

Medizinische Mikrobiologie
Tuberkulosedagnostik

Mikroskopische Methoden zum Nachweis von Mykobakterien

DIN
58 943
 Teil 32

Medical microbiology; diagnosis of tuberculosis; detection of mycobacteria by microscopic methods

Ersatz für Ausgabe 08.82

Die mikroskopischen Methoden haben gegenüber den kulturellen Methoden nach DIN 58 943 Teil 3 und dem Tierversuch nach DIN 58 943 Teil 31, Vorteile und Nachteile:

- Vorteil geringerer methodischer und zeitlicher Aufwand
- Nachteile geringere Empfindlichkeit, geringere Spezifität

Inhalt

	Seite		Seite
1 Anwendungsbereich und Zweck	1	8.4 Sulfosalizylsäure	3
2 Begriffe	1	8.5 Alkalische Natrium-Hypochloritlösung	3
3 Bezeichnung	1	9 Vorbehandlung des Untersuchungsgutes	3
4 Untersuchungsgut	1	9.1 Allgemeines	3
4.1 Sputum und Bronchialsekret	2	9.2 Verarbeitung	3
4.2 Anzahl der Proben	2	9.3 Fixation	4
4.3 Transport des Untersuchungsgutes	2	9.4 Färbung	4
5 Untersuchungslaboratorium	2	10 Durchführung der Untersuchung	4
6 Annahme des Untersuchungsgutes	2	10.1 Hellfeld-Methode	4
7 Mikroskopische Ausrüstung	2	10.2 Fluoreszenz-Methode	4
8 Reagenzien	2	11 Beurteilung	4
8.1 Ziehl-Neelsen-Färbung	2	12 Befundmitteilung	5
8.2 Auramin-Färbung	3	Zitierte Normen und andere Unterlagen	5
8.3 Natriumchlorid-Lösung	3	Weitere Normen	6
		Erläuterungen	6

1 Anwendungsbereich und Zweck

Diese Norm gilt für mikroskopische Untersuchungen zum Nachweis von Mykobakterien.

Diese Untersuchungen sind nach DIN 58 957 Teil 1 der Risiko-Stufe A zugeordnet und in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien mindestens Typ 2 nach DIN 58 956 Teil 1 durchzuführen unter Beachtung der Anforderungen an den Arbeitsplatz und die mikroskopische Ausrüstung nach DIN 58 941 Teil 6.

Die mikroskopischen Methoden nach dieser Norm lassen keine Differenzierung zwischen Tuberkulosebakterien und anderen Mykobakterien (atypische Mykobakterien, siehe DIN 58 943 Teil 3) zu. Es kann ferner keine Aussage darüber gemacht werden, ob es sich um noch vermehrungsfähige oder um bereits abgestorbene Mykobakterien handelt (z. B. infolge Chemotherapie oder Desinfektions- bzw. Sterilisationsmaßnahmen nach Abgabe des Untersuchungsgutes).

2 Begriffe

Nach DIN 58 941 Teil 6, DIN 58 943 Teil 3, DIN 58 956 Teil 1 und DIN 58 957 Teil 1.

3 Bezeichnung

Bezeichnung der mikroskopischen Methode zum Nachweis von Mykobakterien (M):

Mikroskopie DIN 58 943 – M

4 Untersuchungsgut

Bei Proben, die erfahrungsgemäß Tuberkulosebakterien in höherer Konzentration enthalten können (mehr als 10⁴/ml) ist die mikroskopische Untersuchung besonders angezeigt; das gilt vor allem für Sputum und Bronchialsekret.

Dagegen ist die regelmäßige mikroskopische Untersuchung wenig aussichtsreich bei Proben, in denen entweder

- Tuberkulosebakterien nur in geringer Konzentration erwartet werden können, z. B. Pleurapunktat, Menstrualblut oder
- mit dem Vorkommen anderer, „atypischer“ Mykobakterien gerechnet werden muß, z. B. im Urin, Magensaft bzw. -Spülwasser, Stuhl.

Deshalb sollen – wenn überhaupt – Magennüchternsekret und Magenspülwasser, Morgenurin, Spermaflüssig-

Fortsetzung Seite 2 bis 6

keit, Punktionsflüssigkeiten, Gewebeproben und Abstriche sowie Stuhl und Menstrualblut nur im Zusammenhang mit der kulturellen Methode nach DIN 58 943 Teil 3 auch mikroskopisch untersucht werden. Die Anforderungen an das jeweilige Untersuchungsgut sind DIN 58 943 Teil 3 zu entnehmen.

Diese Einschränkungen gelten nicht für Liquor, dieses Untersuchungsgut sollte immer mikroskopisch untersucht werden.

4.1 Sputum und Bronchialsekret

Das Mindestvolumen soll 2 ml betragen.

Anmerkung: Bronchiale Bürstenabstriche sind den Sekreten in der Ausbeute überlegen.

4.2 Anzahl der Proben

Die Anzahl der Proben hängt von der Fragestellung ab, die Anlaß zu der Untersuchung ist.

4.2.1 Noch nicht gesicherte Diagnose

Bei noch nicht gesicherter Diagnose sind drei Proben an drei verschiedenen Tagen (je eine Probe/Tag) zu entnehmen. Sie erbringen mehr als eine einzige Probe.

Häufigere Untersuchungen ergeben dagegen kaum größere zusätzliche diagnostische Sicherheit. In diagnostisch besonders schwierigen Fällen (z.B. bei fraglich aktiver Lungentuberkulose) können sie trotzdem angezeigt sein.

4.2.2 Behandlungskontrolle

Die Zeitabstände der Behandlungskontrolle sind abhängig von der Art des Falles und der Chemotherapie. Im allgemeinen sind Wiederholungen im Abstand von etwa zwei bis vier Wochen zweckmäßig.

4.3 Transport des Untersuchungsgutes

Bei Verpackung und Versand von medizinischem Untersuchungsgut für die Tuberkulosedagnostik sind DIN 55 515 Teil 1 und Teil 2 und die verkehrsrechtlichen Vorschriften [1] und [2] unbedingt zu beachten. Das Untersuchungsgut soll in einem keimfrei gemachten und verschlossenen Versandgefäß transportiert werden. Das Versandgefäß muß so eindeutig beschriftet sein, daß die Herkunft und Identität des Untersuchungsgutes jederzeit erkennbar ist.

Die Transportdauer, d.h. von der Gewinnung des Untersuchungsgutes bis zum Eingang im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium, soll so kurz wie möglich sein und 48 h nicht überschreiten.

Über den geeigneten Versand in Sonderfällen müssen sich Einsender und Laboratorium verständigen.

Dem Untersuchungsgut ist ein schriftlicher, vom Einsender unterschriebener, gegen Durchfeuchtung und Verschmutzung geschützter, Untersuchungsauftrag beizufügen, dessen Aufbau und Inhalt den Mindestanforderungen nach DIN 58 941 Teil 4 entsprechen muß. Insbesondere ist für den Untersucher (Laborarzt) von Bedeutung:

- gewünschte Untersuchung
 - Mikroskopie DIN 58 943 – M
 - gegebenenfalls zusammen mit
 - Kulturmethode DIN 58 943 – K
 - Tierversuch DIN 58 943 – TV

- Untersuchungsgut

Entnahme vor oder während der Erst- bzw. Wiederholungsbehandlung.

5 Untersuchungslaboratorium

Die mikroskopische Untersuchung 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 A nach DIN 58 957 Teil 1, und der Mindestanforderungen an den Arbeitsplatz und die mikroskopische Ausrüstung nach DIN 58 941 Teil 6.

Es muß sichergestellt werden, daß die nachstehenden Vorschriften und Regeln in der jeweils gültigen Fassung, beachtet werden:

- Unfallverhütungsvorschriften und Merkblätter des Hauptverbandes der gewerblichen Berufsgenossenschaften [3] bis [5]
- Richtlinien des Bundesgesundheitsamtes (BGA) über Desinfektionsmaßnahmen bei Tuberkulose [6]
- Empfehlungen des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK) [7] und [8]
- die Liste der vom Bundesgesundheitsamt (BGA) geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren [9].

6 Annahme des Untersuchungsgutes

Das im Untersuchungslaboratorium eingetroffene Untersuchungsgut und der dazugehörige Untersuchungsauftrag sind auf Übereinstimmung und etwaige Auffälligkeiten hin zu überprüfen und zu numerieren. Für eine Dokumentation nach DIN 58 941 Teil 4 ist Sorge zu tragen.

Die mikroskopische Untersuchung soll am Eingangstag des Untersuchungsgutes beginnen. Untersuchungsgut, das nicht innerhalb 1 bis 2 h verarbeitet werden kann, ist bei Kühlschranktemperatur (5 ± 1) °C zu lagern.

7 Mikroskopische Ausrüstung

Nach DIN 58 941 Teil 6.

Für die mikroskopische Hellfeld-Methode ist eine 90- bis 100fache Objektivvergrößerung erforderlich, Filter werden nicht benötigt.

Für den zu verwendenden Farbstoff bei der Fluoreszenz-Methode sind Filterkombinationen nach Angaben der Hersteller einzusetzen.

Aufflicht-Fluoreszenz-Mikroskope sind Durchlicht-Fluoreszenz-Mikroskopen vorzuziehen.

8 Reagenzien

8.1 Ziehl-Neelsen-Färbung

8.1.1 Karbolfuchsinlösung¹⁾

Fuchsin basisch	1 g
Ethanol (96 ± 1) %	10 ml
Phenolum liquefactum 5 %ige wäßrige Lösung	100 ml

¹⁾ Über die Bezugsquelle gibt Auskunft:

Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN-Deutsches Institut für Normung e.V., Postfach 11 07, 1000 Berlin 30.



Document
Document Sharing Hub