



Associatie Laboratorium Klinische Biologie



Bacteriologische stalen: afname, transport en bewaring

Inhoud

1 Onderwerp	3
2 Principe.....	3
2.1 Staalafname en -transport.....	3
3 Werkwijze	3
3.1 Urine	3
3.1.1 Urine midstream.....	3
3.1.2 Gesondeerde urine.....	3
3.1.3 Suprapubische punctie	4
3.2 Faeces /Duodenum/adhesive-tape/appendix.....	4
3.2.1 Faeces	4
3.2.2 Duodenumvocht.....	4
3.2.3 Adhesive-tape (plakband)-preparaat voor opzoeken van OXYUREN	4
3.2.4 Appendix.....	4
3.2.5 Meconium	5
3.3 Hoge luchtweg infectie	5
3.3.1 Uitstrijkjes van keel-, neus- en mondholte.....	5
3.3.2 Otitis media of sinusitis	5
3.3.3 Nasale washing (o.a. voor rechtstreeks onderzoek op RSV)	5
3.3.4 Rechtstreeks onderzoek voor RSV.....	5
3.4 Lage luchtweg infecties	5
3.4.1 Sputum	5
3.4.2 Bronchusaspiraats.....	6
3.4.3 Transtracheale punctie.....	6
3.4.4 Broncho- alveolaire lavage (BAL).....	6
3.5 Catheter (toevoer).....	6
3.6 Haemokulturen.....	6
3.6.1 Aantal en timing van de afnamen.....	6

Bacteriologische stalen: afname, transport en bewaring

Pagina | 2 van 12

3.6.2 Volume bloed dat nodig is	7
3.6.3 Bloedafnametechniek.....	7
3.6.4 Transport	7
3.7 Lumbaalvocht	7
3.7.1 Timing van de afname	7
3.7.2 Benodigd volume opvangen in steriele buisjes	7
3.7.3 Lumbaal punctie techniek	7
3.7.4 Transport	8
3.8 Etters- Wondinfecties	8
3.8.1 Staalname	8
3.8.2 Mogelijke afnamesystemen:	9
3.8.3 Transport	9
3.9 Maagvochten en maagspoelvocht	9
3.10 Pleuravocht.....	9
3.10.1 Afnametechniek	9
3.10.2 Transport	9
3.11 Peritoneaal-, synoviaal-, pericard- en douglas vocht	10
3.11.1 Staalname	10
3.11.2 Transport	10
3.12 Genitale monsters	10
3.13 Oculaire monsters	10
3.14 MRSA/MSSA-wisser	10
3.14.1 Staalname	10
3.15 Steriliteitscontrole	11
3.16 Weefselmateriaal	11
3.17 Drain (vocht)	11
4 Opmerkingen.....	11
4.1 Aanvraagformulieren.....	11
5 Bijlagen	11
6 Afnamemateriaal	11

1 Onderwerp

Alle pathologisch materiaal moet op een steriele wijze afgenomen/ getransporteerd worden, om eventuele bijbesmetting te vermijden. Tevens moet elke staalname goed geïdentificeerd zijn (aard staal, naam patiënt,...).

2 Principe

2.1 Staalafname en -transport

Zo snel mogelijk, omwille van:

- afsterven van vb. Neisseria spp.
- overgroei door contaminanten, wat een correct onderzoek bemoeilijkt of onmogelijk maakt.

Snel transport is in de sommige gevallen (privé-artsen) onmogelijk; bewaring in de koelkast is daarom voor het merendeel van de stalen de beste oplossing. Binnen het ziekenhuis is het aan te raden het staal zo vlug mogelijk naar het labo te brengen. In de satelliet labo's worden de stalen in de koelkast bewaard tot bij afhaling.

Opgelet: Haemokulturen moeten op kamertemperatuur bewaard worden, tot wanneer ze in de Bactec toestellen geplaatst worden.

Op de campus Aalst worden de stalen zo vlug mogelijk geënt.

3 Werkwijze

3.1 Urine

3.1.1 Urine midstream

Urine in de blaas is normaal steriel.

Geloosde urine is steeds bijbesmet met commensalen vanuit de urethra en de uitwendige geslachtsorganen.

Vermits de urine tevens een goede voedingsbodem is dienen volgende voorzorgsmaatregelen genomen te worden om "vals positieve" kweken te vermijden: voorafgaandelijk genitaal toilet met zeep en water om de commensale flora zoveel mogelijk mechanisch te verwijderen.

De eerste urine, die de urethra schoonspoelt, laten we wegvloeien en alleen de midden portie opvangen in een steriel recipiënt (+/- 50 ml), het monster dient zo snel mogelijk geanalyseerd te worden (maximaal 1 uur na afname bewaard op kamertemperatuur of 4 uur indien bewaard op 4°C). Indien mogelijk worden direct 2 afname tubes gevuld in afwachting van het transport naar het labo, nl een boorzuurtube en een sedimenttube. De vacuette boorzurttubes, die direct na afname kan gevuld worden en die de groei van banale kiemen remt zodat men minder af te rekenen krijgt met mengsels van bacteriën na kweek.

3.1.2 Gesondeerde urine

Urine afgenomen via een catheter is alleen nuttig bij een patiënt die niet kan wateren of als een catheter nodig is voor andere diagnostische doeleinden. Er is steeds kans op bijbesmetting van het monster met urethrale flora en bovendien is er kans om de patiënt door de catheterisatie zelf te besmetten. Indien mogelijk worden direct 2 afname tubes gevuld in afwachting van het transport naar het labo, nl een boorzurttube en een sedimenttube. De vacuette boorzurttubes, die direct na afname kan gevuld worden en die de groei van banale kiemen remt zodat men minder af te rekenen krijgt met mengsels van bacteriën na kweek.

3.1.3 Suprapubische punctie

Suprapubische punctie door de huid en de blaaswand geeft een urinemonster dat vrij is van bijbesmetting.

Het is vaak de enige goede techniek bij baby's en kleine kinderen, en het is het enige bruikbare urinemonster voor kweek op anaëroben.

Indien mogelijk worden direct 2 afname tubes gevuld in afwachting van het transport naar het labo, nl een boorzurttube en een sedimenttube. De vacuette boorzurttubes, die direct na afname kan gevuld worden en die de groei van banale kiemen remt zodat men minder af te rekenen krijgt met mengsels van bacteriën na kweek.

3.2 Faeces /Duodenum/adhesive-tape/appendix

3.2.1 Faeces

Voor het collecteren en versturen van faeces bestaan er goed sluitende steriele plastieken potjes waarvan het schroefdeksel een lepeltje draagt, waarmee men het monster kan opnemen.

Voor parasitologisch onderzoek heeft men minstens een koffielepel staal nodig (+/-3g faeces).

Bacteriologisch onderzoek kan met minder, desnoods met een anale wisser (bij zuigelingen).

Het monster moet zo vlug mogelijk naar het labo verstuurd en geënt worden.

In een warme omgeving kunnen de weinig talrijke pathogenen (vb. Shigella) snel afsterven door aanzuren van de faeces ten gevolge van snelle aangroei van commensalen en contact met de lucht.

Voor parasitologisch onderzoek is alleen verse stoelgang bruikbaar en de patiënt mag geen anti-acida, laxativa of antidiarree medicatie genomen hebben in de week voor het onderzoek.

Parasieten zijn vaak slechts intermitterend aanwezig en daarom zijn twee tot drie aparte monsters wenselijk vooraleer een onderzoek definitief als negatief kan bestempeld worden.

3.2.2 Duodenumvocht

Stalen dienen onmiddellijk onderzocht te worden. Breng het staal zo vlug mogelijk naar het labo. Zeker niet koelen, tenzij voor viruskweek.

3.2.3 Adhesive-tape (plakband)-preparaat voor opzoeken van OXYUREN

Neem meerdere perianale afdrukken, best 's morgens, voor het toilet.

Preparaten gekoeld bewaren, en zo spoedig mogelijk bekijken.

3.2.4 Appendix

Appendix in steriel potje zo vlug mogelijk naar het labo brengen zonder toevoeging van formol.

3.2.5 Meconium

Eerste groen of bruinzwarte kleverige ontlasting van de neonat na de geboorte in steriel potje brengen. Het staal moet zo vlug mogelijk naar het labo verstuurd en geënt worden.

3.3 Hoge luchtweg infectie

3.3.1 Uitstrijkjes van keel-, neus- en mondholte

Gebeuren door middel van een wattendrager.

3.3.2 Otitis media of sinusitis

De etter uit de evacuerende punctie wordt het best opgestuurd in de spuit, goed afgesloten met een steriele dop; zo niet wordt een wisser van de gedraineerde sinus afgenomen.

3.3.3 Nasale washing (o.a. voor rechtstreeks onderzoek op RSV)

De patiënt mag niet slikken tijdens de procedure.

Breng ca. 5 ml steriele isotonische zoutoplossing in een neusgat, terwijl de patiënt het hoofd achterover houdt.

Vang de vloeistof terug op in een steriel potje zodra het hoofd terug opricht, of aspireer.

3.3.4 Rechtstreeks onderzoek voor RSV

Staal gekoeld naar het labo brengen (RSV is een labiel virus)

3.4 Lage luchtweg infecties

3.4.1 Sputum

Het te onderzoeken materiaal moet afkomstig zijn uit de lagere luchtwegen (en niet uit de mond!!); daarom wordt de voorkeur gegeven aan diepe expectoraties (fluïmen) i.p.v. speeksel. De fluïmen worden meestal opgevangen in een plastic (steriel) recipiënt en zo verstuurd naar het labo. De kwaliteit van het staal kan eventueel microscopisch beoordeeld worden en desgewenst vermeld worden op het protocol.

Opgehoest sputum is altijd bijbesmet met mond- en keelflora en het onderscheid tussen koloniserende flora en potentiële pathogenen is nauwelijks te maken. Het is totaal ongeschikt voor het opsporen van anaëroben.

Het beste staal zou een ochtendsputum zijn. Om de orale flora te reduceren zijn een aantal voorbereidende maatregelen nodig (mondtoilet) deze omvatten: het tandenpoetsen, ook het reinigen van de buccale mucosa en de tong met een natte tandenborstel en daarna een mondspoeling en gorgelen met water.

Contaminatie met speeksel en dus met orale flora is zoveel mogelijk te vermijden.

Een sputum volume van 2 ml of meer is wenselijk: de meeste bacteriële respiratoire infecties veroorzaken een belangrijke sputumproductie (Legionella is bv een uitzondering daarop). Best is de stalen onmiddellijk naar het labo te brengen en in te zetten. Indien dit niet haalbaar is, zodat transporttijden ontstaan van meer dan 1 à 2 uur, dan moeten de stalen gekoeld worden.

Voor het opzoeken van Mycobacteriën of gisten zal men drie op elkaar volgende dagen een ochtendsputum aanvragen.

3.4.2 Bronchusaspiraant

Bronchusaspiraant bekomen ter gelegenheid van een bronchoscope is niet vrij van bijbesmetting met keelflora maar levert toch meer betrouwbare materiaal op. Aspiraant van beademde patiënten levert vooral koloniserende flora op.

3.4.3 Transtracheale punctie

Door percutane transtracheale punctie kan met een soepele catheter op steriele wijze materiaal uit de bronchi worden opgenomen. Het materiaal is niet bijbesmet maar blind genomen en niet steeds op de juiste plaats. Wegens het risico van bloeding, en de psychologische weerstand van de patiënt wordt het bijna nooit toegepast.

3.4.4 Broncho- alveolaire lavage (BAL)

Via een soepele bronchoscoop wordt met een fijne catheter een kleine hoeveelheid vocht (5-10 ml) tot in de long alveolen gebracht en terug opgezogen.

Dit is de meest betrouwbare methode voor de diagnose van pneumonie.

Een species die in een hoeveelheid van $>10^4$ /ml wordt aangetroffen is een vermoedelijke oorzaak van pneumonie.

BAL is het enige goede monster voor het opsporen van Pneumocystis carinii en van Legionella pneumophillae

Alle monsters dienen opgenomen te worden in steriele flacons met schroefdeksel, zo spoedig mogelijk naar het labo gebracht en in afwachting gekoeld.

3.5 Catheter (toevoer)

Na het verwijderen van de catheter, wordt deze afgeknipt met een steriele schaar ter hoogte van de plaats, waar de catheter de huid penetreerde. Het staal wordt naar het labo gebracht in een steriel recipiënt.

3.6 Haemokulturen

3.6.1 Aantal en timing van de afnamen

Beste ogenblik voor afname is bij begin koortsoopstoot of als temperatuur nog stijgt ($> 38,5^{\circ}\text{C}$).

De richtlijn is 3 koppels afnamen (met een minimum van 2 koppels) door middel van afzonderlijk geprikte afnames.

Opmerking:

Het afnemen van haemokulturen via een intraveneus of een intra-arteriële verblijfs catheter is af te raden: vaak zijn catheters min of meer gekoloniseerd. (Bron: Miller, o.c., blz 92)

3.6.2 Volume bloed dat nodig is

Bij kinderen: 1-5 ml bloed per afname set.

Bij volwassenen: 10-30 ml bloed per afname set.

3.6.3 Bloedafnametechniek

Ontsmet de plaats van venenpunctie en stopsels van de haemokultuurflessen met alcohol 70%

Laat het "ontsmettingsmiddel opdrogen", raak de huid niet meer aan met de vingers.

Voer de bloedafname uit conform de vereisten van het gebruikte systeem:

vul eerst de aërobe fles (blauwe dop)

nadien de anaërobe (oranje dop)

Na de bloedafname reinig de huid met alcohol.

3.6.4 Transport

Haemokulturen niet laten afkoelen, maar onmiddellijk naar het labo brengen, vergezeld van het correcte aanvraagformulier.

Opmerking:

Haemoculturen nooit in de frigo plaatsen.

3.7 Lumbaalvocht

3.7.1 Timing van de afname

Voorkeur voor de afname: in de ochtend, nuchter

3.7.2 Benodigd volume opvangen in steriele buisjes

Voor bacteriologie een 5-tal ml (tweede buis of meest troebele buis)

Voor telling (laatste buis): 2 ml, voor chemie (eerste buis): 2ml

3.7.3 Lumbaal punctie techniek

Een lumbaal punctie zou best in de ochtend en NUCHTER gebeuren.

Huid op de punctieplaats vooraf grondig reinigen met alcohol 70% en ontsmetten met antiseptische oplossing (iodiumtinctuur 1-2%, of een 10% povidin-iodium-oplossing).

Naald met stilet inbrengen (bij volwassenen) ter hoogte van L3-L4 of L4-L5 of L5-S1; bij kinderen ter hoogte van L4-L5 of lager, om geen zenuwbanen te beschadigen: de conus medullaris komt bij kinderen lager dan bij volwassenen. Men gebruikt een naald met stilet om geen huidweefsel mee te sleuren naar het ruggenmergkanaal: deze "huid-ent" zou daar eventueel dermoïde cysten kunnen vormen.

Stilet terug trekken wanneer de naald de subarachoidale ruimte bereikt heeft.

Neem een buisje af voor de cel telling, bacteriologie en chemie.

Meestal reserveert men de tweede tube voor bacteriologie en de derde voor cel tellingen. Hoe dan ook, de meest troebele buis wordt naar bacteriologie gestuurd.
Huid terug reinigen met alcohol, om jodium resten te verwijderen.

3.7.4 Transport

Zo snel mogelijk! Dringend staal!
- bacteriologie: niet afkoelen.
- celtelling: binnen de 30 minuten.

3.8 Eppers- Wondinfecties

Deze worden ingedeeld in:

- Primair oppervlakkig (PREOPP)
- Primair diep (PREDIE)
- Postoperatief oppervlakkig (POSOPP)
- Post operatief diep (POSDIE)

NB: Oppervlakkig = wonde boven fascia
Diep = wonde onder fascia
Postoperatief = infectie <30 dagen na operatie t.h.v. operatieplaats (voor een inplant <1 jaar)

Opmerking:

Eppers of exsudaten zijn niet altijd het ideale staal voor het opzoeken van het causaal bacterieel agens van een wondinfectie. Het voorkeursstaal zou steeds afkomstig moeten zijn van de rand zone, waar de actieve, uitbreidende infectie woedt: een biopsie of enkele swabs in transportbodem zijn daartoe meestal ongeschikt. Een staal van de etter kan in parallel als afzonderlijk monster gekweekt worden.

Voor anaërobe kweek is het voorkeursstaal steeds een aspiraat, niet een swab.

Informatie over de juiste anatomische situering van de infectie is van belang.

Informatie over de historiek: infectie na chirurgie,
Oppervlakkige wonde, diepe wonde,...

3.8.1 Staalname

Wisser in transportmedium (natte wisser)= Eswab

Deze wissers zijn aan te bevelen bij de meeste staalnamen (etters, genitale secreten,...). Bij bepaalde staalafnames is een fijnere wisser aanbevolen (urethraal, nasopharyngeaal, oog,...). De diameter van het propje is hier veel fijner en meestal bevestigd op een metalen draad. Uiteraard wordt na de staalafname de wisser in een bijgevoegd transportmilieu gebracht

Naast de afname op een wisser, is het mogelijk op bepaalde vochten (etters, punctievochten,...) af te nemen d.m.v. een steriele naald en spuit. Dergelijke staal kan op deze wijze naar het labo gestuurd worden. Bij vermoeden van eventuele anaërobe micro-organismen is het aangeraden de spuit degelijk af te sluiten van de buitenlucht.

3.8.2 Mogelijke afnamesystemen:

- Eswab, regular, firma MLS, ref.M10160 (Copan)
- Eswab, met flexibele stok, firma MLS,ref. M10163 (Copan)

3.8.3 Transport

Staal spoedig naar het labo brengen.

Indien de cultuur niet binnen het uur ingezet wordt, is koelen van het staal vereist.

3.9 Maagvochten en maagspoelvocht

Maagvocht en maagspoelvocht preleveren 's morgens, na een vastenperiode van 12 uur zonder inname van voedsel en drank. Als spoelvloeistof gebruikte men bvb 10-30 ml isotonische zoutoplossing.

Indien men de zuurwaarden wil bepalen is roken verboden voor en tijdens het verzamelen van het maagvocht en rust is verplicht.

Elke visuele, auditieve of geur- stimulus is daarbij te vermijden.

Meestal is het de bedoeling Mycobacteriën op te sporen bij patiëntjes of patiënten die er niet in slagen een degelijk sputumstaal op te hoesten. Een staalvolume van 5-10 ml is voldoende.

Voor het opzoeken van Mycobacteriën in maagvocht of maagspoelvocht gelden 2 principes:

Een neutralisatie tot pH 7 ten laatste binnen de 4 uur staalafname: vlug naar het labo brengen.

Stalen moeten gekoeld worden van na de afname tot voor het inzetten van de cultuur.

3.10 Pleuravocht

3.10.1 Afnametechniek

Reiniging en ontsmetting: zie hoger onder lumbaalvocht.

Neem af met een hepariniseerde spuit, om stollen te voorkomen.

Zorg voor:

Een violet tube (EDTA) met minstens 5 ml pleuravocht (voor celtellingen)

Een 10 ml groene tube (heparine) voor chemie (LDH, Glucose, ...)

Minstens één 10 ml groene tube (heparine) voor bacteriologisch onderzoek, eventueel kan men bovendien pleuravocht afnemen in haemokultuurflessen; hierbij geldt dezelfde verhouding pleuravocht/ voedingsbodem als voor bloed/ voedingsbodem (1/10).

3.10.2 Transport

Voor bacteriologie: niet afkoelen

Voor cel tellingen: kamertemperatuur, zo snel mogelijk de cellen differentiëren.

Voor pH: anaëroob bewaren in afgesloten spuit, en afkoelen op ijs; onmiddellijk pH meten

Voor cytologie: onmiddellijk afkoelen.

3.11 Peritoneaal-, synoviaal-, pericard- en douglas vocht

3.11.1 Staalname

Aangezien het hier gaat om normaal steriele lichaamsvochten, is het uiterst belangrijk elke contaminatie bij de afname te voorkomen.

Huid op de afnameplaats grondig reinigen met 70% alcohol.

Aseptisch punteren en het vocht opzuigen met een steriele spuit (de spuit kan dienst doen als transportmiddel voor anaërobe cultuur).

Indien voldoende vocht beschikbaar vult men tevens een steriel potje met schroefdop (indien bv Mycobacteriën moeten opgezocht worden) en een tube met heparine- of EDTA-anticoagulans (indien bv cellen moeten geteld worden).

Alle luchtbellens uit de spuit verdrijven, en het staal onmiddellijk naar het labo brengen. Of een deel van het staal inspuiten in een haemokultuurfles.

3.11.2 Transport

Voor anaëroben: transporteren in de goed afgesloten spuit.

NB: anticoagulantia zoals EDTA en citraat zouden een aantal kiemen remmen. Gebruik dus heparine indien een anticoagulant vereist is.

Celtelling en differentiatie: afwerken binnen de kortst mogelijke tijd (binnen het uur).

3.12 Genitale monsters

Wissers zeer vlug naar labo brengen. Zie staalafname Etters- Wondinfecties

3.13 Oculaire monsters

Schilfers tussen glaasjes.

Of wissers (bij ooggetter)

3.14 MRSA/MSSA-wisser

3.14.1 Staalname

Eén wisser per te screenen regio: 1 voor beide neusgaten, 1 voor keel, 1 voor perianaal wisser moet niet bevochtigd worden

Wisser: Eswab TSB broth met donkerblauwe dop (1 witte en 2 rode wissers)

neus: wrijf 10 x in het anterieure nokje van beide neusgaten met een rode wisser, steek de wisser in het medium, beweeg langzaam gedurende 5 sec, en gooi de wisser weg

keel: zelfde procedure met tweede rode wisser achteraan de keelholte in hetzelfde medium

perianaal: 10x wrijven met de witte wisser thv het gebied tussen de vulva of scrotum tot aan de anus, steek dan de wisser in het medium, breek de wisser halverwege af thv de markering, schroef de dop er terug op zodat het afgebroken deel van de wisser vastzit

een apart labo formulier dient gebruikt te worden voor MRSA screening, met het correct aanduiden van de indicatie

3.15 Steriliteitscontrole

Alles wat op steriliteitscontrole moet getest worden, in steriel recipiënt brengen en zo vlug mogelijk naar het labo brengen.

3.16 Weefselmateriaal

Een weefselstukje bekomen door biopsie of tijdens operatie, dient steeds vochtig verstuurd te worden om uitdroging te voorkomen. Hiervoor brengt men in een steriel recipiënt een kleine hoeveelheid (max. 1ml) steriel fysiologisch water (FW) aan. Voor kleine hoeveelheden weefsel (vb. Biopsie) gebruikt men liefst een steriel gaasje, dat vooraf met FW wordt doordrenkt, waarop men het weefselbrokje plaatst.

3.17 Drain (vocht)

Stuk van drain in steriel potje.

Drainvocht in steriel potje.

Beide zo vlug mogelijk naar labo brengen.

4 Opmerkingen

4.1 Aanvraagformulieren

- Hoofding aanvraagformulieren duidelijk invullen (afdruk leesbaar)
Dokter, dienst, datum, uur, klinische info, stempel dokter en handtekening,...
- De aanvraag samen met het staal binnenbrengen
- slechts één staal per aanvraagformulier
- origine van de stalen goed aanduiden
- RSV RO: neusaspiraats tube zo vlug mogelijk naar labo brengen
- Urinesondes worden niet onderzocht (wal de urine na het verwijderen van de sonde)

5 Bijlagen

NVT

6 Afnamemateriaal

Aanvraagformulieren

Urine/ faeces potjes

Sputum/ lumbaalvocht tuben

Haemokultuurflessen

Wissers :

* Eswab:



* Limbroth: voor opsporen GBS



* TSB-broth (MRSA/MSSA): Voor opsporen MRSA/MSSA (drie aparte wissers, waarvan enkel de witte in de tube achterblijft)

