

DIN 58943-9**DIN**

ICS 07.100.10

Ersatz für
DIN 58943-9:1993-10

**Medizinische Mikrobiologie –
Tuberkulosedagnostik –
Teil 9: Phänotypische Differenzierung von Tuberkulosebakterien;
Text in Deutsch und Englisch**

Medical microbiology –
Diagnostics of tuberculosis –
Part 9: Phenotypic differentiation of tubercle bacilli;
text in German and English

Microbiologie médicale –
Diagnose de la tuberculose –
Partie 9: Différentiation phénotypique des bactéries tuberculeuses;
texte en allemand et anglais

Gesamtumfang 18 Seiten

Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN

Inhalt

	Seite		Page
Vorwort	3	Foreword	3
Einleitung	4	Introduction	4
1 Anwendungsbereich	5	1 Scope	5
2 Normative Verweisungen	5	2 Normative references	5
3 Begriffe	6	3 Terms and definitions	6
4 Anforderungen an die biologische Sicherheit	6	4 Requirements for biological safety	6
5 Differenzierung von Tuberkulosebakterien	7	5 Differentiation of tubercle bacilli	7
6 Beurteilung der Untersuchungsergebnisse	8	6 Interpretation of test results	8
7 Durchführung der Testmethoden	8	7 Procedure of test methods	8
7.1 Allgemeines	8	7.1 General	8
7.2 Charakteristisches Wachstum von Tuberkulosebakterien	8	7.2 Characteristic growth of tubercle bacilli	8
7.3 Niacinnachweis	9	7.3 Niacin test	9
7.3.1 Allgemeines	9	7.3.1 General	9
7.3.2 Niacinnachweis mit der Kaliumcyanid-Methode	9	7.3.2 Niacin detection with the potassium cyanide method	9
7.3.3 Niacinnachweis mit der Teststreifenmethode	10	7.3.3 Niacin detection using test strip	10
7.4 Nachweis der Nitratreduktase	11	7.4 Nitrate reduction test	11
7.4.1 Allgemeines	11	7.4.1 General	11
7.4.2 Nitratreduktasenachweis durch Azofarbstoff-Bildung	11	7.4.2 Detection of nitrate reductase by the generation of acid dye	11
7.4.3 Nitratreduktasenachweis mit der Teststreifenmethode	13	7.4.3 Nitrate reductase detection using test strips	13
7.5 Untersuchung des Sauerstoffbedarfs im Lebek-Medium	13	7.5 Oxygen preference with Lebek medium	13
7.5.1 Kurzbeschreibung	13	7.5.1 Principle	13
7.5.2 Testmedium	13	7.5.2 Test medium	13
7.5.3 Beimpfung und Bebrütung	15	7.5.3 Inoculation and incubation	15
7.5.4 Ablesung	15	7.5.4 Reading of results	15
7.6 Prüfung der BSH/TCH-Empfindlichkeit	15	7.6 PMH/TCH susceptibility testing	15
7.7 Prüfung der Pyrazinamid-Empfindlichkeit	16	7.7 Pyrazinamide susceptibility testing	16
7.8 Prüfung der Cycloserin-Empfindlichkeit	16	7.8 Cycloserine susceptibility testing	16
8 Qualitätssicherung	16	8 Quality control	16
8.1 Laborinterne Qualitätsprüfung	16	8.1 Intra-laboratory quality control	16
8.2 Externe Qualitätskontrolle	17	8.2 External quality control	17
Literaturhinweise	18	Bibliography	18

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss NA 063-05-03 AA „Tuberkulosedagnostik“ des Normenausschusses Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Mykobakterien (AKM) erarbeitet. Der AKM ist ein Expertengremium aus dem deutschsprachigen Raum, das u. a. Studien zur mykobakteriologischen Diagnostik koordiniert.

DIN 58943 *Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik* besteht aus (Beiblätter werden nicht aufgeführt):

- Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien
- Teil 7: Modifiziertes Löwenstein-Jensen-Kulturmedium zur Anzucht von Mykobakterien
- Teil 8: Empfindlichkeitsprüfung von Tuberkulosebakterien gegen Chemotherapeutika
- Teil 9: Phänotypische Differenzierung von Tuberkulosebakterien
- Teil 32: Mikroskopische Methoden zum Nachweis von Mykobakterien
- Teil 40: Bewertungskriterien für kulturelle Schnellverfahren zum Nachweis von Mykobakterien

Änderungen

Gegenüber DIN 58943-9:1993-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Redaktionelle Überarbeitung;
- b) Anpassung der Festlegungen an die überarbeiteten Methoden für die Kultur (DIN 58943-3), die Mikroskopie (DIN 58943-32) und die Empfindlichkeitsprüfung (DIN 58943-8);
- c) Aufnahme der Beschreibung des Streifentests zum Nachweis der Nitratreduktase;
- d) Neuaufnahme der Prüfung auf Pyrazinamid- und Cycloserin-Empfindlichkeit.

Frühere Ausgaben

DIN 58943-9: 1986-08; 1993-10

DIN 58943-33: 1980-11

Foreword

This standard has been prepared by the technical committee NA 063-05-03 AA “Diagnosis of Tuberculosis” of the Normenausschuss Medizin (NAMed) (Department for Medical Standards) at DIN Deutsches Institut für Normung e. V. (German Institute for Standardization) in cooperation with the expert committee on mycobacteria (AKM-Arbeitskreis Mykobakterien). The AKM is an expert committee based in the German speaking areas of Europe which coordinates, among other things, studies about the laboratory diagnosis of mycobacteria diseases.

DIN 58943, *Medical Microbiology — Diagnosis of tuberculosis* of (supplements are not listed):

- Part 3: Detection of mycobacteria by culture methods
- Part 7: Modified Löwenstein-Jensen medium for the growth of mycobacteria
- Part 8: Methods for the determination of susceptibility of tubercle bacilli to chemotherapeutic agents
- Part 9: Phenotypic differentiation of tubercle bacilli
- Part 32: Detection of mycobacteria by microscopic methods
- Part 40: Evaluation criteria for fast culture procedures for the detection of mycobacteria

Amendments

The following amendments were made in comparison to DIN 58943-9:1993-10:

- a) Editorial revision;
- b) Updating of the specifications in accordance with the revised methods for culture (DIN 58943-3), microscopy (DIN 58943-32) and the susceptibility testing (DIN 58943-8);
- c) The description of the strip test as a proof of nitrate reductase has been included;
- d) Re-adoption of pyrazinamide and cycloserine susceptibility testing.

Previous editions

DIN 58943-9: 1986-08; 1993-10

DIN 58943-33: 1980-11

Einleitung

Nachdem heute molekularbiologische Tests zur Differenzierung zwischen Tuberkulosebakterien einerseits und nicht-tuberkulösen Mykobakterien andererseits zur Verfügung stehen, erwies es sich als erforderlich, die Norm so zu erweitern, dass mit den in dieser Norm beschriebenen Methoden verschiedene Arten von Tuberkulosebakterien identifiziert werden können.

Entsprechend dem heutigen Stand der Diagnostik erfolgt die Differenzierung zwischen Tuberkulose-Bakterien und nicht-tuberkulösen Mykobakterien zuverlässig und schnell mittels molekularbiologischer Methoden. Zur Identifizierung einiger Spezies und Varianten innerhalb der Tuberkulosebakterien können die in dieser Norm beschriebenen Methoden eingesetzt werden.

Introduction

Since molecular tests are now available for differentiating between tubercle bacilli and nontuberculous mycobacteria, it has become necessary to expand this standard in such a way that it will include methods which can be applied to identify different types of tubercle bacilli.

According to the present state of the laboratory diagnosis, a differentiation between tubercle bacilli and nontuberculous mycobacteria is done rapidly and reliably using molecular methods. To identify some species and variants within the genus of *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), the methods described in this standard can be applied.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm gilt für die phänotypische Differenzierung von Tuberkulosebakterien (des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes).

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 58943-3, *Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien*

DIN 58943-8, *Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 8: Empfindlichkeitsprüfungen von Tuberkulosebakterien gegen Chemotherapeutika*

DIN 58943-32, *Medizinische Mikrobiologie — Tuberkulosedagnostik — Teil 32: Mikroskopische Methoden zum Nachweis von Mykobakterien*

DIN 58959-17, *Medizinische Mikrobiologie — Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie — Teil 17: Anforderungen an den Einsatz von Kontrollstämmen bei der Untersuchung von Mykobakterien*

DIN EN 12128, *Biotechnik — Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Sicherheitsstufen mikrobiologischer Laboratorien, Gefahrenbereiche, Räumlichkeiten und technische Sicherheitsanforderungen*

DIN EN 12740, *Biotechnik — Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Leitfaden für die Behandlung, Inaktivierung und Prüfung von Abfällen*

1 Scope

This standard is valid for the phenotypic differentiation of tubercle bacilli (of the MTBC).

2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

DIN 58943-3, *Medical microbiology — Diagnosis of tuberculosis — Part 3: Detection of mycobacteria by culture methods*

DIN 58943-8, *Medical microbiology — Diagnosis of tuberculosis — Part 8: Methods for the determination of susceptibility of tubercle bacilli to chemotherapeutic agents*

DIN 58943-32, *Medical microbiology — Diagnosis of tuberculosis — Part 32: Detection of mycobacteria by microscopic methods*

DIN 58959-17, *Medical microbiology — Quality management in medical microbiology — Part 17: Requirements for the use of control strains for the examination of mycobacteria*

DIN EN 12128, *Biotechnology — Laboratories for research, development and analysis — Containment levels of microbiology laboratories, areas of risk, localities and physical safety requirements*

DIN EN 12740, *Biotechnology — Laboratories for research, development and analysis — Guidance for handling, inactivating and testing of waste*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach DIN 58943-3 und DIN EN 12128 und die folgenden Begriffe.

3.1

Tuberkulosebakterien

dem *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex zugeordnete, genetisch eng verwandte Mykobakterien

ANMERKUNG Der *M. tuberculosis*-Komplex enthält verschiedene Spezies (z. B. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. micoti*), Subspezies und Stämme (z. B. *M. bovis* BCG).

3.2

Nicht-tuberkulöse Mykobakterien

Mykobakterien, die nicht dem *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex angehören und nicht *M. leprae* sind

3.3

Reinkultur (zur Identifizierung von Tuberkulosebakterien)

Bakterienkultur, die mit höchstmöglicher Wahrscheinlichkeit nur aus Tuberkulosebakterien einer Art bzw. eines Stammes besteht

4 Anforderungen an die biologische Sicherheit

Gemäß Biostoff-Verordnung [1] und TRBA 100 [2] handelt es sich bei den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen um gezielte Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen der Risikogruppe 3. Sie sind deshalb in Laboratorien durchzuführen, die mindestens den Anforderungen der Schutzstufe 3 nach Anhang II der Biostoff-Verordnung, TRBA 100 und der Sicherheitsstufe 3 (S 3) nach DIN EN 12128 entsprechen.

Die Beachtung dieser Norm entbindet nicht von der Befolgung gesetzlicher Vorschriften.

3 Terms and definitions

For the purposes of this document, the terms and definitions given in DIN 58943-3, DIN EN 12128 and the following apply.

3.1

Tubercle bacilli

Genetically closely related mycobacteria belonging to the *Mycobacterium tuberculosis* complex

NOTE The *Mycobacterium tuberculosis* complex contains different species (e.g. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. micoti*), subspecies and strains (e.g. *M. bovis* BCG).

3.2

Nontuberculous mycobacteria

Mycobacteria, which do not belong to the *Mycobacterium tuberculosis* complex and are not *Mycobacterium leprae*

3.3

Pure culture (for identification of tubercle bacilli)

Culture of bacteria which – with the highest possible probability – consists exclusively of tubercle bacilli of one species respectively one strain

4 Requirements for biological safety

According to the Regulation on Biological Agents [1] and TRBA 100 [2], the investigations described in the following chapters consist of work handling biological agents of risk group 3. Therefore, the tests shall be carried out in laboratories which fulfil the requirements of protection level 3 as listed in the Appendix of the Regulation on Biological Agents II, and safety level 3 (S 3) according to DIN EN 12128, as a minimum.

Observance of this standard does not free from adherence to legal stipulations.