

Medizinische Mikrobiologie
Tuberkulosedagnostik

Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien

DIN
58943-3

ICS 07.100.10

Ersatz für Ausgabe 1988 : 11

Deskriptoren: Tuberkulosedagnostik, Mikrobiologie, Medizin, Mykobakterie, Nachweis

Medical microbiology — Diagnosis of tuberculosis —

Part 3: Detection of mycobacteria by culture methods

Microbiologie médicale — Diagnose de tuberculose —

Partie 3: Méthodes culturelles pour la détection de mycobactéries

Inhalt

	Seite		Seite
Vorwort	1	9 Anlegen, Bebrüten und Ablesen der Kulturen	5
1 Anwendungsbereich	2	9.1 Kulturmedien	5
2 Normative Verweisungen	2	9.2 Beimpfung	6
3 Definitionen	3	9.3 Bebrütung	6
4 Bezeichnung	3	9.4 Ablesung	6
5 Anforderungen an das Untersuchungsgut	3	10 Beurteilung	6
6 Untersuchungslaboratorium	4	11 Befundmitteilung	6
7 Annahme des Untersuchungsgutes	4	12 Weiterführende Untersuchungen	6
8 Vorbehandlung des Untersuchungsgutes	4	13 Qualitätssicherung	6
8.1 Allgemeines	4	13.1 Laborinterne Qualitätsprüfung	6
8.2 Reagenzien	4	13.2 Externe Qualitätskontrolle	7
8.3 Konzentrierung	5	Anhang A (informativ) Literaturhinweise	7
8.4 Dekontaminierung und Homogenisierung	5		
8.5 Praktisches Vorgehen bei verschiedenen Probenarten	5		

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuß E3 "Tuberkulosedagnostik" des Normenausschusses Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V. in enger Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Mykobakterien (AKM) und dem Deutschen Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK) erarbeitet.

Zu Abschnitt 5.1

Es wurde darauf verzichtet, spezielle Anforderungen an die Aufbewahrung von Sputum und Sammelsputum festzulegen.

Zu Abschnitt 9.3

Der Temperatur-Nennwert für die Bebrütung ist 37°C, weil hierbei für die meisten Mykobakterien optimale Bedingungen gegeben sind. Diese Temperatur darf jedoch nicht überschritten werden, um die Kultur nicht zu gefährden. Abweichungen sind deshalb nur nach unten hin zulässig, wobei die untere Temperaturgrenze bei 35°C liegt.

DIN 58943 Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik besteht aus:

- Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien
- Teil 31: Tuberkulosebakterien — Nachweis durch Tierversuch

Die weiteren Normen der Reihe DIN 58943 sind im Abschnitt 2 aufgeführt.

Änderungen

Gegenüber der Ausgabe November 1988 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Die Festlegungen dieser Norm wurden dem neuesten wissenschaftlichen Stand angepaßt.
- b) Die Auswahlkriterien für Kulturmedien und Vorbehandlungsverfahren wurden präzisiert.
- c) Auf die Angabe nicht mehr zeitgemäßer Dekontaminierungsmethoden wurde verzichtet. Als schonende und allen Anforderungen genügende Technik wird die *N*-acetyl-L-Cystein/NaOH-Methode beschrieben.
- d) Untertitel geändert.

Fortsetzung Seite 2 bis 7

Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm gilt für kulturelle Untersuchungen zum Nachweis von Mykobakterien. Diese Untersuchungen sind nach DIN 58957-1 der Risiko-Stufe B zugeordnet und in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien mindestens Typ 2 nach DIN 58956-1 durchzuführen.

Zweck dieser Festlegungen ist es, die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse zu sichern.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation.

DIN 55515-1

Versandverpackungen für medizinisches und biologisches Untersuchungsgut — Begriffe, Anforderungen, Prüfung

DIN 55515-2

Versandverpackungen für medizinisches und biologisches Untersuchungsgut — Gefäße, Maße

DIN 58943-7

Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 7: Modifiziertes Löwenstein-Jensen-Kulturmedium zur Anzüchtung von Mykobakterien

E DIN 58943-8

Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 8: Empfindlichkeitsprüfung von Tuberkulosebakterien gegen Chemotherapeutika

DIN 58943-9

Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Mindestanforderungen zur Identifizierung von Tuberkulosebakterien

DIN 58943-32

Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 32: Mikroskopische Methoden zum Nachweis von Mykobakterien

DIN 58945-1

Brutschränke für mikrobiologische Zwecke — Begriffe, Anforderungen, Anwendung

DIN 58945-2

Brutschränke für mikrobiologische Zwecke — Prüfung

DIN 58956-1

Medizinische Mikrobiologie — Medizinisch-mikrobiologische Laboratorien — Klassifizierung, Abgrenzung der Arbeitsstätten, Räumlichkeiten, sicherheitstechnische Anforderungen und Prüfung

DIN 58957-1

Medizinische Mikrobiologie — Medizinisch-mikrobiologische Laboratorien — Sicherheitstechnische Anforderungen an mykobakteriologische Untersuchungen

DIN 58958-1

Medizinische Mikrobiologie — Bakteriologische Urinuntersuchung — Schnellwachsende aerob anzüchtbare Bakterien

E DIN 58959-3

Medizinische Mikrobiologie — Qualitätssicherung im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium — Anforderungen an Untersuchungsauftrag und Befundbericht

E DIN 58959-17

Medizinische Mikrobiologie — Qualitätssicherung im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium — Einsatz von Kontrollstämmen bei der Untersuchung von Mykobakterien

E DIN 58959-17 Bbl 1

Medizinische Mikrobiologie — Qualitätssicherung im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium — Kontrollstämmen für häufig in der Mykobakteriologie verwendete Kulturmedien, Reagenzien und Tests

DIN 58962-1

Medizinische Mikrobiologie — Diagnostik von Infektionen der tiefen Atemwege — Teil 1: Begriffe, Allgemeine Anforderungen

DIN 58970-1

Laborzentrifugen — Begriffe, Anforderungen

DIN 58970-2

Laborzentrifugen — Zentrifugenröhrchen für RZB bis 4000

DIN 58970-3

Laborzentrifugen — Kühlzentrifugen mit Drehzahlen bis 25 000 min⁻¹

E DIN EN 1659

In-vitro-Diagnostik/Diagnostika — Kulturmedien für die Mikrobiologie — Begriffe

[1] Allgemeine Geschäftsbedingungen der Deutschen Bundespost POSTDIENST für den Briefdienst (AGB BfD Inl.), Anlage 3, vom 01.07.1991¹⁾

[2] Anlage A, Klasse 6.2, zur Verordnung über die innerstaatliche und grenzüberschreitende Beförderung gefährlicher Güter auf Straßen (GGVS) (gilt auch für Gefahrgutverordnung Eisenbahn) vom 22. Juli 1985, Bundesgesetzblatt I Nr 40, Anlageband I¹⁾

[3] Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung übertragbarer Krankheiten beim Menschen (Bundesseuchengesetz), vom 18. Juli 1961 in Fassung vom 18. Dezember 1979, BGBl I, **75** (1979) S. 2262–2281, zuletzt geändert durch Gesetz vom 27. Dezember 1993, BGBl. I, **73** (1985) S. 2378¹⁾

[4] Unfallverhütungsvorschrift "Allgemeine Vorschrift" (VBG 1, Oktober 1984)²⁾

[5] Unfallverhütungsvorschrift "Gesundheitsdienst" (VBG 103, April 1986)²⁾

[6] Merkblatt M 651 "Richtig Pipettieren" (März 1984), Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege²⁾

[7] Richtlinie für die Erkennung, Verhütung und Bekämpfung von Krankenhausinfektionen, Sonderdruck aus: BGesundhBl, 19 (1976) 1–7; 27 (1984) 24–25; Anlage über Desinfektionsmaßnahmen bei Tuberkulose

[8] Richtlinie über Desinfektionsmaßnahmen bei Tuberkulose April 1984 (DZK)³⁾

[9] Richtlinie über Schutz- und Sicherheitsmaßnahmen bei Arbeiten mit Tuberkulosebakterien im Laboratorium: Die Bakteriologie der Tuberkulose, 1992 (DZK)³⁾

¹⁾ Zu beziehen durch: Deutsches Informationszentrum für technische Regeln (DITR) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin)

²⁾ Zu beziehen durch: Carl Heymanns Verlag KG, Luxemburger Straße 449, 50939 Köln

³⁾ Zu beziehen durch: Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose; Langenbeckstraße 1, Abt. f. Pneumologie der Universität Mainz, 55131 Mainz

- [10] Liste der vom Bundesgesundheitsamt geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren, BGesundhBl. **33** (1990), 404¹⁾
- [11] Taquet, A., F. Tison: Nouvelle technique d'isolement des mycobactéries par le lauryl-sulfate de sodium. Ann. Inst. Pasteur (Paris) **100** (1961) 676 – 680
- [12] Salfinger, M., F. M. Kafader: Comparison of two pre-treatment methods for the detection of mycobacteria of BACTEC and Löwenstein Jensen slants. J. Microbiol. Method. **6** (1987) 315 – 321
- [13] Kiehn, T. E., R. Cammarata: "Laboratory diagnosis of mycobacterial infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome" J. Clin. Microbiol. **24** (1986) 708 – 711
- [14] Young, L. S., et. al.: "Mycobacterial infections in AIDS-patients with an emphasis on the M. avium complex" Rev. Inf. Dis. **8** (1986) 1024 – 1033
- [15] DIN-Fachbericht 7: Verminderung des Infektionsrisikos in der medizinischen Mikrobiologie⁴⁾
- [16] Manual of Clinical Microbiology, 6th edition, P. R. Murray et al., ASM Press, Washington D. C. (1995)

3 Definitionen

Für die Anwendung dieser Norm gelten die Definitionen nach E DIN EN 1659, DIN 58956-1 und DIN 58957-1 sowie die folgenden:

3.1 Untersuchungsgut (zum Nachweis von Mykobakterien): Das in das medizinisch-mikrobiologische Laboratorium zur Untersuchung gelangende Material (Probe).

3.2 Mykobakterien; säurefeste Stäbchen: Stäbchenförmige Bakterien, die bei Färbung den einmal aufgenommenen Farbstoff so fest binden, daß sie auch bei Anwendung von Säure und Alkohol nicht entfärbt werden.

3.2.1 Tuberkulosebakterien: Erreger der Tuberkulose der Arten *Mycobacterium tuberculosis* einschließlich geographischer Varianten (z.B. *M. africanum*) sowie *Mycobacterium bovis* und die verwandten BCG-Stämme sowie *Mycobacterium microti*.

3.2.2 ubiquitäre Mykobakterien: Alle neben den Tuberkulosebakterien im Rahmen der Tuberkulosedagnostik vorkommenden Mykobakterienarten, die in erster Linie in der Umgebung des Menschen gefunden werden.

ANMERKUNG: Taxonomisch ist der Sammelname "ubiquitäre" Mykobakterien nicht zugelassen.

3.3 Begleitkeime: Die in einem Untersuchungsgut neben den Mykobakterien vorhandenen Mikroorganismen.

3.4 Sputum: Das aus den tieferen Atemwegen spontan oder durch Provokation hervorgebrachte Sekret.
ANMERKUNG: Speichel ist kein Sputum.

3.5 Bronchialsekret: Das mittels Bronchoskopie gewonnene Sekret aus den tiefen Atemwegen (siehe DIN 58962-1).

¹⁾ Siehe Seite 2

⁴⁾ Zu beziehen durch: Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin)

3.6 Bronchoalveoläre Lavage-Flüssigkeit (BAL): Das Untersuchungsgut, das durch Spülung eines Lungensegments mit 50 ml bis 150 ml isotonischer Lösung über einen durch ein Bronchoskop eingeführten Katheter gewonnen wird (siehe DIN 58962-1).

3.7 Magennüchternsekret: Der mittels Sonde beim nüchternen Patienten gewonnene Magensaft.

3.8 Magenspülwasser: Der mittels Sonde beim nüchternen Patienten durch Spülung mit steriler Natriumchlorid-Lösung mit einer Massenkonzentration von 9 g/l oder sterilem Wasser gewonnene Mageninhalt.

3.9 Morgenurin: Der erste nach der Nachtruhe entleerte Urin.

3.10 Menstrualblut: Das mittels geeigneter Vorrichtungen während der Menstruation aufgefangene bluthaltige Sekret der Gebärmutter.

4 Bezeichnung

Bezeichnung der kulturellen Methode zum Nachweis von Mykobakterien:

Methode DIN 58943 – K

5 Anforderungen an das Untersuchungsgut

5.1 Sputum und Bronchialsekret

Das Volumen muß bei Bronchialsekreten mindestens 1 ml, bei Sputum mindestens 2 ml, jedoch vorzugsweise 5 ml, betragen. Um eine Sputummenge von 5 ml zu erhalten, darf Sputum bis zu 4 h lang gesammelt werden.

5.2 Magennüchternsekret und Magenspülwasser

Das Volumen der jeweiligen Probe muß mindestens 2 ml betragen.

Zur Neutralisierung von Magennüchternsekret oder Magenspülwasser eignen sich Röhrchen mit Trinatriumphosphat, die folgendermaßen vorbereitet werden:

Von einer gesättigten Lösung (70 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml kochendem Wasser gelöst) werden 1 ml bis 2 ml in heißem Zustand in die Versandgefäße gefüllt. Nach Abkühlung kristallisiert das Salz aus. Dies beeinträchtigt die Qualität der Versandgefäße nicht; sie dürfen bei Raumtemperatur unbegrenzt aufbewahrt werden.

5.3 Morgenurin

Nach Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr am Vorabend muß der Morgenurin unter Vermeidung mikrobieller Verunreinigungen nach DIN 58958-1 in einem Behältnis mit steriler Innenoberfläche aufgefangen werden.

Für die Abklärung einer Urogenitaltuberkulose ist die Untersuchung von mindestens 3 Urinproben mit einem Mindestvolumen von 30 ml je Probe erforderlich. Entnahme der drei Proben an drei verschiedenen Tagen (je eine Probe/Tag).

ANMERKUNG: 24-h-Sammelurin ist wegen der stärkeren Verunreinigung durch Begleitkeime weniger geeignet.

5.4 Menstrualblut

Menstrualblut wird nach der Gewinnung etwa zu gleichen Teilen mit sterilem Wasser versetzt und in sterilen Behältnissen versandt.