



Primärprobenhandbuch

Labor für Mykologie und spezielle Erreger der Haut

Universitäts-Hautklinik

Infektionsdermatologie
Liebermeisterstr. 25
72076 Tübingen

Kommissarischer Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. M. Schaller
Leiter: Prof. Dr. med. M. Schaller
Mitarbeiter: MTLA Astrid Odon
MTLA Birgit Walker

Telefon

Vorwahl	Durchwahl	
07071	29-83767	Prof. Dr. med. M. Schaller
	29-83473	Sekretariat
	29-84573	Zentrale Leitstelle
	29-84555	Pforte
	29-85122	Labor
	29-5354	Fax



Inhalt

1	Indikation der Pilzuntersuchung.....	3
2	Indikation der Herpesviren Untersuchung – HSV 1/2 und VZV	3
3	Präanalytik	3
3.1	Dokumentation der Untersuchungsanforderungen	3
3.2	Identitätskennzeichnung des Patienten und der Primärproben.....	4
3.3	Vorbereitung des Patienten	4
3.4	Das Untersuchungsmaterial	4
3.5	Entnahme der Primärprobe	4
3.5.1	Entnahme für die Dermatophytenuntersuchung	5
3.5.2	Entnahme für die Sprosspilzuntersuchung	5
3.5.3	Entnahme für die Schimmelpilzuntersuchung.....	5
3.5.4	Entnahme für die Untersuchung auf Malassezia spp.....	5
3.5.5	Entnahme Gewebe/PE für spezielle Kultivierung.....	6
3.5.6	Entnahme für die Herpesviren Untersuchung.....	6
3.6	Reagenzien und Verbrauchsmaterial für die Probenentnahme.....	6
3.7	Probentransport	7
3.8	Abstimmung über die Aufteilung der Proben bei weiteren Untersuchungen	7
3.9	Lagerung und Haltbarkeit der Proben.....	7
3.10	Rückstellung von Untersuchungsmaterial.....	7
3.11	Versand der Proben	7
3.12	Vernichtung von Untersuchungs- und Verbrauchsmaterial	8
3.13	Dokumentation der Befunde.....	8
4	Abrechnung über die GOÄ Ziffern	8
5	Angebot Diagnostiken des Labors für Mykologie und spezielle Erreger der Haut	8
6	Kooperationspartner und Referenzlabore.....	9
7	Mitgeltende Unterlagen	11

Dieses Primärprobenhandbuch gilt im Labor für Mykologie und spezielle Erreger der Haut innerbetrieblich in der Ambulanz und auf allen Stationen in der Hautklinik am Universitätsklinikum Tübingen. Ziel ist die qualifizierte Probenentnahme, Probenlenkung, Registrierung und Dokumentation.

1 Indikation der Pilzuntersuchung

Die klinische Ausprägung der Pilzinfektionen von Haut, Haare und Nägeln ist sehr unterschiedlich und zeigt teilweise auch ein untypisches Bild. Rasche Einleitung diagnostischer Maßnahmen ist notwendig um Verzögerungen bei der Behandlung und eine weitere Ausbreitung der Infektion zu vermeiden. Ziel ist eine möglichst frühzeitige Erregerdifferenzierung, einschließlich Identifizierung auf Gattungs- und Artebene, sowie Klärung der Infektionsquelle, Vermeidung einer Reinfektion und gezielte Therapie mit Antimykotika. Eine Reihe labordiagnostischer Tests sind dazu nötig.

Erreger von Dermatomykosen sind Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilze.

2 Indikation der Herpesviren Untersuchung – HSV 1/2 und VZV

Indikation ist der Verdacht auf eine Infektion mit Viren der Herpesgruppe (HSV, VZV). Typisch sind erst einzelnstehende, dann konfluierende Bläschen auf einer erythematösen Makula, die später zerplatzen, austrocknen und gelbliche Krusten bilden. Je nach Immunstatus können auch Nekrosen oder auch disseminierte Krankheitsbilder auftreten.

Erreger in der dermatologischen Virologie

Im Labor für Mykologie und spezielle Erreger der Haut wird qualitativ identifiziert.

- Herpes simplex Virus
 - Typ HSV1 (meist im Kopfbereich, Haut, Lippen etc.)
 - Typ HSV2 (meist im Genitalbereich)
- Varizella zoster Virus VZV
(Erreger von Windpocken und, bei Reaktivierung, von Zoster)

3 Präanalytik

3.1 Dokumentation der Untersuchungsanforderungen

Datensystem Lauris und Swisslab

Alle Patienten der Universitäts-Hautklinik werden in dem elektronischen Datensystem Lauris mit einer ID-Nummer erfasst und dann die Untersuchungsanforderungen gestellt. Die Untersuchungsanalyse findet man unter Hautklinik Mykologie. Die Daten werden auf ein Etikett mit Barcode gedruckt, das vor Gewinn des Untersuchungsmaterials auf das Gefäß geklebt wird. Im Labor wird die Auftragsnummer in Swisslab erfasst, dadurch werden die Daten übernommen und eine Labornummer vergeben.

3.2 Identitätskennzeichnung des Patienten und der Primärproben

Eindeutige Identifizierung des Patienten in Lauris

Hinweis:

Im Intranet gibt es eine bebilderte Seite, wie man einen Patienten in Lauris aufnimmt.

- Name und Geschlecht
- Einsender der Untersuchungsanforderung
- Empfänger der Übersendung
- Art der Primärprobe
- Anatomische Herkunft
- Angeforderte Untersuchung
- Datum und Uhrzeit der Entnahme der Primärprobe
- Datum und Uhrzeit des Eingangs der Probe im Laboratorium
- Ergänzende Angaben
- Kontakt mit Tieren oder Auslandsaufenthalt
- Antimikrobielle, bzw. antimykotische Vorbehandlung; Immunstatus

Eindeutige Identifizierung der Probe

Das Barcode-Etikett mit den ID Daten wird vor der Abnahme auf das Probengefäß geklebt. Jede neue Abnahme vom selben Patienten (z.B. andere Entnahmestelle) bekommt ein entsprechendes Etikett.

3.3 Vorbereitung des Patienten

Der Patient wird vom Arzt über die Untersuchung aufgeklärt.

3.4 Das Untersuchungsmaterial

Für die Pilzuntersuchung

Untersuchungsmaterial sind Hautschuppen, Haare, Nägel, Blasen- oder Pustelinhalt, Abstriche von der Haut oder Schleimhaut, sowie auch natives Gewebematerial.

Für die Herpesviren Untersuchung

Abnahme eines frischen Blasen- oder Hautabstrichs in physiologischer NaCl-Lösung oder speziellem Transportmedium.

3.5 Entnahme der Primärprobe

Ziel ist die Gewinnung von auswertbarem Material für die Diagnostik. Grundsätzlich alle Sicherheits- und Hygienevorschriften einhalten. Bei antimykotischer Vorbehandlung Abnahme nach therapiefreiem Intervall von 3 Wochen.

3.5.1 Entnahme für die Dermatophytenuntersuchung

Untersucht werden Hautschuppen, Haare und Nagelmaterial. Das entnommene Material in ein steriles Einweggefäß geben. Abstriche von der Haut, von Blasen- oder Pustelinhalt, in speziellem Transportmedium.

Abnahme des Untersuchungsmaterials an der Grenze zwischen gesunder und befallener Haut, bzw. am Übergang von krankem zu gesundem Nagel. Bei der Entnahme möglichst viel Untersuchungsmaterial gewinnen.

Trockene Abnahme des Materials. Feine Hautschuppen und Krusten am Randsaum der Herde abkratzen, dabei grobe Hautpartikel verwerfen. Bei wenig Material oder wenn ein abkratzen nicht möglich ist (z. B. kleines Kind) kann zusätzlich noch ein Abstrich erfolgen.

Sichtbar krankes Nagelmaterial entnehmen (Pilze sitzen meist sehr tief, daher oberflächliches, abgestorbenes Material mit Feile o. ä. vorher entfernen. Bei bakterieller Superinfektion kann man mit 70%igem Alkohol desinfizieren. Keine Hautdesinfektionsmittel verwenden, da diese meist fungizid wirken.

Bei behaarten Lokalisationen leicht epilierbare Haare (Haarstümpfe) am Rand der Herde mit der Pinzette entnehmen.

3.5.2 Entnahme für die Sprosspilzuntersuchung

Befallene Stellen hauptsächlich im Schleimhautbereich, an der Haut in den Intertrigines, von follikulären Pusteln und im Bereich des Nagelfalzes.

Abnahme eines Haut- oder Schleimhautabstrichs mit speziellem Transportmedium.

Abnahme von Hautschuppen oder Nagelmaterial, (siehe Dermatophyten).

Abklatsch von Glans penis kann direkt auf einen Nährboden erfolgen (Sabouraud-Agar, steril – erhältlich im Labor nach Rücksprache, Tel.: 85122).

Nagelfalzuntersuchung:

Ein Baumwollfaden wird in den Nagelfalz gelegt und mit Pflaster festgeklebt (feuchtes Milieu erwünscht). Entnahme nach 24 h, in ein steriles Gefäß oder direkt auf Sabouraud-Agar bringen.

3.5.3 Entnahme für die Schimmelpilzuntersuchung

Befallene Stellen sind Haut, Schleimhautbereich, Nägel und Gehörgang.

Untersucht werden Hautschuppen, Haare, Nagelmaterial, Blasen- oder Pustelinhalt sowie Abstriche von der Schleimhaut.

Abnahme siehe Dermatophyten.

3.5.4 Entnahme für die Untersuchung auf Malassezia spp

Betroffene Stellen hauptsächlich an der Hautoberfläche, in Pusteln und am behaarten Kopf.

Abnahme von Schuppen bzw. Pusteln mit Kürette oder scharfem Löffel in ein steriles Einweggefäß (siehe Dermatophyten) oder direkt auf den Nährboden (Dixon-Agar, steril – erhältlich im Labor nach Rücksprache, Tel.: 85122).

Ein Tesafilmabriss-Präparat kann zusätzlich für die Schnell Diagnostik abgenommen werden. Dazu ein ca. 5 cm langes Tesafilmstück (nach Möglichkeit kristallklares Tesafilm) auf die erkrankte Stelle drücken und abrollen, dann auf einen beschrifteten Objektträger kleben und zum Transport in eine leere Petrischale legen.

3.5.5 Entnahme Gewebe/PE für spezielle Kultivierung

Bei speziellen Fragestellungen, gegebenenfalls Rücksprache mit dem Labor, Tel.: 85122. Die Gewebeprobe wird nach der Abnahme auf eine mit 0,9 % NaCl-Lösung getränkte sterile Kompresse gelegt und in einem namentlich gekennzeichneten sterilen Gefäß direkt ins Labor geschickt. (Achtung: **kein Formalin** verwenden)

3.5.6 Entnahme für die Herpesviren Untersuchung

Abnahme eines frischen Blasen- oder Hautabstrichs in physiologischer NaCl-Lösung oder Abstrichröhrchen steril mit speziellem Transportmedium.

Bläschen mit dem Tupfer öffnen, so dass der Bläscheninhalt aufgenommen wird. Bei Krusten versuchen, an Hautstellen unterhalb der Kruste abzustreichen. Bei oralen Läsionen Tupfer über die befallenen Schleimhautstellen rollen.

3.6 Reagenzien und Verbrauchsmaterial für die Probenentnahme

Alle Verbrauchsmaterialien können im Zentrallager des Universitätsklinikum Tübingen mit Anforderungsschein oder über SAP bestellt werden.

Benötigte Geräte und Materialien zur Abnahme des Untersuchungsmaterials

- Schere, Skalpell, Kürette (scharfer Löffel), Feile
- Baumwollfaden aus steriler Kompresse für die Nagelfalzuntersuchung

Abstrichröhrchen

- Sprosspilze und Dermatophyten
 - eSwab (flüssiges Mehrzweck Amies-Medium)
 - Transportröhrchen mit Amies-Gel
- Herpesviren
 - Sigma- Σ Virocult, Virus Specimen Collection & Transportation MW
 - Sonstige Transportmedien für Virusdiagnostik
 - eSwab (flüssiges Mehrzweck Amies-Medium)

Reagenzien, bzw. Substrate zur Direktbeimpfung

(z.B. Abklatsch oder für schnell eintrocknendes Untersuchungsgut)

- Sabouraud-Agar für Sprosspilze, Dermatophyten
- Dixon-Agar für Malassezia spp.



Zubehör

- Abwurfbehältnis mit Desinfektionsmittel
- Einmalhandschuhe
- Sterile Einmal-Ösen
- Sterile Schere, Feile und Pinzette
- Sterile Kürette
- Glasobjektträger/Deckgläser
- Tesafilm kristallklar
- Steriles Einmalgefäß für das Untersuchungsmaterial
- Klebeband (zum Verschließen der Gefäße)

3.7 Probentransport

Nach Abnahme der Untersuchungsproben in sterile Einweggefäße und mit dem Barcode-Etikett beschriftet, werden die Proben an der Pforte im Fach für Laboruntersuchungsmaterial deponiert. Das Untersuchungsmaterial wird vom Bring- und Holdienst der Labormitarbeiter ins Labor gebracht.

3.8 Abstimmung über die Aufteilung der Proben bei weiteren Untersuchungen

Bei mehreren Untersuchungsanforderungen aus derselben Probe bestimmt das Labor die Verteilung.

3.9 Lagerung und Haltbarkeit der Proben

In der Mykologie wird grundsätzlich das gesamte Probenmaterial zur Untersuchung eingesetzt. Lagerung von Hautschuppen ist bei Zimmertemperatur ein paar Tage möglich.

Tupferabstriche im Transportmedium sind ebenso ein paar Tage im Kühlschrank haltbar.

Gewebeproben werden unverzüglich verarbeitet. Lagerung ist nur bei -20 °C möglich.

Für die Herpesviren Diagnostik gilt: Frisches Untersuchungsmaterial im Transportröhrchen ist bis zu 96 Stunden im Kühlschrank haltbar. Routinemäßig wird das Material am selben Tag aliquotiert und bei -20 °C gelagert.

3.10 Rückstellung von Untersuchungsmaterial

In der Mykologie gibt es keine zwingende Probenrückstellung.

In der Virusdiagnostik wird ein Aliquot des Primärmaterials bei -20 °C für mindestens 6 Monate aufbewahrt.

3.11 Versand der Proben

Falls Untersuchungen notwendig sind, die nicht im Einsendelabor durchgeführt werden dürfen, z.B. Verdacht auf außereuropäische Systemmykosen, wird das Material unverzüglich an ein entsprechendes Labor (Referenzlabor, Konsiliarlabor) weitergeleitet. (Der Versand geschieht unter sicheren Kriterien.)



3.12 Vernichtung von Untersuchungs- und Verbrauchsmaterial

Alle infektiösen Materialien und verschmutzten Verbrauchsmaterialien werden in den entsprechenden Behältern bis zur Autoklavierung, bzw. Sterilisation gesammelt und vorschriftsmäßig entsorgt.

3.13 Dokumentation der Befunde

In Swisslab werden alle Befunde, Zwischenbefunde und Ergebnisse registriert. Die erstellten Befunde werden vom Arzt validiert. Sie können jederzeit in Lauris oder über SAP abgerufen werden. Nach der Validierung sind die Befunde dann in PDF-Form druckfähig. Die Ergebnisse können auch telefonisch abgefragt werden.

4 Abrechnung über die GOÄ Ziffern

Die Abrechnung steht im Leistungsspektrum der GOÄ über Swisslab und wird von der Klinikverwaltung verwaltet.

5 Angebot Diagnostiken des Labors für Mykologie und spezielle Erreger der Haut

In folgenden Tabellen sind die angebotenen Diagnostiken des Labors für Mykologie und spezielle Erreger der Haut aufgeführt. Das Untersuchungsmaterial ist angegeben.

Laborleistungen Labor für Mykologie und spezielle Erreger:

Bestimmungsauswahl	Analyt	Material	Methode	Referenzbereiche
Dermatophyten mit Artbestimmung	yDERMA	Haut (Schuppen), Haare, Nägel. Abstriche von Haut, Pustel, Blaseninhalt und Blasengrund, Gewebematerial.	Kulturelle Anzucht, Subkultivierungen, physiologische und mikroskopische Differenzierung	negativ
Sproßpilze mit Artbestimmung	ySPROSS	Haut (Schuppen), Haare, Nägel. Abstriche von Haut, Pustel, Blaseninhalt und Blasengrund.	Kulturelle Anzucht, Subkultivierungen, physiologische und mikroskopische Differenzierung (z.B. Assimilation)	n.a.
Malassezia spp.	yMALASPP	Haut (Schuppen), Haare	Kulturelle Anzucht	n.a.
Nativpräparate	yNATIV	Haut (Schuppen), Haare, Nägel	Lichtmikroskopischer Nachweis	negativ
Nativ Milben	yDEMODEX	Haut (Schuppen)	Lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
Nativ Zoonosen	yEKTO	Das fragliche Untersuchungsobjekt	Lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
Azurfärbung	yAZUR	Hautschuppen oder Tesa-abrisspräparate	Färbung - lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.



Bestimmungs- auswahl	Analyt	Material	Methode	Referenz- bereiche
Gramfärbung	yGRAM	luftgetrocknete Objektträger- ausstriche	Färbung - lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
PCR HSV 1/HSV 2	yHSV_PCR	Abstrich in Virus-trägerlösung bzw. physiologischer Kochsalzlösung	Real-Time PCR	negativ
PCR VZV	yVZV_PCR	Abstrich in Virus-trägerlösung bzw. physiologischer Kochsalzlösung	Real-Time PCR	negativ
Dermatophyten PCR DermaGenius®2.0	yDERMAGEN2	Haut (Schuppen), Haare, Nägel	Real-Time PCR	negativ
* Nicht akkreditierte Methoden				
* PCR Borrelien	yBORR_PCR	Paraffinschnitte. PE	Real-Time PCR	negativ
* PCR Leishmanien	yLEIS_PCR	Paraffinschnitte, PE	PCR_Amplifikation	negativ
* PCR Haemophilus ducrey	yHAEMO_PCR	Paraffinschnitte. PE	PCR_Amplifikation	negativ
* PCR Treponema pallidum	yTREP_PCR	Paraffinschnitte, PE	PCR_Amplifikation	negativ
* PCR Parapox Virus	yPARAPOX_PCR	Paraffinschnitte. PE	PCR_Amplifikation	negativ
* Dunkelfeld	yDUNKFELD	Nativmaterial	Lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
* Giemsa Färbung	yGIEMSA	Nativmaterial Ausstrich von Ulcus, Pustel	Färbung - Lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
* Unna Pappenheim Färbung	yUNNA	Nativmaterial Ausstrich von Ulcus, Pustel	Lichtmikroskopischer Nachweis	n.a.
* N. gonorrhoeae	yNEISGONO	Abstriche, Abklatsch	Kulturelle Anzuchtung	negativ
* Urogenitale Mykoplasmen	yUROMY	Kulturelle Anzuchtung	Kulturelle Anzuchtung und Mikroskopie	negativ

6 Kooperationspartner und Referenzlabore

Name	Funktion	Telefon	E-Mail
NRZMyk Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie Hans-Knöll-Institut Adolf-Reichwein-Str. 23, 07745 Jena	Nationales Referenzzentrum für Invasive Pilzinfektionen Isolate	03641 5321038	nrzmyk@hki-jena.de



Name	Funktion	Telefon	E-Mail
NRZMyk Julius-Maximilians-Universität Würzburg Institut für Hygiene und Mikrobiologie / NRZMyk Josef-Schneider-Straße 2 / E1 97080 Würzburg	Nationales Referenzzentrum für Invasive Pilzinfektionen Klinische Proben	0931 3184106	nrzmyk@hygiene.uni-wuerzburg.de
Prof. Dr. med. Pietro Nenoff Laborpart Mölbis Mölbiser Hauptstr. 8 04571 Rötha OT Mölbis	Mykologie Experten Labor Mölbis	034347 6191-0	leipzig-moelbis@labopart.de
Prof. Dr. med. H. J. Tietz mycoclinic Institut für Pilzkrankheiten Luisenstr. 50 10117 Berlin	mycoclinic Institut für Pilzkrankheiten und Innere Medizin Kooperationspartner Ringversuch	030 288 73650	tietz@institut-fuer-pilzkrankheiten.de
INSTAND e.V. Ublerstr. 20 40223 Düsseldorf	Ringversuch	0211 159213-0	instand@instand-ev.de
Prof. Dr. Yvonne Gräser Charité – Universitätsmedizin Berlin Institut für Mikrobiologie und Hygiene Hindenburgdamm 27 12203 Berlin	Konsiliarlaboratorium für Dermatophyten Molekulare Mykologie	030 450-524066	yvonne.graeser@charite.de
Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie Klinikum der LMU München Frauenlobstr. 9-11 80337 München	Referenzstämme		aneker@web.de
Labor für Dermatologie, Mykologie und Bakteriologie Techn.-Universität München Biedersteinerstr. 29 80802 München	Dr. rer. nat. Martin Koeberle Referenzlabor Stammkulturen Fortbildungskurse	089 4140-3213	martin.koeberle@tum.de
Prof. Dr. med. J. Brasch Univ.-Hautklinik Kiel Schittenhelmstr. 7 24105 Kiel	Kooperationspartner Differenzialdiagnostik		Jochen.Brasch@uksh.de
Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (Zuvor: CBS) Uppsalaan 8 3584 CT Utrecht the Netherlands	Referenzlabor Centraalbureau voor Schimmelcultures	+31(0)30- 2122600	http://www.wi.knaw.nl info@wi.knaw.nl
Paul Verweij Department of Medical Microbiology Netherland	Mikrobiologie	+31 243657514	p.verweij@cwz.nl
Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft	Fortbildung Kongresse		www.dmykg.de dmykg-geschaefsstelle-@conventus.de

7 Mitgeltende Unterlagen

Hygieneplan

Allgemeine Entnahmerichtlinien (im Intranet speziell in der Hautklinik)

VA-PL-MY-001 Probenabnahme, Lenkung und Präanalytische Maßnahmen

VA-PL-MY-002 Probentransport

VA-LD-MY-002 Probenerfassung,-lenkung und Dokumentation

VA-AS-MY-001 Infektionsgefahren beim Umgang mit Erregern

VA-PL-MY-004 Rückstellproben

FB-UV-MY-004 Laborleistungen