

**Medizinische Mikrobiologie
Qualitätssicherung
im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium
Einsatz von Kontrollstämmen bei der
Empfindlichkeitsprüfung von anaeroben Krankheitserregern**

DIN
58 959
Teil 15

Medical microbiology; quality assurance in medical microbiological laboratories; use of control strains for susceptibility testing of pathogenic anaerobic bacteria

Einsprüche bis 29. Feb 1992

Anwendungswarnvermerk
auf der letzten Seite beachten!

1 Anwendungsbereich und Zweck

Die Festlegungen dieser Norm beziehen sich auf die Bedingungen und Verfahren, die für den Einsatz von Kontrollstämmen bei Empfindlichkeitsprüfungen anaerober Krankheitserreger gegenüber Chemotherapeutika zu beachten sind, und auf die Maßstäbe, nach denen die mit Kontrollstämmen erhaltenen Ergebnissen auszuwerten sind.

Durch das Mitführen von Kontrollstämmen werden die in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien durchgeführten Empfindlichkeitsprüfungen mit anaeroben Mikroorganismen auf ihre Zuverlässigkeit, Verwertbarkeit und Reproduzierbarkeit überprüft.

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 *) und DIN 58 959 Teil 13 *).

4 Anforderungen an den Nachweis der Qualität der Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von anaeroben Krankheitserregern

Anmerkung: Für die Empfindlichkeitsprüfung von Anaerobiern steht, wie bei aeroben Krankheitserregern, eine Vielzahl von Methoden mit individuellen Modifikationen zur Verfügung [1], [2], die jedoch nur zum Teil standardisiert sind [3]. Nach DIN 58 944 Teil 1 *) wurden bisher die Agar-Dilutionsmethode und die Mikro-Bouillon-Dilutionsmethode als Standardmethoden der Wahl für die Routine beschrieben. Die Angaben für die erforderlichen Maßnahmen zur Qualitätssicherung beschränken sich daher auf diese beiden Methoden; sie gelten jedoch sinngemäß wie in DIN 58 959 Teil 14 *) festgelegt, für andere, in einem Laboratorium verwendete Methoden, die entsprechend dieser Norm zu standardisieren sind.

4.1 Qualitätsmerkmale

Die zu sichernden Qualitätsmerkmale beziehen sich auf:

- Kulturmedien
- Reagenzien/Chemotherapeutika
- Inokulum
- Testdurchführung
- Auswertung/Testinterpretation
- Führen von Kontrollkarten

4.2 Kontrollstämmen

Anforderungen nach DIN 58 959 Teil 6 *)

Es sind mindestens die in DIN 58 944 Teil 1 *) aufgeführten Kontrollstämmen einzusetzen.

Erfolgt die Aufbewahrung von Stammkulturen in Kulturmedien, müssen diese mindestens einmal je Woche subkultiviert und monatlich durch tiefgefrorene oder lyophilisierte Stammkulturen ersetzt werden. Lyophilisierte Stammkulturen müssen vor der Empfindlichkeitsprüfung zweimal anaerob subkultiviert werden, bevor sie als Gebrauchskulturen eingesetzt werden können.

4.3 Kulturmedien

Als Kulturmedium zur Empfindlichkeitsprüfung dient Wilkins-Chalgren-Agar ¹⁾ oder modifizierte Wilkins-Chalgren-Bouillon ¹⁾, siehe auch DIN 58 944 Teil 1 *), Brain-Heart-Infusion-Bouillon/Agar (modifiziert) ¹⁾ oder Schaedler-Bouillon/Agar (modifiziert) ¹⁾.

Kulturmedien für Anaerobier sollten in einem Anaerostaten aufbewahrt werden, ansonsten sind sie vor Gebrauch mindestens 1 Tag in anaerober Atmosphäre vorzureduzieren.

Anmerkung: Es ist darauf hinzuweisen, daß Wilkins-Chalgren-Kulturmedien nicht das Wachstum aller Anaerobier ermöglicht und bestimmte Bakterien-Chemotherapeutika-Kombinationen mit diesen Kulturmedien keine reproduzierbaren Ergebnisse liefern [4].

*) Z. Z. Entwurf

¹⁾ Über die Bezugsquelle gibt der Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Postfach 11 07, 1000 Berlin 30, Auskunft.

Fortsetzung Seite 2 und 3

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



Documents
Document Sharing Hub

Die Kulturmedien sind bei Eigenherstellung nach Angaben der Hersteller zuzubereiten und zu sterilisieren. Kulturmedien durch Fremdbezug dürfen nur von Herstellern stammen, welche mindestens die Qualitätsmerkmale nach Abschnitt 4.3.1 nachweisen können.

4.3.1 Qualitätsmerkmale für Kulturmedien

Die zu prüfenden Merkmale gelten sowohl für die Eigenherstellung als auch für den Fremdbezug und beziehen sich auf:

- Sterilität
- pH-Wert nach der Sterilisation
- Wachstum
- Anaerobiose

4.3.2 Kontrollstämme für Kulturmedien

Es sind alle in DIN 58 944 Teil 1 *) genannten Kontrollstämme einzusetzen.

4.3.3 Prüfhäufigkeit für Kulturmedien

Jede Charge

4.3.4 Qualitätsprüfung der Kulturmedien

Die Qualitätsprüfung erfolgt nach DIN 58 959 Teil 9 *) und bezieht sich auf:

- Sterilität
Eine repräsentative Anzahl (bei Eigenherstellung mindestens 3) von Platten ist für 72 h bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ zu inkubieren. Falls sich kein Keimwachstum zeigt, ist die Charge in Ordnung. Diese Platten sind nicht mehr für die Empfindlichkeitsprüfung zu verwenden.
- pH-Wert
Die Messung erfolgt nach Mazeration einer kleinen Medienmenge nach der Sterilisation und Abkühlung oder mittels einer Oberflächenmethode. Der pH-Wert muß 7,2 bis 7,4 betragen.
- Anaerobier-Wachstum
Je 2 Platten/Röhrchen der Kulturmedien werden mit etwa 10^2 bis 10^3 KBE ²⁾ eines jeden Kontrollstammes beimpft. Es wird je 1 Satz der Kontrollstämme aerob und anaerob bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ inkubiert. Die Charge entspricht, wenn innerhalb von 48 h sich kein Wachstum auf den aerob bebrüteten Kulturmedien zeigt und im gleichen Zeitraum im anaeroben Satz jeder Kontrollstamm ein Wachstum von mindestens 20 KBE ²⁾ zeigt.

Bei der Mikro-Bouillon-Dilutionsmethode muß jede Mikrotitrationsplatte bzw. für jeden Kontrollstamm je Mikrotitrationsplatte eine Vertiefung mit Kulturmedium ohne Chemotherapeutikum vorhanden sein (Wachstumskontrolle).

4.4 Inokulum

Das Inokulum muß den Anforderungen nach DIN 58 944 Teil 1 *) entsprechen.

4.5 Reagenzien/Chemotherapeutikallösungen

Reagenzien, Verdünnungs- und Chemotherapeutikallösungen müssen, sofern sie im voraus hergestellt werden, mindestens 1 Tag im Anaerostaten vorreduziert werden.

4.6 Prüfhäufigkeit

Alle nach Abschnitt 4.3.2 angegebenen Kontrollstämme müssen bei jeder Einzelprüfung oder Testserie mitgeführt werden.

4.7 Qualitätsprüfung der Methoden

4.7.1 Agar-Dilutionsmethode und Mikro-Bouillon-Dilutionsmethode

Die Prüfung mit Kontrollstämmen erfolgt parallel mit und nach den Empfindlichkeitsprüfungen nach DIN 58 944 Teil 1 *).

4.7.2 Inokulum

Als Reinheitskontrolle müssen bei jeder Testserie bei Beginn und nach Abschluß der Beimpfung die Kontrollstämme auf zwei feste Kulturmedien überimpft und jeweils aerob und anaerob bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ inkubiert werden.

4.8 Auswertung der Qualitätsprüfung

Die Auswertung und Bewertung der Untersuchungsergebnisse erfolgt entsprechend den Festlegungen nach DIN 58 944 Teil 1 *).

Für eine gültige Qualitätsprüfung müssen die MHK-Werte für jeden eingesetzten Kontrollstamm innerhalb der in Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 15 *) angegebenen Grenz(Kontroll)bereiche liegen.

Darüber hinaus sind die MHK-Bereiche und MHK-Modalwerte für Kontrollstämme nach Beiblatt 1 zu DIN 58 944 Teil 1 *) heranzuziehen.

Wird auf den aerob kultivierten Platten zur Reinheitskontrolle Wachstum und/oder bei der anaeroben Wachstums(Reinheits-)kontrolle kein Wachstum festgestellt, dürfen die Untersuchungsergebnisse der anaeroben Empfindlichkeitsprüfungen nicht bewertet und berichtet werden.

*) z. Z. Entwurf

²⁾ KBE = Koloniebildende Einheiten