

Medizinische Mikrobiologie
Qualitätssicherung
im medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium
Einsatz von Kontrollstämmen zur Prüfung von Kulturmedien

DIN
58 959
Teil 9

Medical microbiology; quality assurance in medical microbiological laboratories; use of control strains for testing culture media

Einsprüche bis 29. Feb 1992

Anwendungswarnvermerk
auf der letzten Seite beachten!

1 Anwendungsbereich und Zweck

Diese Norm gilt für Art und Umfang des Einsatzes von Kontrollstämmen bei der Herstellung und dem Gebrauch von Kulturmedien für Bakterien, Pilze und Mykobakterien. Diese Norm sollte nicht angewendet werden für Medien zur Isolierung von Parasiten, Viren, Mykoplasmen und Chlamydien.

Zweck dieser Norm ist es, dem Anwender kultureller Methoden bei mikrobiologischen Untersuchungen die Möglichkeit zu geben, die geforderten Eigenschaften und die Qualität der bezogenen bzw. selbst hergestellten Kulturmedien mit geeigneten Kontrollstämmen zu prüfen. Die Festlegungen sollen sicherstellen, daß im Rahmen biologischer Möglichkeiten, zutreffende, aussagefähige und reproduzierbare Ergebnisse im Hinblick auf Qualität und Quantität von zu kultivierenden Stämmen bzw. gesuchten Bakterien und Pilzen im Untersuchungsgut erreicht werden.

2 Begriffe

Medizinisch-mikrobiologische Begriffe, die als bekannt vorausgesetzt werden, sind in dieser Norm nicht definiert.

Weitere Begriffe nach DIN 58 942 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 *)

Parallel zum Mitführen von Kontrollstämmen sind folgende Qualitätssicherungsmaßnahmen erforderlich:

- Es sollten nur solche Mengen an dehydrierten bzw. gebrauchsfertigen Kulturmedien beschaffen werden, die innerhalb der angegebenen Verfallzeiten verbraucht werden. Die vorgefertigten, dehydrierten Kulturmedien sollten den Halbjahresbedarf bis maximal den Jahresbedarf abdecken. Erfahrungswerte über maximale Aufbewahrungszeiten von selbsthergestellten gebrauchsfertigen Kulturmedien sind im Beiblatt 2 zu DIN 58 959 Teil 9 *) aufgelistet.
- Das Datum des Wareneingangs einer Charge ist in einer Datei festzuhalten oder auf jedes Behältnis aufzubringen. Ebenso muß das Datum der erstmaligen Öffnung des Kulturmediumbehältnisses auf diesem angegeben werden.

- Die Kulturmedien müssen in einem lichtgeschützten, kalten (8 bis 15) °C, gut belüfteten Raum gelagert werden. Sehr feuchtigkeitsempfindliche Kulturmedien sind mit Wachs, Paraffin, Parafilm o. ä. zu verschließen. Die auf Lager gehaltenen Kulturmedien müssen so verbraucht werden, daß jeweils die ältesten Medien zuerst verbraucht werden (first-in - first-out).
- Alle dehydrierten Kulturmedien, die verklumpt oder zusammengebacken oder stark verfärbt sind, dürfen nicht mehr verwendet werden.
- Die Herstellung und interne Qualitätsprüfung der Kulturmedien ist zu dokumentieren. Im Beiblatt 3 zu DIN 58 959 Teil 7 *) sind Vorschläge für eine Dokumentation auf Kontrollkarten aufgeführt.
- Gebrauchsfertige Kulturmedien müssen geschützt vor Sonnenlicht und Wärme aufbewahrt werden. Kulturmedien, die Blut und/oder andere organische Zusätze enthalten, müssen im Kühlschrank (2 bis 8) °C aufbewahrt werden.
- Für selbsthergestellte Kulturmedien müssen Haltbarkeitsdaten (verwendbar bis) festgelegt werden. Es können Erfahrungswerte der maximalen Aufbewahrungszeiten von gebrauchsfertigen Kulturmedien entsprechend Beiblatt 2 zu DIN 58 959 Teil 9 *) herangezogen werden.

4 Anforderungen an den Nachweis der Qualität von Kulturmedien mittels Kontrollstämmen

Anmerkung: Kulturmedien können im Laboratorium aus den verschiedenen Reagenzien, Nährbodenbestandteilen, dehydrierten Pulvern oder Granulaten selbst hergestellt oder als gebrauchsfertige Produkte von außerhalb bezogen werden. Anstelle der Fertigung aus den einzelnen Bestandteilen werden - sofern möglich - zur Eigenherstellung vorgefertigte, dehydrierte Kulturmedien empfohlen, da diese ökonomisch zu versenden, zu lagern und anzusetzen sind.

Der Qualitätsnachweis der Kulturmedien setzt die Einhaltung der im Abschnitt 3 aufgeführten Anforderungen voraus.

*) Z. Z. Entwurf

Fortsetzung Seite 2 bis 4

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



Documents
Document Sharing Hub

4.1 Qualitätsmerkmale

Neben der Prüfung der Leistungsfähigkeit der Kulturmedien sind bei der Qualitätsprüfung die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Kulturmedien mitzuprüfen wie z. B.:

- Schichtdicke
- Farbe
- Klarheit
- Füllmenge
- Präzipitationen (nicht kulturmedienbedingt)
- Gelstabilität
- Blasen im Kulturmedium
- Kontamination (Sterilität)
- pH-Wert

4.2 Kontrollstämme

Anforderungen nach DIN 58 959 Teil 6 *).

Empfohlene Kontrollstämme für häufig verwendete Kulturmedien, siehe Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 9 *) und [1].

4.3 Prüfhäufigkeit

a) Bei Fremdbezug:

- Für gebrauchsfertige Kulturmedien sind von dem Fremdersteller die spezifischen Merkmale des Kulturmediums zu garantieren und die Dokumentation nach Möglichkeit den einzelnen Chargen beizulegen, zumindest jedoch auf Anforderung zu übermitteln. Werden diese Voraussetzungen erfüllt, kann sich bei regelmäßigem Bezug von einem Hersteller die Qualitätskontrolle des Anwenders im Laboratorium auf eine 1- bis 2malige Prüfung jährlich beschränken. Werden gleiche Kulturmedien von verschiedenen Herstellern bezogen, sind die Kulturmedien jedes Herstellers einmal jährlich mit den im Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 9 *) empfohlenen Kontrollstämmen zu überprüfen. Aufgrund erhöhter Anforderungen bei der Herstellung sind jedoch die nachfolgend aufgeführten Kulturmedien bei jedem Bezug mindestens einmal mit den im Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 9 *) empfohlenen Kontrollstämmen zu prüfen:

- Campylobacter-Medien
- Thayer-Martin- und modifizierte Thayer-Martin-Medien (Kulturmedien für Neisserien)
- Kulturmedien für Bordetella spp.
- Kulturmedien, die nicht im Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 9 *) aufgeführt sind.

b) Bei Eigenherstellung:

- Von Kulturmedien, die aus ihren einzelnen Bestandteilen gefertigt werden, ist jede Charge zu prüfen.
- Bei Wechsel des Herstellers des Trockenmediums
- Kulturmedien, die aus dehydrierten Kulturmedien hergestellt werden, sind bei Gebrauch einer neuen Charge eines Trockenmediums zu prüfen, selten gebrauchte Kulturmedien jedoch mindestens viermal jährlich.
- Bei viel verwendeten Kulturmedien ist es ausreichend, daß nach erfolgreicher Prüfung von n-Chargen (empfohlen n = 5) nacheinander, nunmehr sporadisch geprüft wird, d. h. z. B. jede n-te (empfohlen n = 10 bis 20) weitere Charge bzw. einmal jährlich bzw. bei jeder neuen Charge des Trockenmediums.

4.4 Qualitätsprüfung

4.4.1 Physikalische Parameter

Füllmenge und Schichtdicke des Kulturmediums; Farbe, Klarheit, Blasen, Schlieren, Präzipitationen werden visuell überprüft und dokumentiert.

4.4.2 Chemische Parameter

Der pH-Wert des gebrauchsfertigen Kulturmediums muß auch dann jedes Mal überprüft werden, wenn die Kulturmedien aus dehydrierten Trockenmedien hergestellt werden. Ist kein temperaturkompensiertes pH-Meter vorhanden, ist die Messung erst nach Abkühlen des Kulturmediums auf Raumtemperatur durchzuführen. Feste Kulturmedien sollten nach deren Mazeration oder mit einer Oberflächen-elektrode gemessen werden. Weicht der pH-Wert um $\pm 0,2$ Einheiten vom festgelegten Wert ab, so darf die Charge nicht verwendet werden.

4.4.3 Biologische Parameter

4.4.3.1 Prüfung auf mikrobielle Kontamination

Es sollte sichergestellt sein, daß die Kontaminationsrate der selbst hergestellten Kulturmedien unter 5 % liegt.

Es sind 3 bis 5 % der hergestellten Platten oder Röhrchen, bei Selbsterstellung jedoch mindestens 5 Stück einer Charge des Kulturmediums auf mikrobielle Verunreinigungen zu prüfen.

Zur Prüfung auf eine mikrobielle Kontamination werden die Platten oder Röhrchen mindestens 48 bis 72 h bei $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ inkubiert.

Zeigen sich auf Platte/Schrägar zwei oder mehr Kolonien bzw. im flüssigen Kulturmedium Trübung durch gewachsene Mikroorganismen, so muß eine erweiterte Chargenprüfung erfolgen, bzw. die Charge verworfen werden, wenn die Kontaminationsrate über 5 % liegt.

4.4.3.2 Biologische Prüfungen

Die biologischen Prüfungen beziehen sich auf die qualitative Kontrolle von wachstumsfördernden und/oder wachstumshemmenden Eigenschaften, gegebenenfalls biologischen bzw. biochemischen Reaktionen sowie auf die quantitative Prüfung biologischer Leistungen (z. B. Leistungs-, Selektivitätskoeffizient, Wachstumstiter). Mit den im Beiblatt 1 zu DIN 58 959 Teil 9 *) empfohlenen Kontrollstämmen sollten die verschiedenen Kulturmedien auf ihre typischen Merkmale hin überprüft werden.

Hierzu werden die Gebrauchskulturen nach Erreichen der exponentialen Wachstumsphase mit steriler Ringer-Lösung so eingestellt, daß eine Trübung der Mikroorganismensuspension erreicht wird, die einem McFarland Standard von 0.5 entspricht (etwa 10^7 bis 10^8 KBE/ml ¹⁾).

*) Z. Z. Entwurf

¹⁾ KBE = koloniebildende Einheiten