Untersuchungsauftrag	2
3. Mikrobiologische Methoden	3
4. Transport	3
5. Nachforderung von Untersuchungen	3
6. Methoden in der Primärisolierung	4
7. Hinweise zur Probengewinnung	4

1. Mikrobiologisches Untersuchungsmaterial

Der diagnostische Aussagewert eines mikrobiologischen Untersuchungsbefundes ist maßgeblich von der Beschaffenheit und Menge des abgenommenen Materials sowie der Anzahl der Proben abhängig. Eine sorgfältige Gewinnung des Untersuchungsmaterials ist wichtig und Voraussetzung für einen validen Befund.

Bei noch nicht gesicherter Diagnose und einfacher Probengewinnung sollten mindestens drei Sputumproben an drei verschiedenen Tagen für Mikroskopie und Kultur entnommen werden.

2. Anforderungsschein, Probengefäße und Untersuchungsauftrag

Alle Probengefäße und Einsendescheine müssen beschriftet werden. Leserliche, genaue und vollständige Übermittlung aller Daten auf den Probengefäßen und dem Anforderungsschein verringern das Risiko der Verwechslung und falscher Zuordnungen.

Der NRZ-Anforderungsschein steht auf der Internetseite zum Download und Ausfüllen zur Verfügung. Wenn Proben ohne NRZ-Anforderungsschein eingehen oder wichtige Informationen auf dem Einsendeschein fehlen, wird der Einsender informiert. Der NRZ-Anforderungsschein ist per Computer auszufüllen.

Die Probe kann ohne korrekt und vollständig ausgefüllten NRZ-Anforderungsschein nicht bearbeitet werden.

Der NRZ-Anforderungsschein enthält folgende Bereiche:

Patientendaten/Einsenderdaten: Hier bitte Nachname, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht und Anschrift des Patienten sowie die Anschrift, Fax/Telefon des Einsenders genau eintragen. Bitte teilen Sie uns auch mit, ob der Patient privat versichert ist und in diesem Zusammenhang, ob er ambulant oder stationär behandelt wird.

Diagnostisch relevante Angaben: Hier bitte die entsprechenden klinischen Angaben eintragen. Es ist unbedingt notwendig, Angaben über etwaige Vorbefunde, Verlaufskontrollen und Verdachtsdiagnosen (z. B. Verdacht auf *M. marinum* oder *M. genavense*), zu dokumentieren, da die Bearbeitung und Beurteilung der Ergebnisse unter Berücksichtigung der klinischen Angaben erfolgt!

Untersuchungsmaterial: Hier bitte unbedingt das Material benennen, da dies die Auswahl der Kulturbedingungen (Beschaffenheit des Nährbodens und Inkubationstemperatur) beeinflusst. Auch bei Zusendung von bereits bebrüteten Kulturen ist diese Information wichtig.

Untersuchungsauftrag: Für alle *Primärproben* (mit Ausnahmen von Urin, Stuhl, Blut, Knochenmark und nicht humanen Proben) erfolgt eine mikroskopische Untersuchung. Es werden zwei Festnährböden und ein Flüssignährboden angesetzt. Dies gilt auch für Proben, für die nur eine Untersuchung mittels Nukleinsäure-Amplifikations-Technik angefordert wurde.

Wenn *Resistenzbestimmungen* für *M. tuberculosis* angefordert werden, erfolgt eine genotypische und phänotypische Untersuchung, es sei denn, dies ist ausdrücklich nicht gewünscht. Eine Resistenzbestimmung wird für jedes *M. tuberculosis* Erstisolat durchgeführt, wenn diese mehr als 2 Monate zurückliegt oder wenn sie ausdrücklich angefordert wurde.

3. Mikrobiologische Methoden

Die Kultur ist z. Zt. immer noch die Methode mit der größten Sensitivität. Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken (NAT) haben bei mikroskopisch positiven Proben eine hohe Spezifität und Sensitivität für den Nachweis von Tuberkulose-Erregern. Die Sensitivität der NAT-Verfahren ist jedoch ungenügend für mikroskopisch negative Proben. Das gilt vor allem für paucibazilläre extrapulmonale Proben und Proben von Kindern. Deswegen sollte jede Probe kulturell untersucht werden. Die Teilung von Material für die Durchführung mehrerer Untersuchungen reduziert unter Umständen die Sensitivität der kulturellen Untersuchung, da dann weniger Material für die Einzeluntersuchungen zur Verfügung steht.

4. Transport

Die Transportdauer von der Entnahme bis zur Verarbeitung sollte so schnell wie möglich erfolgen. Können Proben nicht sofort weitergeleitet oder verarbeitet werden, sind sie bei 4 °C zu lagern.

Diagnostische Proben mit Verdacht auf Erreger der Risikogruppe 2 (z. B. nichttuberkulöse Mykobakterien) und Risikogruppe 3 (Tuberkulosebakterien) gehören zur Kategorie B, UN-Nr. 3373, offizielle Bezeichnung „Diagnostische Proben“. Sie sind nach der Verpackungsordnung P650 zu verpacken und damit gemäß ADR zum Versand zugelassen.

Kulturen für diagnostische Zwecke sind in der Regel aus diagnostischen Proben isolierte Mikroorganismen, die in geringen Mengen zum Zwecke weiterer Diagnostik in geeigneter Form (z.B. Flüssig- oder Schrägagarkultur) befördert werden. Die eingesandte Kultur muss mit einem Schraubdeckel versehen sein. Entsprechend hergestellte Subkulturen gehören auch zur Kategorie B, UN-Nr. 3373, offizielle Bezeichnung „Diagnostische Proben“.

5. Nachforderung von Untersuchungen

Nachforderungen von Untersuchungsanforderungen nach Eintreffen der Probe und des Untersuchungsantrages im Labor sind grundsätzlich möglich.

Bitte setzen Sie sich hierzu telefonisch mit dem Sekretariat (Tel. +49 (0)4537-188-2110) in Verbindung.

Vorhandenes Restmaterial von Primärproben wird 6 Wochen bei -20 °C im Labor aufbewahrt und steht somit für Nachforderungen zur Verfügung. Bewachsene Kulturen werden für 4 Monate bei Raumtemperatur aufbewahrt.

6. Methoden in der Primärisolierung

Methode	Erläuterungen
Kultur	<ul style="list-style-type: none"> Nachweisgrenze: 10–100 KBE/ml Probenmaterial Erfasst Tuberkulose-Erreger (<i>M. tuberculosis</i>-Komplex) und Mykobakteriose-Erreger (nicht-tuberkulöse Mykobakterien, NTM). Manche Erreger z. B. <i>M. genavense</i> und <i>M. haemophilum</i> haben spezielle Wachstumsanforderungen und sind schwierig nachzuweisen Voraussetzung für eine nachfolgende Resistenzbestimmung
Mikroskopie	<ul style="list-style-type: none"> Limitierte Sensitivität, Nachweisgrenze: ca. 10⁴ KBE/ml Probenmaterial mit hoher Spezifität (>95%) Erkennung isolierungsbedürftiger hochinfektöser Fälle („offene Tuberkulose“) Erfasst Mykobakterien ohne nähere Spezifizierung als „säurefeste Stäbchen“ Erlaubt keine Aussage über die Vermehrungsfähigkeit nachgewiesener Mykobakterien Ungeeignet bei Materialien mit nichttuberkulösen Mykobakterien in der Standortflora (Urin, Ejakulat)
Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken (NAT) für <i>M. tuberculosis</i> -Komplex z. B	<ul style="list-style-type: none"> Hohe Spezifität bei mikroskopisch positiven, geringe Sensitivität bei mikroskopisch negativen Proben Nachweisgrenze ca. 10² KBE/ml Probenmaterial Ungeeignet zum Screening oder zur Ausschlussdiagnostik einer Tuberkuloseerkrankung, deshalb sollte parallel immer eine Kultur und ggf. Mikroskopie durchgeführt werden

7. Hinweise zur Probengewinnung

unsterile Proben	Volumen	Hinweise zu Gewinnung und Zusätzen
Sputum	möglichst 2(-5) ml	<ul style="list-style-type: none"> möglichst Morgensputum ohne vorherige Mundpflege, Abhusten aus den tiefen Atemwegen Kontamination durch Speichel vermeiden kein Sammelsputum (nicht länger als 1 Stunde sammeln) wenn kein Sputum abgehustet werden kann: <ul style="list-style-type: none"> – ggf. Sputuminduktion durch 5-10%ige NaCl-Inhalation <p>CAVE: Infektionsgefahr für das Personal durch Aerosole</p> <ul style="list-style-type: none"> – Bronchoskopie (bei Erwachsenen) – Magennüchternsekret/-spülwasser bei Kindern
Bronchialsekret	möglichst 2-5 ml	<ul style="list-style-type: none"> bronchoskopisch zu gewinnen! bei Anwendung von lokal wirksamen Anästhetika: wegen der möglichen bakteriziden Wirksamkeit kann das Untersuchungsergebnis verfälscht werden
Bronchiallavage	20-30 ml	<ul style="list-style-type: none"> möglichst gezielt das betroffene Segment lavagieren, Recovery-Flüssigkeit ohne weitere Behandlung auffangen
Geschützte Bürste		<ul style="list-style-type: none"> wegen der Gefahr der Austrocknung etwa 1-2 ml sterile physiologische Kochsalzlösung zusetzen

unsterile Proben	Volumen	Hinweise zu Gewinnung und Zusätzen
Magennüchternsekret und Magenspülwasser	2-5 ml Magennüchternsekret 20-30 ml Magenspülwasser	<ul style="list-style-type: none"> • bei kleinen Kindern: Magennüchternsekret oder Magenspülwasser entnehmen, bei älteren Kindern und Erwachsenen: Sputum oder bronchoskopisch gewonnene Proben vorziehen • Proben durch den Zusatz von Phosphatsalzen neutralisieren; Zusendung präparierter Röhrchen durch das NRZ auf Anfrage
Urin	mindestens 30 ml	<ul style="list-style-type: none"> • vorzugsweise Morgenurin nach Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr am Vorabend („Konzentrationsharn“) • kein Mittelstrahl-/Spontanurin, nicht aus Urinauffangbeuteln (Ausnahme: Säuglinge und Kleinkinder; Einmalklebebeutel) • Entnahme unter Vermeidung von mikrobiellen Verunreinigungen
Menstrualblut	möglichst 2 ml	<ul style="list-style-type: none"> • gynäkologisch gewinnen, etwa zu gleichen Teilen mit sterilem Wasser versetzen
Sperma, Prostatasekret	möglichst > 2 ml	<ul style="list-style-type: none"> • in sterilen Behältnissen auffangen und ohne Zusatz versenden.
Stuhl	ca. 1 bis 2 g bzw. Stuhlröhrchen zu etwa ¼ gefüllt	<ul style="list-style-type: none"> • Stuhl ohne Zusätze, Untersuchung nur bei Patienten mit zellulärem Immundefekt; bei Verdacht auf eine Darmtuberkulose endoskopisch gewonnene Biopsien einsenden
Abstrichtupfer	ungeeignet	<ul style="list-style-type: none"> • von unsterilem Material grundsätzlich nicht geeignet
sterile Proben	Volumen	Hinweise zu Gewinnung und Zusätzen
Blut	mindestens 5 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Vollblut mit Antikoagulantienzusatz (Citrat oder Heparin, kein EDTA) • keine beimpften Blutkultur-/Flüssigkulturflaschen
Knochenmarkbiopate und -aspirate	möglichst 5 ml	<ul style="list-style-type: none"> • wie Blutproben zu behandeln
Gewebe, Biopsien	möglichst große Volumina	<ul style="list-style-type: none"> • durch sterile, physiologische Kochsalzlösung gegen Austrocknung schützen; keine Formalinzugabe
Eiter, Abszessaspirat	möglichst > 1 ml	<ul style="list-style-type: none"> • mit steriler Nadel und Spritze aus Abszess aspirieren und in steriles Röhrchen ohne Zusätze überführen
Körperflüssigkeiten	3-10 ml 30-50 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Liquor (je nach Umfang der Untersuchungsanforderungen ggf. mehr) • Pleura-, Perikard-, Peritonealflüssigkeit oder -dialysat; Synovialflüssigkeit • große Probenmengen erforderlich, da Proben paucibacillär (auch im positiven Fall sehr keimarm)
Abstrichtupfer	ggf. mehrere Tupfer	<ul style="list-style-type: none"> • im Regelfall wegen der geringen Materialmenge nicht geeignet, wenn unvermeidbar, mit mehreren sterilen Tupfern Material aufnehmen und in steriles Röhrchen mit 1-2 ml physiologischer Kochsalzlösung geben, nicht in agarhaltiges Transportmedium