

ICS 07.100.10

Ersatz für
DIN 58940-2:1990-06

**Medizinische Mikrobiologie –
Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen
Chemotherapeutika –
Teil 2: Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest;
Text Deutsch und Englisch**

Medical microbiology –
Susceptibility testing of microbial pathogens to antimicrobial agents –
Part 2: Active substance carriers for the agar diffusion test;
Text in German and English

Microbiologie médicale –
Contrôle de la sensibilité des agents pathogènes microbiens aux agents
chimiothérapeutiques –
Partie 2: Porteurs des agents chimiothérapeutiques pour le test de diffusion à l'agar;
Texte en allemand et anglais

Gesamtumfang 20 Seiten

Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Bezeichnung.....	5
5 Herstellung der Wirkstoffträger.....	5
5.1 Wirkstoffträger aus Papier	5
5.2 Beschickung der Wirkstoffträger aus Papier.....	5
5.3 Kennzeichnung der Wirkstoffträger.....	5
6 Qualitätssicherung der Wirkstoffträger.....	5
6.1 Allgemeines	5
6.2 Herstellung der Kontroll-Wirkstoffträger	5
6.3 Herstellung der Testplatten	6
6.4 Probenahme	7
6.5 Qualitätsprüfung	7
6.5.1 Allgemeines	7
6.5.2 Auflegen der Wirkstoffträger	7
6.5.3 Bebrütung	8
6.5.4 Aufstellen der Standardgeraden	8
6.5.5 Chargenprüfung.....	9
6.5.6 Auswertung	9
7 Verpackung	9
8 Kennzeichnung	9
9 Lagerung.....	9
Literaturhinweise	10

Vorwort

Diese Norm wurde vom NA 063-05-10 AA „Chemotherapeutische Untersuchungsmethoden“ des Normenausschusses Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V. in Zusammenarbeit mit der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V. (PEG) und der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) erarbeitet.

DIN 58940 *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika* besteht aus (Beiblätter werden nicht aufgeführt):

- Teil 1: *Begriffe*
- Teil 2: *Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest*
- Teil 3: *Agar-Diffusionstest*
- Teil 4: *Bewertungsstufen für die minimale Hemmkonzentration*
- Teil 6: *Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Agar-Dilutionsmethode*
- Teil 7: *Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) mit der Mikrodilution*
- Teil 8: *Mikrodilution — Allgemeine methodenspezifische Anforderungen*
- Teil 9: *Regressionsanalyse zur Korrelation von Hemmhofdurchmesser (HHD) und minimaler Hemmkonzentration (MHK)*
- Teil 10: *Kriterien für die Bewertung der In-vitro-Wirksamkeit neuer Chemotherapeutika*
- Teil 20: *Codierung von antimikrobiellen Wirkstoffen*
- Teil 31: *Ergänzende Verfahren bei der Empfindlichkeitsprüfung*
- Teil 81: *Mikrodilution — Spezielle Anforderungen an die Testung von nicht anspruchsvollen Bakterien*
- Teil 82: *Mikrodilution — Spezielle Anforderungen an die Testung von anspruchsvollen Bakterien*
- Teil 83: *Mikrodilution — Spezielle Anforderungen an die Testung von obligat anaeroben Bakterien*
- Teil 84: *Mikrodilution — Spezielle Anforderungen an die Testung von Pilzen gegen Antimykotika*

Änderungen

Gegenüber DIN 58940-2:1990-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Ausdehnung des Anwendungsbereiches auf mikrobielle Krankheitserreger;
- b) Anpassung an den neuesten wissenschaftlichen Stand;
- c) redaktionelle Überarbeitung.

Frühere Ausgaben

DIN 58940-2: 1981-05, 1990-06

1 Anwendungsbereich

Diese Norm gilt für Wirkstoffträger zur Prüfung der Empfindlichkeit von mikrobiellen Krankheitserregern mit dem Agar-Diffusionstest nach DIN 58940-3.

Die in dieser Norm festgelegten spezifischen Anforderungen beziehen sich auf Wirkstoffträger in Form von Papierblättchen.

Zweck dieser Festlegungen ist die einheitliche Herstellung und die Qualitätssicherung der Wirkstoffträger, um die größtmögliche Sicherheit bei Empfindlichkeitsbestimmungen und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erzielen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 58940-1, *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika — Teil 1: Begriffe*

DIN 58940-2 Beiblatt 1, *Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika — Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest, Beispiel für das Aufstellen einer Standardgeraden*

DIN 58940-2 Beiblatt 2, *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika — Teil 2: Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest — Beschickungsmengen und Werte zum Aufstellen einer Standardgeraden*

DIN 58940-3, *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika — Teil 3: Agar-Diffusionstest*

DIN 58940-20, *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika — Teil 20: Codierung von antibakteriellen Wirkstoffen*

DIN 58940-20 Beiblatt 1, *Medizinische Mikrobiologie — Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika — Teil 20: Codierung von antimikrobiellen Wirkstoffen — Kurzzeichen für antimikrobielle Wirkstoffe*

DIN EN 375, *Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller von Reagenzien für in-vitro-diagnostische Untersuchungen zum Gebrauch durch Fachpersonal*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach 58940-1.

4 Bezeichnung

Bezeichnung eines Wirkstoffträgers für den Agar-Diffusionstest, beschickt mit 30 µg Azlocillin (AZL-30):

Wirkstoffträger DIN 58940 – AZL-30

5 Herstellung der Wirkstoffträger

5.1 Wirkstoffträger aus Papier

Aus Papier einer geeigneten Qualität mit einer flächenbezogenen Masse (Flächengewicht) zwischen 260 g/m² und 340 g/m²¹⁾ sind kreisförmige Papierblättchen mit einem Durchmesser von $(6 \pm 0,5)$ mm herzustellen.

Die Saugfähigkeit des Papierblättchens, bezogen auf destilliertes Wasser nach der jeweils geltenden Pharmakopöe, sollte etwa 0,02 ml betragen.

Die Wirkstoffträger sowie die zur Kennzeichnung verwendeten Farben oder Aufdrucke dürfen keine antimikrobielle Wirkung besitzen und keine anderen Substanzen beinhalten, die die zuzusetzenden Testsubstanzen inaktivieren oder in ihrer Wirkung verstärken.

5.2 Beschickung der Wirkstoffträger aus Papier

Die Papierblättchen werden mit den in DIN 58940-2 Beiblatt 2 angegebenen mittleren Beschickungsmengen (*M*) der jeweiligen Testsubstanz beschickt, siehe auch 6.5.6.

5.3 Kennzeichnung der Wirkstoffträger

Jeder Wirkstoffträger muss mit dem nach DIN 58940-20 codierten 3-Buchstaben-Kurzzeichen der jeweiligen Testsubstanz nach DIN 58940-3 Beiblatt 1 und der Zahlenangabe der Beschickungsmenge (*M*) je Papierblättchen nach DIN 58940-2 Beiblatt 2 gekennzeichnet sein.

6 Qualitätssicherung der Wirkstoffträger

6.1 Allgemeines

Eine Qualitätsprüfung ist für jede Charge durchzuführen. Sie muss eine mikrobiologische Prüfung auf der Grundlage des Agar-Diffusionstests nach DIN 58940-3 beinhalten. Die Wirkung der aufgetragenen Testsubstanz wird dabei mit der entsprechenden Wirksubstanz von Kontroll-Wirkstoffträgern verglichen und der Wirkstoffgehalt der Wirkstoffträger nach 6.5 berechnet.

Für die Prüfung jeder Charge sind die Kontroll-Wirkstoffträger jedes Mal neu herzustellen nach 6.2.

6.2 Herstellung der Kontroll-Wirkstoffträger

Es werden 66 unbeschickte Wirkstoffträger nach 5.1 benötigt. Diese werden nach Tabelle 1 aufgeteilt und mit den unter *N*, *M* und *H* angegebenen Mengen beschickt (siehe DIN 58940-2 Beiblatt 2), die in 0,02 ml Lösemittel enthalten sind. Sie werden am Prüfungstag frisch hergestellt und mit der betreffenden Testsubstanz beschickt, getrocknet und anschließend sofort verwendet.

1) Über die Bezugsquelle gibt Auskunft:

Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin)

Tabelle 1 — Anzahl und Aufteilung der erforderlichen Kontroll-Wirkstoffträger (siehe 6.5.2)

Beschickungsmenge nach DIN 58940-2 Beiblatt 2	Anzahl der erforderlichen Wirkstoffträger	Aufteilung
niedrig (<i>N</i>)	9	je 3 Stück für 3 Testplatten mit Anordnung A
mittel (<i>M</i>)	48	je 3 Stück für 3 Testplatten mit Anordnung A je 3 Stück für 3 Testplatten mit Anordnung B je 3 Stück für 10 Testplatten mit Anordnung C
hoch (<i>H</i>)	9	je 3 Stück für 3 Testplatten mit Anordnung B

Tabelle 2 — Kulturmedien für die Prüfung von Wirkstoffträgern

Kurzzeichen des Kulturmediums	Bestandteile	Menge	pH-Wert nach Sterilisation
Medium A ^a	Pepton	6,0 g	6,5 – 6,6
	pankreatisch verdautes Casein	4,0 g	
	Hefeextrakt	3,0 g	
	Fleischextrakt	1,5 g	
	Dextrose	1,0 g	
	Agar	15,0 g	
	destilliertes Wasser	ad 1 000,0 ml	
Medium B ^b	Pepton	6,0 g	6,5 – 6,6
	Hefeextrakt	3,0 g	
	Fleischextrakt	1,5 g	
	Agar	15,0 g	
	destilliertes Wasser	ad 1 000,0 ml	
Medium C ^c	Zusammensetzung wie Kulturmedium A		8,3 ± 0,1
^a Entspricht Grove-und-Randall-Medium Nr 1			
^b Entspricht Grove-und-Randall-Medium Nr 2			
^c Entspricht Grove-und-Randall-Medium Nr 11			

6.3 Herstellung der Testplatten

Es werden 16 Testplatten, d. h. 16 Petrischalen mit den entsprechenden Kulturmedien in zwei Schichten (Zweischichtenplatten) [1], nach der gültigen Pharmakopöe [2], [3] für die entsprechende Testsubstanz hergestellt. Davon dienen sechs der Aufstellung der Standardgeraden (siehe DIN 58940-2 Beiblatt 2) und 10 der Chargenprüfung nach 6.5.

Das Kulturmedium für die Testplatten setzt sich aus einer Basis- und einer Saatschicht zusammen. Beide Schichten bestehen in der Regel aus zwei verschiedenen Kulturmedien (Medium A und Medium B).