

- ❖ Blut (Blutkulturen) Version v. 20.06.2018
- ❖ ISOLATOR-Blutkultursystem
- ❖ Blutausstriche, dicker Tropfen
- ❖ Nativblut (EDTA-Blut)
- ❖ Knochenmarkaspirat

Blut (Blutkulturen)

Version v. 20.06.2018

Definition	<p>Eine Blutkultur (BK) ist definiert als das Blutvolumen, das bei einer Venenpunktion gewonnen wird, unabhängig davon, in wieviele Flaschen es inokuliert wird.</p> <p>Das BacT/ALERT-System ist ein teilautomatisiertes BK-System. Die BK-Flaschen werden nach Beimpfung mit Blut im Labor in einem Analyseautomaten bebrütet. Die Vermehrung von Mikroorganismen wird durch den Anstieg der CO₂-Konzentration in der Flasche detektiert.</p>
Indikation	<ol style="list-style-type: none"> 1. V. a. Bakteriämie, Fungämie, Sepsis, septischer Schock, Endokarditis, Fieber unklarer Genese 2. Blutkulturen sollten bei V. a. folgende Erkrankungen zusätzlich zu den angegebenen Untersuchungsmaterialien entnommen werden: Meningitis (Liquor), schwere Pneumonie (resp. Material), Pyelonephritis (Urin), Osteomyelitis, eitrige Arthritis, Epiglottitis, Omphalitis, viszeraler Abszess, schwere Haut- u. Weichteilinfektion (Abstrich, Punktate). 3. Unter antibiotischer Therapie entnommene Blutkulturen sind sinnvoll, z. B. bei Erregerwechsel oder Fungämie. 4. V. a. Katheter-assoziierte Infektion: „Differential time to positivity“
Probengefäß	<p>BacT/ALERT® FA (hellgrün) zur Anzucht und qualitativen Bestimmung von aeroben u. fakultativ anaeroben Mikroorganismen (Bakterien, Pilze)</p> <p>BacT/ALERT® FN (orange) zur Anzucht und qualitativen Bestimmung von anaeroben Bakterien</p>
Materialentnahme	<p><u>1.) Entnahmezeitpunkt:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • vor Beginn der antibiotischen Therapie • unmittelbar bei Auftreten der klinischen Symptomatik: im Fieberanstieg, bei Schüttelfrost • bei Blutentnahme unter Antibiose, die BK am Ende des Dosierintervalls entnehmen (niedrigste Serumkonzentration des Antibiotikums) • bei V. a. Endokarditis unabhängig vom Fieverlauf (kontinuierliche Bakteriämie) <p><u>2.) Untersuchungsauftrag: obligate Angaben:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Patientendaten • Einsender • Datum + Uhrzeit der BK-Abnahme • Entnahme-Ort (z. B. periphere Vene)

<p>Änderungshinweis 20.06.2018: Einführung des Blutkulturadapters von Sarstedt</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Verdachtsdiagnose • Unterschrift der anordnenden Person <p><u>3.) Vorbereitung der BK-Flaschen</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • BK-Flaschen mit Patientendaten (Etikett) versehen; Nicht den Flaschen-Barcode überkleben!! • BK-Flaschen mit Datum + Uhrzeit der Blutabnahme versehen • Nie den Flaschen-Barcode überkleben oder beschriften!! • Flaschen sollen Raumtemperatur haben • Plastikkappen entfernen • Gummistopfen der Blutkulturflaschen desinfizieren <p><u>4.) Patientenvorbereitung:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • hygienische Händedesinfektion des Abnehmenden • Punktionsstelle mit Hautdesinfektionsmittel reinigen • Hautpunktionsstelle desinfizieren (60 Sek. bzw. bis zur vollständigen Trocknung des Alkohols) • Punktionsstelle danach nicht mehr berühren <p><u>5.) Blutabnahme</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Punktion einer peripheren Vene mit Blutkulturadapter (Sarstedt). Mit dem Adapter wird zunächst die aerobe Flasche und dann die anaerobe Flasche befüllt! • Achtung in der BK-Flasche besteht Unterdruck • Bei V. a. Katheter-assoziierte Infektion: Punktion einer peripheren Vene <u>und</u> parallel dazu Entnahme von Blut aus dem zentralen Katheter.
<p>Materialmenge</p>	<ul style="list-style-type: none"> • pro BK-Diagnostik mindestens 20 ml Blut abnehmen (jeweils 10 ml pro BK-Flasche) • Pädiatrische BK-Flaschen mit 0,5 bis max. 4 ml Blut befüllen • Belüftung der aeroben Flaschen nicht erforderlich! • Anzahl der BK: 2 bis 4 BK sind sinnvoll <p>Ist eine unmittelbare antibiotische Therapie erforderlich (z. B. akute Endokarditis, FUO bei Neutropenie, Sepsis) 2 -3 durch separate Venenpunktionen gewonnene BK vor der empirischen Antibiose entnehmen</p> <p>In weniger dringenden Fällen 2 - 4 BK innerhalb von 24h vor Antibiose entnehmen</p>
<p>Materialversand</p>	<p>BK bei Raumtemperatur innerhalb von 2 - 4 Stunden ins Labor schicken.</p> <p>Ist ein umgehender Versand an das Labor nicht möglich (z. B. bei nächtlicher Entnahme), BK bei Raumtemperatur bis zum nächsten Tag lagern. BK müssen nach Abnahme spätestens innerhalb von 12 -16 h zur Weiterverarbeitung im Labor eintreffen! Zur Bestimmung der „Differential time to positivity“ bei V. a. Katheter-assoziierte Infektion darf die Transportzeit 12 h nicht überschreiten.</p> <p>Entgegen früherer Empfehlungen sollten Blutkulturflaschen NICHT bebrütet werden..</p>
<p>Angeforderte Untersuchung</p>	<p>Pathogene Keime (beinhaltet bei BK auch die Untersuchung auf Pilze)</p>
<p>Erweiterung der Diagnostik bei</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Katheter-assoziierte Infektion: „Differential time to positivity“: Bestimmung der Zeitspanne bis zum Positiv-

Verdacht auf: (Verdachtsdiagnosen unbedingt angeben!)	<p>werden bei nicht vorbebrüteten zeitgleich entnommenen peripheren und zentralen Blutkulturen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Endokarditis • Infektionen mit Erregern, deren Wachstum in BK-Flaschen gehemmt wird (Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis, Gardnerella vaginalis, Peptostreptococcus anaerobius, Mycoplasmen) • Brucellose (Infektionsgefahr für das Personal!) • Mykobakterien: Entnahme von Isolator-Blutkulturen (siehe ISOLATOR-Blutkultursystem) • dimorphe Pilze (außereuropäische Systemmykose): Entnahme von Isolator-Blutkulturen (siehe ISOLATOR-Blutkultursystem) • nicht / schwer anzüchtbare Erreger: zusätzlich EDTA-Blut für PCR (Ehrlichien, Leptospiren, Toxoplasma, Bartonella)
Dauer der Bearbeitung	<p>Die Gesamtbrütungsdauer beträgt 7 Tage. Bei ausbleibendem Erregerwachstum wird nach 5 Tagen ein negativer Befund erstellt.</p> <p>Positive Blutkulturen werden dem Einsender sofort telefonisch mitgeteilt und das mikroskopische Präparat in Medoc publiziert. Eine orientierende Resistenztestung ist spätestens 24h nach Positivwerden der BK über Medoc abrufbar.</p>
Häufigkeit der Durchführung	<p>Täglich</p>
Hinweise zur Bewertung	<ul style="list-style-type: none"> • Da die Mikroorganismen in der BK-Flasche vermehrt werden, ist eine Aussage über die initiale Erregermenge nicht möglich. Es erfolgt immer eine Anreicherung über das Flüssigkulturmedium in der Flasche • Die Mehrzahl der BK wird innerhalb der ersten 24 h positiv. Isolate aus Blutkulturen gelten grundsätzlich als relevant. Frühe Keimnachweise und Nachweise in mehreren Blutkulturen sprechen für einen relevanten Keim. Abnahmebedingte Kontaminationen durch Hautflora (Propionibakterien, koagulase-negative Staphylokokken) kommen vor. Bei einer Detektionszeit von > 96 h und dem Nachweis von koagulase-negativen Staphylokokken, Coryne- bzw. Propionbakterien handelt es sich in der Regel um Kontaminationen. Bei sachgemäßer Desinfektion beträgt die Kontaminationsrate 2 - 3 % der BK. • Katheter-assoziierte Infektion: Bestimmung der „Differential time to positivity“: Bei Vorliegen einer Katheterinfektion wird die über den zentralen Katheter gewonnene BK aufgrund der hier größeren Bakteriendichte früher positiv als die aus der peripheren Vene entnommene BK. Bei <u>nicht vorbebrüteten</u> zeitgleich entnommenen Blutkulturen weist ein Vorsprung von zentraler vs. peripherer Kultur (> 120 min) auf das Vorliegen einer Katheter-Infektion hinweisen (vgl. Ann Intern Med. 2004;140:18-25).
Besonderheiten	<p>-</p>

ISOLATOR-Blutkultursystem

Definition	<p>Das ISOLATOR-Blutkultursystem (ISO-BK) enthält kein Kulturmedium, es dient als Transportsystem. Die in der Blutprobe enthaltenen Mikroorganismen werden im Labor durch Zentrifugation konzentriert und das Konzentrat auf Nährmedien ausgeimpft. Dadurch ist eine quantitative Aussage über den Grad der Bakteriämie (Angabe Erregerzahl = Kolonie-bildende Einheiten KBE pro ml) möglich.</p>
Indikation	<ol style="list-style-type: none"> 1. V. a. Katheter-assoziierte Infektion: Zeitgleiche Entnahme von ISO-BK über den zentralen Venenkatheter und über eine periphere Vene 2. V. a. Infektion mit dimorphen Pilzen, Mykobakterien, Bartonellen, Legionellen, anspruchsvolle Anaerobier 3. V. a. polymikrobielle Infektion
Probengefäß	<ul style="list-style-type: none"> • DuPont Isolator 10 - Röhrrchen • DuPont Isolator 1.5 - Röhrrchen für Säuglinge und Kleinkinder
Materialentnahme	<ol style="list-style-type: none"> 1.) <u>Entnahmezeitpunkt:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vor Beginn der antibiotischen Therapie • unmittelbar bei Auftreten der klinischen Symptomatik: im Fieberanstieg, bei Schüttelfrost • bei Blutentnahme unter Antibiose, die ISO-BK am Ende des Dosierintervalls entnehmen (niedrigste Serumkonzentration des Antibiotikums) • bei V. a. Endokarditis unabhängig vom Fieverlauf (kontinuierliche Bakteriämie) 2.) <u>Untersuchungsauftrag: obligate Angaben:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Patientendaten • Einsender • Datum + Uhrzeit der ISO-BK-Abnahme • Entnahme-Ort (z. B. periphere Vene) • Verdachtsdiagnose • Unterschrift der anordnenden Person 3.) <u>Vorbereitung der ISO-BK-Röhrrchen</u> <ul style="list-style-type: none"> • ISO-BK-Röhrrchen mit Patientendaten (Etikett) versehen; • ISO-BK-Röhrrchen mit Datum + Uhrzeit der Blutabnahme versehen • ISO-BK-Röhrrchen sollen Raumtemperatur haben • Gummistopfen der ISO-BK-Röhrrchen desinfizieren 4.) <u>Patientenvorbereitung:</u> <ul style="list-style-type: none"> • hygienische Händedesinfektion des Abnehmenden • Punktionsstelle mit Hautdesinfektionsmittel reinigen • Hautpunktionsstelle desinfizieren (60 Sek. bzw. bis zur vollständigen Trocknung des Alkohols) • Punktionsstelle danach nicht mehr berühren 5.) <u>Blutabnahme mit Einmalhandschuhen</u> <ul style="list-style-type: none"> • Punktion einer peripheren Vene • Bei V. a. Katheter-assoziierte Infektion: Punktion einer peripheren Vene <u>und</u> parallel dazu Entnahme von Blut aus

	<p>dem zentralen Katheter.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ein Wechseln der Nadel zwischen Entnahme der Blutkultur und Inokulation der ISO-BK-Röhrchen wird kontrovers diskutiert.
Materialmenge	<ul style="list-style-type: none"> • pro ISO-BK-Röhrchen (DuPont Isolator 10 - Röhrchen) 10 ml Blut abnehmen und Röhrchen damit beimpfen. DuPont Isolator 1.5 - Röhrchen für Säuglinge und Kleinkinder werden mit 1,5 ml Blut beimpft.
Materialversand	<p>Die Weiterverarbeitung des ISO-BK-Systems im Labor ist sehr aufwändig und erfolgt nur nach telefonischer Vorankündigung.</p> <p>ISO-BK-Röhrchen bei Raumtemperatur innerhalb von 4 h ins Labor schicken. Die ISO-BK-Röhrchen müssen innerhalb von 8 h nach Abnahme im Labor weiterverarbeitet werden, da sonst die Erregernachweisrate abnimmt.</p>
Angeforderte Untersuchung	Pathogene Keime
Bei gezieltem Verdacht zus. Untersuchung auf (Verdachtsdiagnosen unbedingt angeben!)	<ul style="list-style-type: none"> • Pilze (Hefepilze, Fadenpilze) • dimorphe Pilze (außereuropäische Systemmykosen) • Mykobakterien • Infektionen mit anspruchsvollen Erregern: Bartonellen, Legionellen, anspruchsvolle Anaerobier
Dauer der Bearbeitung	<p>Die Gesamtbrütungsdauer beträgt</p> <ul style="list-style-type: none"> • für pathogene Keime, anspruchsvolle Anaerobier 5 Tage • bei V. a. Legionellen 10 Tage • bei V. a. Pilze 10 Tage • bei V. a. dimorphe Pize 42 Tage • bei V. a. Mykobakterien 6 Wochen <p>Bei ausbleibendem Erregerwachstum wird nach 5 Tagen ein negativer Befund erstellt.</p> <p>Positive Blutkulturen werden dem Einsender sofort telefonisch mitgeteilt und das mikroskopische Präparat in Medoc publiziert. Eine orientierende Resistenztestung ist spätestens 24h nach Positivwerden der BK über Medoc abrufbar.</p>
Häufigkeit der Durchführung	Mo - Fr (nach telefonischer Vorankündigung)
Hinweise zur Bewertung	<ul style="list-style-type: none"> • Die Mehrzahl der BK wird innerhalb der ersten 24 h positiv. Isolate aus Blutkulturen gelten grundsätzlich als relevant. Nachweise in mehreren Blutkulturen sprechen für einen relevanten Keim. Abnahmebedingte Kontaminationen durch Hautflora (Propionibakterien, koagulase-negative Staphylokokken) kommen vor. • Katheter-assoziierte Infektion: Ist die detektierte Erregerkonzentration (KBE pro ml Blut) im zentral entnommenen Blut 5 bis 10 fach höher als im peripher entnommenen Blut weist dies auf das Vorliegen einer Katheter-Infektion hin
Besonderheiten	-

Blutausstriche, dicker Tropfen

Indikation	<u>V. a. Parasiten im Blut:</u> 1. Malaria 2. Leishmaniose 3. Filariose 4. Babesiose 5. afrikanische Schlafkrankheit 6. Chagas-Krankheit
Materialentnahme	<u>Natives Kapillarblut (Ohrläppchen, Fingerbeere)</u> <ul style="list-style-type: none"> • Herstellen von 3 - 4 Blutausstrichen <ul style="list-style-type: none"> - Ausstriche 5 min. lufttrocknen lassen - Fixierung in 100% Methanol 1 min. (die Ausstriche können auch unfixiert ins Labor gesandt werden) • Dicker Tropfen: <ul style="list-style-type: none"> - einen Tropfen Blut auf einem Objektträger 10 sec mit der Kante eines Objektträgers auf einer Fläche von ca. 1,5 cm Kantenlänge verrühren - anschließend bei Zimmertemperatur (20°C) waagrecht mind. 20 min. trocknen lassen - Das Präparat wird <u>unfixiert</u> im Labor nach Giemsa gefärbt! • Ggf. zusätzlich EDTA-Blut einsenden
Materialversand	Präparate zur direkten Färbung + Mikroskopie auf Parasiten bitte telefonisch ankündigen! Objektträger in bruchsicherer Verpackung umgehend ins Labor schicken.
Angeforderte Untersuchung	Mikroskopie (Giemsa-Färbung)
Parasiten, die nachgewiesen werden können: (Verdachtsdiagnosen unbedingt angeben!)	<ul style="list-style-type: none"> • Plasmodien (P. falciparum, P. ovale, P. vivax, P. malariae) • Leishmanien • Babesien (B. divergens, B. microti) • Trypanosomen (T. brucei, T. cruzi)
Dauer der Bearbeitung	Ca. 1 bis 2 Stunden
Häufigkeit der Durchführung	Mo - So (nach telefonischer Vorankündigung)
Hinweise zur Bewertung	Jeder Nachweis ist signifikant
Besonderheiten	-

Nativblut (EDTA-Blut)

Indikation	V. a. Leptospirose, Ehrlichiose, Bartonellose, Babesiose, Toxoplasmose (beim Immunsupprimierten), Leishmaniose
Angeforderte Untersuchung + Probengefäß + Materialmenge	Molekularbiologische Untersuchung (PCR): <ul style="list-style-type: none"> • Bartonellen • Ehrlichien / Anaplasma • Leishmanien • Leptospiren • Toxoplasmen • Babesien
Materialmenge	<ul style="list-style-type: none"> • 5 ml EDTA-Blut
Materialversand	<ul style="list-style-type: none"> • EDTA-Blut innerhalb von 2 - 4 h ins Labor schicken. Ist ein umgehender Versand an das Labor nicht möglich (z. B. bei nächtlicher Entnahme), EDTA bei 2 - 8°C bis zum nächsten Tag lager
Dauer der Bearbeitung	<ul style="list-style-type: none"> • PCR: siehe Untersuchungsspektrum
Häufigkeit der Durchführung	<ul style="list-style-type: none"> • PCR: siehe Untersuchungsspektrum
Hinweise zur Bewertung	Der DNA-Nachweis muss durch weiter Untersuchungsverfahren, wie z. B. Serologie ergänzt werden
Besonderheiten	-

Knochenmarkspirat

Indikation	V. a. Brucellose, Mykobakteriose, Leishmaniose, Ehrlichiose, dimorphe Pilze
Angeforderte Untersuchung + Probengefäß + Materialmenge	<ul style="list-style-type: none"> • pathogene Keime (z. B. Brucellen): Kultur: - Blutkulturflaschen mind. 2 ml Knochenmark pro Blutkulturflasche (BacT/ALERT® FA (hellgrün) zur Anzüchtung und qualitativen Bestimmung von aeroben u. fakultativ anaeroben Mikroorganismen (Bakterien, Pilze) und BacT/ALERT® FN (orange) zur Anzüchtung und qualitativen Bestimmung von anaeroben Bakterien) - Blutisolatorröhrchen (ISO-BK-Röhrchen): 10 ml Knochenmark in Blutisolatorröhrchen • Mykobakterien: Mikroskopie (Auramin-Rhodamin-, Ziehl-Neelsen-Färbung): 2 Knochenmarkausstriche (Objekträger in bruchsfester Verpackung) Kultur: 10 ml Knochenmark in Blutisolatorröhrchen (ISO-BK-Röhrchen) PCR: 500 µl Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA) • Leishmanien: Mikroskopie (Giemsa-Färbung): 2 Knochenmarkausstriche (Objekträger in bruchsfester Verpackung) Kultur: mind. 2 ml Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA) Wichtig: Aktuell wird die Leishmanienkultur am Institut nicht durchgeführt. Bitte senden Sie das Untersuchungsmaterial an das Mikrobiologische Institut des Universitätsklinikums Erlangen. Der aktuelle Einsendeschein sowie weitere Informationen sind über http://www.klimi.med.uni-erlangen.de/DIAGNOSTIK/DIAGNOSTIK.htm abrufbar. PCR: 500 µl Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA) • Anaplasma (Erreger der humanen Ehrlichiosen): Mikroskopie (Giemsa-Färbung): 2 Knochenmarkausstriche (Objekträger in bruchsfester Verpackung) Kultur: bitte Rücksprache mit Frau Dr. F. von Loewenich PCR: 500 µl Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA) • Dimorphe Pilze (Erreger der außereuropäischen Systemmykosen): Mikroskopie (Giemsa-Färbung): 2 Knochenmarkausstriche (Objekträger in bruchsfester Verpackung) Kultur: 10 ml Knochenmark in Blutisolatorröhrchen (ISO-BK-Röhrchen) PCR: 500 µl Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA)

	<ul style="list-style-type: none"> • Bartonella henselae (Erreger der Katzenkratzkrankheit): Kultur: 10 ml Knochenmark in Blutisolatorröhrchen (ISO-BK-Röhrchen) PCR: 500 µl Knochenmark (steriles Röhrchen, Antikoagulation mit EDTA)
Materialversand	<ul style="list-style-type: none"> • BK bei Raumtemperatur innerhalb von 2 - 4 h ins Labor schicken. Ist ein umgehender Versand an das Labor nicht möglich (z. B. bei nächtlicher Entnahme), BK bei Raumtemperatur bis zum nächsten Tag lagern. BK müssen nach Abnahme spätestens innerhalb von 12 -16 h zur Weiterverarbeitung im Labor eintreffen! • Objektträger in bruchsfester Verpackung umgehend ins Labor schicken. • Knochenmark nach Antikoagulation mit EDTA innerhalb von 2 - 4 h ins Labor schicken. Ist ein umgehender Versand an das Labor nicht möglich (z. B. bei nächtlicher Entnahme), Knochenmark bei 2 - 8°C bis zum nächsten Tag lagern • ISO-BK-Röhrchen bei Raumtemperatur innerhalb von 4 h ins Labor schicken. Die ISO-BK-Röhrchen müssen innerhalb von 8 h nach Abnahme im Labor weiterverarbeitet werden, da sonst die Erregernachweisrate abnimmt.
Dauer der Bearbeitung	<ul style="list-style-type: none"> • Knochenmark in Blutkulturflaschen: Die Gesamtbrütungs-dauer beträgt 7 Tage. Bei ausbleibendem Erregerwachstum wird nach 5 Tagen ein negativer Befund erstellt. Positive Blutkulturen werden dem Einsender sofort telefonisch mitgeteilt und das mikroskopische Präparat in Medoc publiziert. • Mikroskopie: ca. 1 bis 2 h • Kulturen aus Blutisolatorröhrchen auf pathogene Keime (Bartonellen, Brucellen): Bebrütungsdauer 21 Tage (bei ausbleibendem Erregerwachstum wird nach 5 Tagen ein negativer Befund erstellt). • Kulturen aus Blutisolatorröhrchen auf Mykobakterien: Bebrütungsdauer 8 Wochen (bei ausbleibendem Erregerwachstum wird nach Wochen ein negativer Befund erstellt). • PCR: siehe Untersuchungsspektrum
Häufigkeit der Durchführung	<p>Kulturverfahren täglich (Kulturen aus Blutisolatoren nach telefonischer Vorankündigung) Mikroskopie: täglich (nach telefonischer Vorankündigung) PCR: siehe Untersuchungsspektrum</p>
Hinweise zur Bewertung	Jeder Nachweis ist signifikant
Besonderheiten	-