

Medizinische Mikrobiologie
Tuberkulosedagnostik

Tuberkulosebakterien-Nachweis durch Tierversuch

DIN
58 943
 Teil 31

Medical microbiology; diagnosis of tuberculosis;
 detection of tubercle bacilli by animal inoculation

Ersatz für Ausgabe 11.80

Diese Norm enthält in den Abschnitten 5 und 9 sicherheitstechnische Festlegungen.

Beginn der Gültigkeit

Diese Norm gilt ab 1. März 1989

Inhalt

	Seite		Seite
1 Anwendungsbereich und Zweck	1	8 Vorbehandlung des Untersuchungsgutes	2
2 Begriffe	1	9 Durchführung der Untersuchung	2
3 Bezeichnung	1	10 Beurteilung	2
4 Anforderungen an das Untersuchungsgut	1	11 Befundmitteilung	3
5 Untersuchungslaboratorium	2	Zitierte Normen und andere Unterlagen	3
6 Annahme des Untersuchungsgutes	2	Änderungen	3
7 Chemikalien und Reagenzien	2	Erläuterungen	4

1 Anwendungsbereich und Zweck

Diese Norm gilt für den Nachweis von Tuberkulosebakterien durch den Tierversuch. Dieser Versuch ist nach DIN 58 957 Teil 1 der Risiko-Stufe B zugeordnet und in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien mindestens Typ 2 nach DIN 58 956 Teil 1 durchzuführen.

Nach neueren Kenntnissen und aufgrund verbesserter kultureller Nachweisverfahren nach DIN 58 943 Teil 3 ist heute der Tierversuch zu diagnostischen Zwecken weitgehend entbehrlich [1] bis [5], siehe auch unter Erläuterungen. Ausnahmen können sein:

- Untersuchungsgut, das nicht oder nur schwer wiedergewinnbar ist,
- wenn trotz negativer Kulturergebnisse die klinischen Erscheinungen für die Möglichkeit einer Tuberkulose sprechen.

Zweck dieser Festlegungen ist es, für die Durchführung und Auswertung des Tierversuches einheitliche Voraussetzungen zu schaffen.

2 Begriffe

2.1 Grundbegriffe

Nach DIN 58 943 Teil 3, DIN 58 956 Teil 1 und DIN 58 957 Teil 1.

2.2 Tb-Tierversuch

Der Tb-Tierversuch umfaßt die Vorbehandlung, Injektion bzw. Implantation des Untersuchungsgutes, die Beobachtung und Sektion des Versuchstieres sowie die Auswertung und Beurteilung des Sektionsmaterials und die Befundmitteilung.

2.3 Versuchstier

Das Versuchstier zum Nachweis von Tuberkulosebakterien ist das Meerschweinchen.

3 Bezeichnung

Bezeichnung des Tierversuches zum Nachweis von Tuberkulosebakterien (TV):

Tierversuch DIN 58 943 – TV

4 Anforderungen an das Untersuchungsgut

Anforderungen nach DIN 58 943 Teil 3 unter Berücksichtigung des begrenzten Anwendungsbereiches nach Abschnitt 1.

4.1 Transport des Untersuchungsgutes

Anforderungen nach DIN 58 943 Teil 3.

Fortsetzung Seite 2 bis 4

5 Untersuchungslaboratorium

Der Nachweis von Tuberkulosebakterien durch den Tierversuch ist in einem medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium mindestens Typ 2 nach DIN 58 956 Teil 1 durchzuführen, unter Einhaltung der sicherheitstechnischen Anforderungen an Untersuchungen der Risiko-Stufe B nach DIN 58 957 Teil 1. Die Tierställe müssen den Anforderungen nach DIN 58 956 Teil 1 und DIN 58 957 Teil 1 entsprechen.

Es muß sichergestellt werden, daß die in DIN 58 943 Teil 3 aufgeführten Gesetze und Verordnungen in der jeweils gültigen Fassung beachtet werden.

6 Annahme des Untersuchungsgutes

Anforderungen nach DIN 58 943 Teil 3.

7 Chemikalien und Reagenzien

7.1 Zur Vorbehandlung des Versuchstieres

- Urethan 100 g
- steriles destilliertes Wasser 1 l

7.2 Zur Vorbehandlung des Untersuchungsgutes

- N-Acetyl-L-Cystein/NaOH-Lösung nach DIN 58 943 Teil 3 oder
- Chloramphenicol 0,03 g/l

8 Vorbehandlung des Untersuchungsgutes

8.1 Allgemeines

Proben, die keine oder wenig Begleitkeime enthalten, bedürfen keiner Vorbehandlung. Im Zweifelsfall ist eine bakteriologische Kontrolle vorzuschalten.

8.2 Abtötung der Begleitkeime

Im Gegensatz zur kulturellen Methode ist das Versuchstier unempfindlicher für eine Reihe von Begleitkeimen. Die Vorbehandlung kann daher schonender sein.

8.2.1 Vorbehandlung mit N-Acetyl-L-Cystein/NaOH-Lösung

Nach DIN 58 943 Teil 3

8.2.2 Vorbehandlung mit Chloramphenicol

Flüssiges Untersuchungsgut wird zentrifugiert und das Sediment der Probe mit einer gleichen Menge Chloramphenicol-Lösung 0,03 g/l versetzt, gründlich durchmischt und 1 h bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ gehalten.

9 Durchführung der Untersuchung

Die sicherheitstechnischen Maßnahmen nach DIN 58 957 Teil 1 sind zu beachten.

Die Untersuchung beinhaltet Tierversuche im Sinne des § 7 Tierschutz-Gesetz [6]. Sie unterliegen der Anzeigepflicht nach § 8a Tierschutz-Gesetz. Die Anzeige hat unter Angabe der in § 8a Absatz 2 enthaltenen Erfordernissen und nach Maßgabe der zuständigen jeweiligen Landesveterinärbehörde bei dieser zu erfolgen.

9.1 Gewicht und Haltung der Versuchstiere

Jedes Versuchstier muß ein Gewicht von 200 bis 300 g aufweisen und frei von Infektionen sein.

Für die Durchführung eines Tierversuches mit einem Untersuchungsgut genügt ein Versuchstier.

Die Versuchstiere sind getrennt von den Vorrattieren unterzubringen.

Jedes Versuchstier muß in einem gesonderten Käfig gehalten werden. Bei Reinigung der Käfige ist die anfallende Einstreu wie infektiöses Material zu entsorgen.

Nach Abschluß des Tierversuches ist der Käfig zu desinfizieren.

Für die Entsorgung gelten die sicherheitstechnischen Anforderungen nach DIN 58 956 Teil 4.

Die Versuchstiere sind durch nummerierte Ohrmarken zu kennzeichnen. Eine zusätzliche Beschreibung der Tiere (Farbe und Musterung des Fells) im Arbeitsprotokoll ist empfehlenswert.

9.2 Injektion oder Implantation des vorbehandelten Untersuchungsgutes

Der Arbeitsplatz soll mit einer Lage Zellstoff bedeckt sein, die mit einem Desinfektionsmittel getränkt ist.

Das Versuchstier ist von einer unterwiesenen Person zu halten.

Bei der Injektion an Versuchstieren dürfen nur Einmalspritzen nach DIN 13 098 Teil 1 mit fest verbundener Injektionskanüle oder mit verriegelbarer Kegelverbindung (LLN nach DIN 13 090 Teil 2) verwendet werden.

1 ml des vorbereiteten Untersuchungsgutes ist in eine Hautfalte der Leistenbeuge zu injizieren.

Zur Implantation von Gewebeproben und Tupfern ist das Versuchstier mit Urethanlösung nach Abschnitt 7.1 i. p. zu narkotisieren (1 ml/100 g Tiergewicht).

Das Untersuchungsgut ist in eine Hauttasche zu implantieren und die Schnittwunde mit chirurgischen Klammern zu schließen.

9.3 Beobachtung

Durch regelmäßige, mindestens 1 × tägliche, Kontrollen sind erkrankte Versuchstiere festzustellen und die Erkrankung ist im Arbeitsprotokoll zu dokumentieren.

9.4 Sektion

Nach Ablauf von 6 bis 8 Wochen sind die Versuchstiere durch Chloroform zu töten, wobei die zulässigen MAK-Werte für Chloroform im Arbeitsraum nicht überschritten werden dürfen [7]. Danach ist das Versuchstier unter Einhaltung der sicherheitstechnischen Maßnahmen nach DIN 58 957 Teil 1/01.86, Abschnitt 3.4.3.2, zu sezieren. Versuchstiere, die früher sterben, sind sofort zu sezieren.

Nach vorangegangener äußerer Inspektion auf Lymphknotenvergrößerungen und Fistelbildungen ist das Versuchstier aufzuspannen und das Fell mit Äthylalkohol (Volumenkonzentration 70%) zu befeuchten. Die Haut wird durchtrennt, Brust- und Bauchraum werden mit sterilen Instrumenten geöffnet.

Die makroskopisch veränderten regionalen Lymphknoten und gegebenenfalls andere verdächtig makroskopisch veränderte Organe sind für den Nachweis von Tuberkulosebakterien zu entnehmen.

Der Befund an den einzelnen Organen muß protokolliert werden.

Für die Sektion des nächsten Versuchstieres ist das Sektionsbesteck zu wechseln. Alle benutzten Geräte müssen nach dem Gebrauch desinfiziert werden.

10 Beurteilung

Ein Tierversuch wird als eindeutig positiv bezeichnet, wenn die Tuberkulose generalisiert und in den Organen mikroskopisch säurefeste Stäbchen nachgewiesen wurden.

Beschränken sich die pathologischen Veränderungen auf die Injektionsstelle oder die regionalen Lymphknoten, ist der Befund als zweifelhaft zu bewerten, auch wenn mikrosko-