



Korrekte Probenentnahme und mikrobiologische Diagnostik

6. Balgrist Symposium zum Diabetischen Fuss: Infektionen

26./27. November 2015



Aufgabe der Medizinischen Mikrobiologie

- Nachweis von Infektionserregern in Patientenmaterial gemäss klinischen Angaben
- **Unterscheidung von Erreger und Besiedler**
- Identifizierung und Resistenzprüfung
- Bericht an Arzt mit Interpretationshilfen



Probenentnahme bei chronischen Wunden

- Abstriche von der Tiefe des Ulcus (Ulcus Boden) entnehmen
- Wenn notwendig Säuberung und Entfernung von nekrotischem Material
- Punktion falls Flüssigkeit, Eiter oder Abszess vorhanden
- Gewebebiopsie
- Knochenbiopsie bei Verdacht auf Osteomyelitis
- Kein Abstrich von der Oberfläche und dem Rand einer Wunde oder von nekrotischem Material







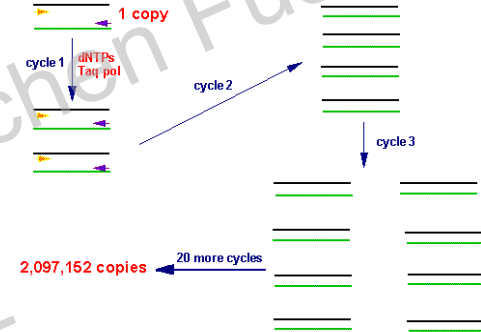
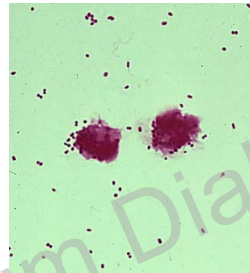
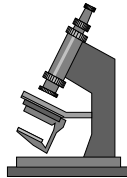
Lagerung und Transport

- Die Proben so schnell wie möglich in Labor transportieren/bringen
- Falls Lagerung notwendig Abstriche im Kühlschrank lagern (allerdings können dabei bestimmte Bakterien absterben)
- Berücksichtigen, dass bei einer antibiotische Vorbehandlung gewisse Bakterien absterben können!
- Im Labor werden die Proben nach den klinischen und präanalytischen Informationen verarbeitet

Mikrobiologische Untersuchungsmethoden

Direktnachweis

- Gram-Präparat
- Antigen-Nachweis
- PCR



Kultur von Bakterien

- Anreicherungskultur
- Direkte Kultur
- Selektive Kultur



Resistenztestung

- Konventionell
- Molekularbiologisch

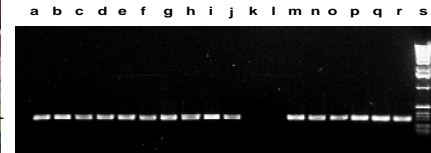
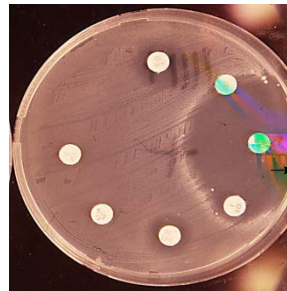


Figure legend

- a-h: 8 oxacillin-disk resistant strains
- m-r: 6 oxacillin-disk resistant strains
- i: ATCC 43300, *mecA*-positive *S. aureus*
- j: BB 270, *mecA*-positive *S. aureus*
- k: ATCC 29213, *mecA*-negative *S. aureus*
- l: BB 255, *mecA*-negative *S. aureus*
- s: molecular weight markers



Die mikrobiologische Labordiagnostik bei chronischen Wunden: einige wichtige Bemerkungen

- Kolonisation ist nicht gleich Infektion
 - Besiedelung durch Hautkeime
 - Infektionen häufig polymikrobiell
 - Materialentnahme
 - Patienten sind häufig vorbehandelt
 - Wunden unter Umständen lokal Desinfiziert
 - Biofilm
-
- Das Labor hat häufig keine klinische Informationen und zum Teil ist die Materialbezeichnung nicht korrekt



Welche Keime findet man bei chronischen Wunden?

Grundsätzlich fast alle mögliche Bakterien

Wichtig ist eine Erstunterscheidung zwischen grundsätzlich pathogene und grundsätzlich apathogene Bakterien.

Bei «nicht infizierten» Wunden findet man jedoch z.T. auch grundsätzlich pathogene Bakterien; wichtig ist die klinische Beurteilung

In einzelnen Fällen kann das bakteriologische Labor die Flora als Hautflora, Stuhlflora, Rachenflora bezeichnen



Ist die mikrobiologische Labordiagnostik schwer?

Grundsätzlich ist sie nicht schwer. Häufig stellen sich folgende Fragen:

- Ist das Material korrekt entnommen worden?
- Handelt es sich um eine Kolonisation oder Infektion?
- Welche Keime haben eine klinische Bedeutung oder sind an der Infektion beteiligt?
- Hat man alle relevante Keime erfasst?

Diese Fragen kann das Labor nur teilweise beantworten!



Keime die bei chronischen Wunden primär eher als kolonisierende Bakterien vorkommen

- Koagulase-negative Staphylokokken
- Korynebakterien und aerobe grampos. Stäbchen
- Apathogene Bacillus sp.
- «Viridans» Streptokokken
- Verschiedene «Nicht fermentierende» gramnegative Bakterien (verschiedene Pseudomonas sp.)
- Enterokokken

Diese Keime können jedoch bei günstigen Bedingungen ebenfalls zu eine Osteomyelitis führen

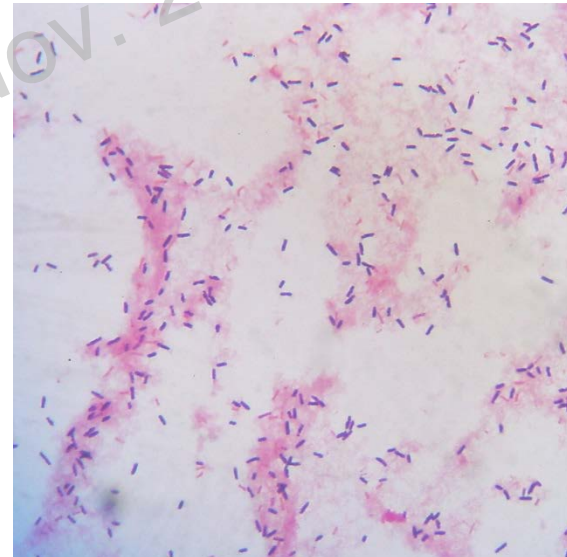
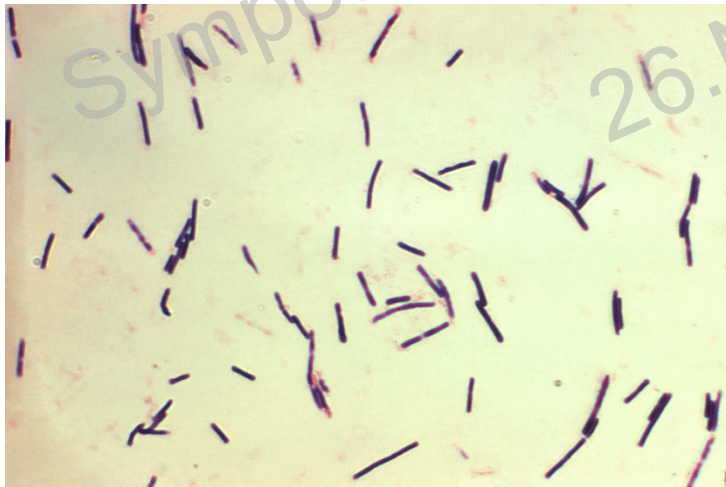
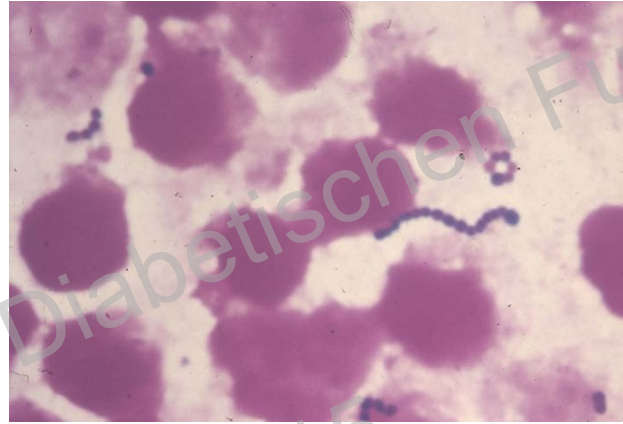
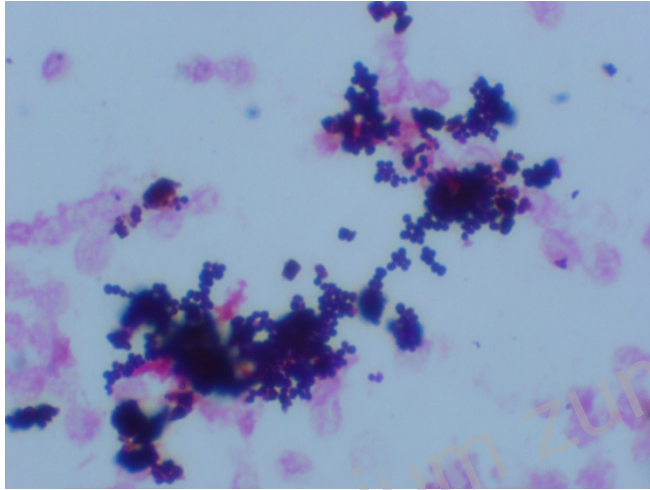


Typische Erreger von Infektionen bei chronischen Wunden

- *Staphylococcus aureus* (MSSA und MRSA), *Staphylococcus lugdunensis*
- Beta-hämolysierende Streptokokken Gruppe A,B,C und G
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Enterobakterien (*E. coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*)
- Anaerobier (Clostridien, *Bacteroides sp.*, anaerobe Kokken)

Diese Bakterien können auch auf Grund von besonderen Virulenzfaktoren schwere Infektionen (Abszesse, Cellulitis, Faszitis, Phlegmone, Sepsis) verursachen

Bei Wasserkontamination eines Ulcus (Badeferien) können selten auch *Aeromonas sp.* und Vibrionen (z.B. *Vibrio vulnificus*) schwere Infektionen verursachen





Zukunft in der bakteriologischen Diagnostik

- Standardisierung der Wundabstrich Entnahme (ist es möglich?)
- Einsatz von Molekulargenetischen Methoden (z.B. Erfassung von Keimen und dessen Virulenzfaktoren)
- Es werden immer mehr Keime sehr schnell identifiziert und beschrieben
- Die Taxonomie der einzelnen Bakterien ändert sich zum Teil so dass man nicht mehr sofort weiss ob ein Keim klinisch relevant ist oder nicht
- Die biochemische Identifizierung wird durch moderne chemische (MALDI-TOF) und molekulargenetische Identifikationsmethoden ersetzt (Sequenzierungen) und die phänotypische Resistenzprüfung wird durch die genetische Resistenz erfassung ergänzt



Zusammenfassung

- Als erstes sollte klinisch wenn möglich festgelegt werden ob eine Infektion de Wund vorliegt
- Eine korrekte Probenentnahme ist sehr wichtig
- Auf Auftragsformular für Bakteriologie Material und klinische Angaben vermitteln
- Eine genaue Bestimmung der klinischen Relevanz der isolierten Bakterien ist nicht immer möglich
- Berücksichtigen, dass in chronischen Wunden einerseits MDR Keime vorhanden sein können und andererseits, dass nicht die Resistenz gegenüber Antibiotika für die Virulenz eines Erregers verantwortlich ist
- In einzelnen Fällen kann die Bestimmung von Virulenzfaktoren bei den nachgewiesenen Bakterien von Bedeutung sein (z.B. PVL bei *Staphylococcus aureus*)



Und zum Schluss.....

Eine Enge Zusammenarbeit zwischen Klinker und Labor ist entscheidend für eine gute bakteriologische Diagnostik bei chronischen (aber auch bei akuten) Wundinfektionen.

Herzlichen Dank für Ihre Aufmerksamkeit