

	Medizinische Mikrobiologie Qualitätssicherung im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium Kriterien zur Ermittlung von Grenzwerten für Kontrollstämmen zum Einsatz bei Empfindlichkeitsprüfungen von Krankheitserregern	DIN 58 959 Teil 13
Medical microbiology; quality assurance in medical microbiological laboratories; criteria for determining limits for control strains used in susceptibility testing of pathogens		Einsprüche bis 29. Feb 1992 Anwendungswarnvermerk auf der letzten Seite beachten!
	1 Anwendungsbereich und Zweck Diese Norm gilt für das Mitführen von Kontrollstämmen bei allen Empfindlichkeitsprüfungen von Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Zweck dieser Norm ist es, Kriterien zur Ermittlung von Grenzwerten, d. h. Grenz(Kontroll)werten für Kontrollstämmen festzulegen. Durch den Vergleich der so festgelegten Grenz(Kontroll)werte für Kontrollstämmen mit den Ergebnissen der Empfindlichkeitsprüfungen der Kontrollstämmen ist eine Überprüfung der Richtigkeit, Präzision und Reproduzierbarkeit möglich. 2 Begriffe Medizinisch-mikrobiologische Begriffe, die als bekannt vorausgesetzt werden, sind in dieser Norm nicht definiert. Weitere Begriffe nach DIN 58 940 Teil 1, DIN 58 944 Teil 1 *), DIN 58 959 Teil 1 *) und DIN 58 959 Teil 6 *). 3 Allgemeine Anforderungen an das Mitführen von Kontrollstämmen Nach DIN 58 959 Teil 7 *) 4 Anforderungen an den Nachweis der Qualität der Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung mittels Kontrollstämmen 4.1 Kontrollstämmen Anforderungen nach DIN 58 959 Teil 6 *). Kontrollstämmen sind bei allen Empfindlichkeitsprüfungen von Krankheitserregern nach festgelegten Anforderungen mitzuführen: - Bei der Herstellung von Wirkstoffträgern (Testblättchen) für die Empfindlichkeitsprüfung nach DIN 58 940 Teil 2 zur Überprüfung des Testblättchengehaltes. - Bei der Empfindlichkeitsprüfung von Aerobiern nach DIN 58 940 Teil 3, Teil 5 und Teil 6 sowie DIN 58 959 Teil 14 *). - Bei der Empfindlichkeitsprüfung von Anaerobiern nach DIN 58 944 Teil 1 *) sowie DIN 58 959 Teil 15 *). - Bei der Empfindlichkeitsprüfung von speziellen Mikroorganismen nach DIN 58 959 Teil 16 *).	
	- Bei der Empfindlichkeitsprüfung von Mykobakterien nach DIN 58 943 Teil 8. - Bei der Empfindlichkeitsprüfung von Pilzen, siehe DIN 58 959 Teil 19 *).	
	4.2 Wirkstoffträger Werden bei der Empfindlichkeitsprüfung von Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika Wirkstoffträger in Form von Testblättchen verwendet und selbst hergestellt, so müssen diese den Anforderungen nach DIN 58 940 Teil 2 entsprechen und die Beschickungsmenge jeder Charge mit den dort aufgeführten bzw. analog mit entsprechenden Kontrollstämmen geprüft werden.	
	4.3 Identifizierung von Chemotherapeutika auf Wirkstoffträgern Werden bei der Empfindlichkeitsprüfung Chemotherapeutika auf Testblättchen oder sonstigen Wirkstoffträgern verwendet, so müssen diese eindeutig gekennzeichnet sein mit Kurzzeichen, die der Codierung nach DIN 58 940 Teil 20 entsprechen müssen. Eine Übersicht über Kurzzeichen für Chemotherapeutika ist in DIN 58 940 Teil 20 und im Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 13 *) gegeben.	
	4.4 Anforderungen an die Ermittlung von Grenz(Kontroll)werten für Kontrollstämmen für neue Chemotherapeutika 4.4.1 Agar-Diffusionsteste mit Wirkstoffträgern 4.4.1.1 Um die Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung mit Wirkstoffträgern (Testblättchen) im Laboratorium zu kontrollieren, ist es notwendig, Grenz(Kontroll)werte und zulässige Abweichungen der Hemmhofdurchmesser bei definierten Kontrollstämmen festzulegen. Die definierten Kontrollstämmen, für die mindestens die Ergebnisse vorliegen müssen, sind in den jeweiligen DIN-Normen festgelegt, siehe Abschnitt 4.1. 4.4.1.2 Zur Ermittlung der Grenz(Kontroll)werte von Kontrollstämmen für neue Testblättchen sollten mindestens die Ergebnisse von 5 verschiedenen Laborkulturen herangezogen werden. Die Auswertung sollte 3 oder mehr Chargen eines oder mehrerer Hersteller der Testblättchen mit einschließen.	
	*) Z. Z. Entwurf	

Fortsetzung Seite 2 und 3

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

4.4.1.3 Eine der verwendeten Mueller-Hinton-Agar-Chargen bzw. eines gleichwertigen Testmediums sollte gleichzeitig in allen 5 Laboratorien verwendet werden. Die Studie soll 3 oder mehr Chargen dieses Kulturmediums verschiedener Hersteller mit einschließen.

4.4.1.4 Für jedes neue Chemotherapeutikum sind Grenz(Kontroll)werte für mindestens je einen grampositiven und/oder gramnegativen aeroben und/oder anaeroben Kontrollstamm entsprechend dem Wirkungsspektrum festzulegen. Es müssen mindestens 50 Einzeltests für jeden Kontrollstamm und jeder Testblättchencharge von jedem der Prüflaboratorien, verteilt über mehrere Tage, durchgeführt werden. Parallel zu dem Testblättchen mit der neuen Substanz sollte ein geeignetes Testblättchen mit vorgegebenen Hemmhofdurchmessern nach DIN 58 940 Teil 3 mitgeprüft werden.

Die tabellarisch aufgelisteten Ergebnisse müssen die berechneten Mittelwerte (Median- und Modalwert), Schwankungsbereich, Standardabweichung, Variationskoeffizient, Präzisionsindex und Genauigkeitsindex beinhalten. Die Einsaatdichte des Inokulums ist in KBE/ml ¹⁾ anzugeben.

4.4.2 Quantitative Verdünnungstests für aerobe und anaerobe Krankheitserreger

4.4.2.1 Zur Kontrolle der Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung mittels Verdünnungstests ist es erforderlich, die Grenz(Kontroll)werte und akzeptablen Abweichungen der MHK- bzw. MBK-Werte für mindestens je einen grampositiven und/oder gramnegativen aeroben und/oder anaeroben Kontrollstamm entsprechend dem Wirkungsspektrum festzulegen. Als Referenzmethode für quantitative MHK/MBK-Bestimmungen ist eine Dilutionsmethode nach DIN 58 940 Teil 5, Teil 6 und Teil 8 bzw. nach DIN 58 944 Teil 1 *) zu verwenden.

Anforderungen an die Kontrollstämme entsprechend Abschnitt 4.4.1.1.

4.4.2.2 Für neue Chemotherapeutika sollen mindestens 5 verschiedene Laboratorien an der Studie teilnehmen. Es sind mindestens 3 Chargen des entsprechenden Kulturmediums von allen Laboratorien zu prüfen, wobei eine Charge davon in allen teilnehmenden Laboratorien eingesetzt werden muß.

4.4.2.3 Für das zu untersuchende Chemotherapeutikum ist ein zweifaches Verdünnungsprotokoll zu wählen, in dem alle Endpunkte für alle Bestimmungen eingeschlossen werden können.

4.4.2.4 Jedes Laboratorium muß mindestens 50 Einzeltests für jeden Kontrollstamm (50 separate Inokulumsätze) und mit jedem neuen Chemotherapeutikum durchführen. Eine bereits im Handel befindliche Wirksubstanz mit vorgegebenen MHK-Werten nach DIN 58 940 Teil 5, Teil 6 und Teil 8 bzw. nach DIN 58 944 Teil 1 *) sollte parallel mitgeprüft werden. Die Ergebnisse sind für jeden Kontrollstamm und jede Charge als MHK-Verteilung, für jedes Laboratorium getrennt und für alle Einzelwerte zusammen darzustellen. Sie müssen beinhalten:

- Anzahl der Testungen je Kontrollstamm
- geometrisches Mittel, Modal- und Medianwert der MHK bzw. MBK
- Streuwerte und Standardabweichung
- Minimal- und Maximalwert der MHK bzw. MBK
- KBE/ml ¹⁾ des verwendeten Inokulums
- Laborinterne Abweichungen
- Abweichung zwischen den Laboratorien

4.5 Kriterien für den Vergleich der verschiedenen Dilutionsmethoden zur Bestimmung der MHK

Da verschiedene Dilutionsmethoden für die MHK-Bestimmung möglich sind, sollten Daten für neue Chemotherapeutika erarbeitet werden, die die Vergleichbarkeit der Endpunkte für verschiedene Standardmethoden (Makrodilution, Agar-Dilution, Mikrodilution) aufzeigen.

4.5.1 Verdünnungstests für aerobe und anaerobe Kontrollstämme mit statistischer Auswertung

MHK-Werte von mindestens 50 Tests mit jedem Kontrollstamm sind bei einem Vergleich von Makrodilution und Agar-Dilution, Mikrodilution und Agar-Dilution vorzulegen.

*) Z. Z. Entwurf

¹⁾ KBE = Koloniebildende Einheiten

Zitierte Normen und andere Unterlagen

- | | |
|-------------------|---|
| DIN 58 940 Teil 1 | Medizinische Mikrobiologie; Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Begriffe |
| DIN 58 940 Teil 2 | Medizinische Mikrobiologie; Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Wirkstoffträger für den Agar-Diffusionstest |
| DIN 58 940 Teil 3 | Medizinische Mikrobiologie; Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Agar-Diffusionstest |
| DIN 58 940 Teil 5 | Medizinische Mikrobiologie; Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika; Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Bouillon-Dilutionsmethode (Makrodilution) |