



Empfehlung für mikrobiologische Labore/Institute „Zur Probennahme und Labormethodik“

1. Probenahme von flexiblen Endoskopen in Praxis/Klinik – Prüfumfang pro Endoskop

Durchspüllösung: NaCl 0,9% steril (20 ml pro untersuchtem Endoskopkanal bzw. Optik-Spülsystem)

Die Durchspüllösungen sind in geeigneten sterilen Gefäßen aufzufangen. Zur Inaktivierung von Desinfektionsmittelresten in Durchspüllösungen ist eine geeignete Enthammerlösung zu verwenden, z.B. 3% Tween 80, 3% Saponin, 0,1% Histidin, 0,1% Cystein (Konzentrationsangaben in Bezug auf die Verdünnung der Durchspüllösung in der Enthammerlösung).

- Abstrich: bei allen untersuchten Endoskopen am Distalende (Optik, Kanalöffnungen)
- Abstrich: bei Duodenoskopen Nische beidseits des Albaranhebels (Mittelposition)
- Instrumentierkanal: Spülprobe vom Kanaleingang zum Distalende (20 ml NaCl steril)
- Luft/Wasser-Kanal: Spülprobe aus angeschlossenem Optik-Spülsystem (20 ml NaCl steril)
- Optik-Spülsystem: Spülprobe aus Flasche möglichst durch Anschlusschlauch entnommen (20 ml); Spülflüssigkeit ist hierbei NaCl 0,9 % steril.

2. Art und Anzahl der pro Praxis/Klinik zu untersuchenden Endoskope / Optik-Spülsysteme

- Flexible Endoskope (z.B. Gastroskop, Koloskop, Duodenoskop, Bronchoskop, Zystoskop) mit Instrumentierkanal (= Biopsiekanal oder Arbeitskanal) und Luft/Wasser-Kanal
- Sind in der Einheit mehrere Endoskope vorhanden, sind pro Prüftermin **1 Endoskop** und das/die zur Probenahme der Luft/Wasser-Kanäle verwendete/n Optik-Spülsystem/e mikrobiologisch zu untersuchen. Die Auswahl des zu prüfenden **Endoskops** erfolgt durch den Probenehmer (auch „seltener eingesetzte“ oder „vor längerem“ aufbereitete Endoskope sind zu untersuchen).

Dabei setzt sich die Anzahl der zu untersuchenden Endoskope aus folgenden Kriterien zusammen:

1 Endoskop je eingesetztem Aufbereitungsverfahren

(rein manuell, teilautomatisch, kalt-chemisch vollautomatisch, chemo-thermisch vollautomatisch)

3. Transport der Proben ins mikrobiologische Labor

- Verarbeitung der Proben im Labor sollte möglichst innerhalb von 4 Stunden erfolgen. Kulturen sind auf jeden Fall noch am Tag der Probenahme anzulegen.
- Flüssigkeitsproben sind während des Transports und bis zur Verarbeitung zu kühlen, wenn das Intervall nach Probenahme länger als 2 Stunden beträgt.
- Abstrichtupfer sind nach Probenahme in das im Labor übliche Transportmedium zu überführen.

4. Mikrobiologische Methodik für quantitative und qualitative Ansätze im Labor

- **Flüssigkeitsproben:**
 - Gesamtkeimzahl-Bestimmung aus 1 ml Probe (z.B. Plattengussverfahren, Agarkultur im Oberflächenverfahren oder gleichwertiges Verfahren) Auszählen: 0-1000 KBE bzw. Angabe >1000 KBE.
 - Membranfiltration von 10 ml Probe: geeigneter Filter/Porengröße 0,45 µm (z.B. Zellulose-Mischester-Membran, z.B. Firma PALL, Millipore oder gleichwertig); Kultur auf Brain Heart Infusion-Agar; Mengenangabe einzelner Keime jeweils semiquantitativ: sehr wenig = 1-5, wenig = 6-10, mäßig viel = 11-20, viel = 21-50, sehr viel = >50 KBE.
- **Abstriche:** Kultur auf Columbia-Blut-Agar und MacConkey-Agar, Mengenangabe s.o.
- **Bebrütung:** alle quantitativen und qualitativen Ansätze aerob bei 36 +/- 1°C / 48 Stunden.

5. Mikrobiologische Methodik für Keimdifferenzierungen

- Differenzierungen sind mit Labormethoden entsprechend den „Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik (MIQ der DGHM) durchzuführen.
- *Escherichia coli*; andere Enterobakteriaceen prinzipiell zumindest bis zur Gattung (z.B. kleine bunte Reihe, Selektivagar); ggf. Spezies-Bestimmung (z.B. API E, automatisiertes Laborsystem)
- *Pseudomonas aeruginosa*; andere Nonfermenter-Keime prinzipiell zumindest bis zur Gattung: *Pseudomonas* (Oxidase-positiv); *Stenotrophomonas* und *Acinetobacter* (Oxidase-negativ); ggf. Spezies-Bestimmung (z.B. API NE, automatisiertes Laborsystem)
- Enterokokken prinzipiell bis zur Gattung (z.B. Selektivagar, Bile-Esculin)
- *Staphylococcus aureus*; Koagulase-negative Staphylokokken ohne Spezies-Angabe
- Gram-positive Umgebungs-/Haut-/Schleimhaut-Keimflora (z.B. aerobe Sporenbildner, Mikrokokken, saprophytäre Corynebakterien): prinzipiell keine Differenzierung bis zur Spezies-Ebene.

6. Mikrobiologische Anforderungen bei Untersuchung von Endoskopen / Optikspülsystemen

- **Quantitative Anforderungen:**
 - Flüssigkeitsproben: Gesamtkeimzahl maximal 10 Kolonie-bildende Einheiten (KBE) pro ml Probe. Die Abweichung dieses Maximalwertes von den diesbezüglichen Anforderungen der RKI-Empfehlungen beruht auf den Erfahrungen der HYGEA-Studie (Bader et al. 2002), des QSHE-Pilotprojektes der KVB im 1. Halbjahr 2002 (Publikation in Vorbereitung) und der Qualitätssicherungsvereinbarung Koloskopie der KBV (Stand 01.10.2002).
 - Abstriche: Keimmenge maximal „wenig“ (= 6-10 KBE)
- **Qualitative Anforderungen:**
 - *Escherichia coli*, andere Enterobakteriaceen oder Enterokokken als Indikator für mangelhafte Reinigung und/oder Desinfektion: nicht nachweisbar
 - *Pseudomonas aeruginosa*, andere Keime der Pseudomonaden/Nonfermenter-Gruppe als Indikator für mangelhafte Schlusspülung bzw. Wasserqualität und/oder Trocknung: nicht nachweisbar
 - *Staphylococcus aureus* oder andere Gram-positive relevante Keime (z.B. *Streptococcus pyogenes*) als Indikator für z.B. Endoskop-Kontamination nach Aufbereitung bei mangelhafter Lagerung oder unzureichender Händehygiene: nicht nachweisbar
 - Bei Bronchoskopen und Zystoskopen: typische Standortflora des Nasen-Rachen-Raums bzw. der urogenitalen Schleimhautflora: nicht nachweisbar
 - Gram-positive Umgebungskeimflora: nicht zu beanstanden bei Einhaltung der genannten qualitativen und quantitativen mikrobiologischen Anforderungen.

Empfehlung für mikrobiologische Labore/Institute „Zur Durchführung der Probenahme“

Anforderungen an das untersuchende Personal:

Grundsätzlich ist die Probenahme von Endoskopen und Optik-Spülsystem nur von speziell geschultem und eingewiesenem medizinischen Fachpersonal durchzuführen. Kontaminationen vor oder bei der Probenahme sowie Probevermengungen sind unbedingt zu vermeiden. Aseptisches und vorsichtiges Arbeiten ist beim Umgang mit Endoskopen zu beachten. Idealerweise erfolgt die Probenahme durch 2 Personen (Mithilfe Arzthelferin der untersuchten Praxis).

Wichtige, zur Vermeidung von Kontaminationen zu beachtende Punkte:

- Hygienische Händedesinfektion vor Entnahme des zu untersuchenden Endoskops aus der Lagerung (z.B. Schrank, Schublade oder sonstiges Behältnis) durchführen: ca. eine Hohlhand alkoholisches Händedesinfektionsmittel auf den Händen verreiben, bis das Mittel verdunstet ist, Einwirkzeit: 30 Sekunden; Hände ganz benetzen, Daumen sowie Fingerkuppen und -zwischenräume mit einbeziehen.
- Bei Lagerung mehrerer Endoskope (z.B. Bronchoskope) in einem gemeinsamen Sterilbehälter sind zur Entnahme des zu untersuchenden Endoskops sterile Handschuhe anzuziehen.
- Endoskop auf einer frischen Unterlage (z.B. Einmalabdeckung der Untersuchungsfläche, Textiltuch) ablegen oder an der Halterung der Geräteeinheit aufhängen, Probenahmestellen nicht berühren.
- Zur Probenahme Endoskopventile und -kappen einsetzen, Endoskop an der Lichtquelle anschließen.
- Zwischen Probenahmen aus den Endoskopkanälen Wischdesinfektion des Endoskop-Distalendes mit Alkoholtupfer durchführen, um Probevermengungen zu vermeiden, Alkohol verdunsten lassen.
- Nach der Probenahme ist der Arzthelferin der Praxis zu empfehlen, die Endoskopkanäle mit Aqua dest. zu spülen und diese vor erneuter Lagerung zu trocknen sowie das Optik-Spülsystem erneut aufzubereiten.

Vorbereitung des Materials zur Probenahme / erforderliches Material pro Endoskop:

- Für alle zu untersuchenden Endoskope ist eine Dokumentation erforderlich (Name der Praxis/Klinik, Datum, Angaben zur Aufbereitung, Endoskopdaten, Probeentnahmestellen), Auffanggefäße und Abstriche nummerieren, benötigte Anzahl von 20 ml-Spritzen vorbereiten.
- Händedesinfektion auch vor dem Aufziehen der NaCl-Lösung in die 20 ml-Spritzen durchführen.
- Durchspüllösung in Spritzen aseptisch aufziehen (20 ml pro Instrumentierkanal), Optikspülflasche (frisch desinfiziert bzw. besser sterilisiert) mit **steriler** NaCl-Lösung befüllen (mindestens 100 ml) zur Probenahme aus Luft/Wasser-Kanälen, Deckel mit Ansaugschlauch aufsetzen und anschließen.

Materialien	Gastro-/Kolo-/ Duodenoskop	Zystoskop	Bronchoskop
sterile NaCl-Lösung 0,9%	20 ml Instrumentierkanal	20 ml Arbeitskanal	20 ml Arbeitskanal
sterile Spritze 20 ml	1 x	1 x	1 x
Alkoholtupfer	nach Bedarf	nach Bedarf	nach Bedarf
Optikspülflasche steril befüllt	1 x	falls Spülkanal	falls Spülkanal
Auffanggefäße (Enthemmer-Lösung vorgelegt)	2 x	1 x / evtl. 2 x	1 x / evtl. 2x
Tupfer für Abstrich Distalende	1 x	1 x	1 x
Tupfer für Albaranhebel	nur bei Duodenoskop 1x	----- -----	----- ----

Zur Vermeidung eines Widerspruches hinsichtlich der nicht ordnungs- und sachgemäßen Probenentnahmen empfehlen wir, dass jede Laborarztpraxis/Institut die/den betreffende(n) Ärztin/Arzt der Praxis/Klinik eingehend darüber informiert, wie die Durchführung der Probenentnahmen vom

- Endoskop
- Optik-Spülsystem

erfolgt und sich die ordnungsgemäße Probenentnahme mittels des nachfolgenden Musters durch Unterschrift der/des betreffende(n) Ärztin/Arztes bestätigen zu lassen.

„Muster für die Laborarztpraxis / das Institut zur Bestätigung der ordnungs- und sachgemäßen Probenentnahmen“

Durchführung der Probenahme vom Endoskop:

- Distalende (Kanalöffnungen und Optik) mit in sterilem NaCl getränktem Tupfer abstreichen.
- Bei Duodenoskop: Nische beidseits des Albaranhebels (Mittelposition) ebenso abstreichen.
- Instrumentierkanal: sterile NaCl-Lösung mit 20 ml-Spritze durch den Kanal spülen und in das Auffanggefäß laufen lassen, mit Enthemmer-Lösung vorsichtig mischen, Schaumbildung vermeiden.
- Distalende mit Alkoholtupfer desinfizieren vor Probenahme aus dem Luft/Wasser-Kanal.
- Falls Luft/Wasser-Kanal vorhanden: Kanal aus Optik-Spülsystem mit steriler NaCl-Lösung spülen, dann s.o.

Durchführung der Probenahme vom Optik-Spülsystem:

Jedes zur Probenahme der zu untersuchenden Endoskope verwendete Optik-Spülsystem wird auch separat untersucht. Dazu das mit steriler NaCl-Lösung befüllte System von Endoskop und Lichtquelle trennen. Die Flasche schwenken und – wenn möglich durch den Anschlussschlauch – 20 ml der NaCl-Lösung in das Auffanggefäß laufen lassen, dann so verfahren wie mit den Durchspüllösungen der Endoskopkanäle.

Information für die untersuchte Praxis/Klinik:

In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, dass entsprechend den diesbezüglichen RKI-Empfehlungen bei der endoskopischen Untersuchung von Patienten das Optikspülsystem ausschließlich mit sterilem Wasser bzw. sterilem Aqua dest. zu befüllen ist.

Hinweis an die untersuchte Praxis/Klinik:

Die Untersuchung der Probenahmen durch das beauftragte mikrobiologische Labor kann nur dann erfolgen, wenn eine diesen Vorgaben entsprechende Probenahme erfolgt ist und Sie dies durch Ihre Unterschrift bestätigen.

Die o.g. Vorgaben wurden bei der Probenahme beachtet.

Datum, Unterschrift des auftraggebenden Arztes/Ärztin der Praxis/Klinik

Empfehlung für mikrobiologische Labore/Institute „Zur Bewertung nachgewiesener Keime und Zusatznotizen für die Spalte „Beurteilung“ in der Befundtabelle“

In dieser Spalte der Ergebnistabelle sollen die aufgelisteten mikrobiologischen Befunde schlagwortartig erläutert werden. Zu jeder Abnahmestelle sind für die in der jeweiligen Probe nachgewiesenen Keime folgende Bewertungen einzutragen:

Diagnostischer Algorithmus „Beurteilung“ (die fetteten Begriffe sind zu verwenden):

- **„Fäkalkeim/e“:**
Nachweis von *Escherichia coli*, anderen Enterobacteriaceae und/oder Enterokokken (v.a. bei Untersuchung von gastrointestinalen Endoskopen Mischkulturen, häufig einschließlich des Leitkeims *E. coli*).
- **„Nasskeim/e“:**
Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*, anderen Pseudomonadaceae und sonstigen Nonfermenter-Genera (eventuell auch von anderen Keimen, die ebenfalls auf Restfeuchtigkeit / Biofilmbildung in Endoskopkanälen oder im geprüften Optik-Spülsystem hinweisen).
- **„Hygienerelevante/r Keim/e“:**
Nachweis von hygienisch bzw. infektiologisch relevanten Mikroorganismen ohne eindeutig zu bestimmende Herkunft (Luft, Flächen, Staub, Hautkontakt) oder Umwelanpassung wie z.B. *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter spp.*, Hefen/Sprosspilze, Schimmelpilze.
- **„Schleimhaut-Keimflora“:**
Nachweis von nicht weiter zu differenzierender, typischer aerob kultivierbarer Standortflora der oberen Luftwege an Bronchoskopen oder des Urogenitale an Zystoskopen (auch bei Mischkulturen mit einzelnen Enterobacteriaceae in geringer Keimzahl) .
- **„Umgebungskeim/e“:**
Nachweis von nicht weiter zu differenzierenden Keimen wie Koagulase-negativen Staphylokokken, saprophytären Corynebakterien, Mikrokokken, aeroben Sporenbildnern (zu erwarten: Mischkulturen und jeweils relativ geringe Einzel-Keimzahlen).
- **„Keine Beanstandung“** (gilt für folgende Befunde):
Kein Keimwachstum bzw. Keimnachweis (Koloskop ≤ 10 KBE), aber Einhaltung der für dieses Projekt definierten quantitativen und qualitativen mikrobiologischen Anforderungen.

In der Spalte „Beurteilung“ sollen auch bei Probenahme festgestellte weitere Mängel vermerkt werden wie z.B.:

- **„V.a. technischen Defekt“** (wenn z.B. ein Endoskopkanal „schlecht läuft“)
- **„V.a. Verschmutzung“** (z.B. Partikel/Konglomerate in Spülprobe, sichtbarer „Abrieb“ bei Abstrichen mit V.a. Blut oder Stuhlreste, Biofilm-ähnliche Beläge in der Optik-Spülflasche).