

10.3 Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Mykobakteriologie

R. Kuchler, S. Rüscher-Gerdes, M. Abele-Horn, H. Blenk, H.-J. Boltze, L. Drath, B. Ganster, H. K. Geiss, U. Göbel, G. Haase, E. Heintschel von Heinegg, K. Janitschke, E. Kühnen, W. Mathys, U. Reischl, C. Schoerner, S. Ziesing

Anwendungsbereich	3
Räumlichkeiten	4
Laboratoriumsausrüstungen	4
Präanalytische Maßnahmen	4
Untersuchungsverfahren	5
Allgemeines	5
Schnellverfahren	5
Kulturelle Untersuchungsverfahren	5
Differenzierungsverfahren	6
Sicherstellung der Qualität der Untersuchungsverfahren	7
Allgemeines	7
Nährmedien	8
Färbungsverfahren	8
Differenzierungsverfahren	9
Befundberichte	9

4.1	Anwendungsbereich			
------------	--------------------------	--	--	--

Der Leistungsumfang in diesem Bereich variiert erheblich von einem Laboratorium zum anderen. Die Verfahrensweisen und -vorschriften sollen dem angebotenen Leistungsumfang entsprechen. Sicherheitsvorkehrungen, vor allem die Notwendigkeit biologischer Sicherheitswerkbanken, sollen vom Begutachter sorgfältig beurteilt werden.

Das Laboratorium soll seinen Leistungsumfang gemäß einer der unten bezeichneten Gruppen als Stufe I, II, III oder IV klassifizieren. Die Fragen dieser Checkliste sind nicht immer für alle Stufen relevant. Deshalb ist festgelegt, für welche Laborstufe(n) sie zutreffen. Erfolgt keine Festlegung, betrifft die Frage jede Laborstufe.

Siehe auch Checklisten für Medizinische Laboratorien
 Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Allgemeine Anforderungen

		U	O	Bemerkungen
4.1.1	Stufe I <i>Nur mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Stäbchen?</i>			(geändert)
4.1.2	Stufe II <i>Mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Stäbchen, kulturelle Untersuchung auf Mykobakterien,</i> Stufe IIa <i>Zusätzlich Differenzierung zwischen Tuberkulosebakterien und ubiquitären Mykobakterien; die definitive Identifizierung wird nicht selbst durchgeführt?</i>			(geändert)
4.1.3	Stufe III <i>Mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Stäbchen, kulturelle Untersuchung auf Mykobakterien, definitive Identifizierung von Bakterien der M. tuberculosis-Gruppe und ubiquitären Mykobakterien?</i>			(geändert)
4.1.4	Stufe IV <i>Mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Stäbchen, kulturelle Untersuchung auf Mykobakterien, Identifizierung von Mykobakterien in dem Umfang, der für die Diagnose und Unterstützung der Therapie notwendig ist, und Empfindlichkeitsprüfung von Tuberkulosebakterien?</i>			(geändert)
4.1.5	<i>Werden im mykobakteriologischen Laboratorium molekularbiologische Techniken und Untersuchungsverfahren eingesetzt?¹</i>			

¹ Wenn "JA", siehe auch Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Molekularbiologie in der Infektionsdiagnostik.

5.2	Räumlichkeiten			
------------	-----------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.2.1	Erfüllt das mykobakteriologische Laboratorium die nach der Gefährdungsbeurteilung gemäß der BioStoffV und der DIN EN 12128 erforderlichen räumlich-technischen Anforderungen?			(geändert)
5.2.2	Ist eine biologische Sicherheitswerkbank nach DIN 12590 Teil 1 für den Umgang mit Proben oder Kulturen vorhanden?			
5.2.3	Werden für die Probenzentrifugation dicht verschlossene Röhrchen (mit Schraubdeckel) und Zentrifugen mit Sicherheitsgehänge benutzt, um die Aerosolgefahr zu minimieren? ²			(geändert)

5.3	Laboratoriumsausrüstungen			
------------	----------------------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.3.1	Sind genügend verschiedene Spezies von Referenzkontrollorganismen für die Qualitätskontrolle des diagnostischen Leistungsumfanges vorhanden?			

5.4	Präanalytische Maßnahmen			
------------	---------------------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.4.1	Gibt es für die Einsender Vorschriften über die ordnungsgemäße Entnahme und den Versand (z.B. unverzüglich, in lecksicheren, fest verschlossenen Gefäßen) von Proben für mykobakterielle Untersuchungen?			(geändert)
5.4.2	Stehen geeignete Reagenzien zur Neutralisation von Magensaft zur Verfügung?			(neu)

² Die Zentrifugation sollte für 20 min mit einer RZB (relative Zentrifugalbeschleunigung) $\geq 3300 \times g$ bei einer Rotorraumtemperatur von $16 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt werden.

5.5	Untersuchungsverfahren			
------------	-------------------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.5.1	Allgemeines			
5.5.1.1	Liegen die Empfehlungen des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose über die Bakteriologie der Tuberkulose, die Normen der DIN-Normenreihe 58943 zur Tuberkulosedagnostik und die MIQ 5 Tuberkulose/ Mykobakteriose vor?			
5.5.1.2	Entsprechen die im Laboratorium durchgeführten Untersuchungsverfahren hinsichtlich Umfang und Qualität den durch die MIQ 5, die Empfehlungen des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose und die DIN-Normen festgelegten Minimalstandards?			

5.5.2	Schnellverfahren			
--------------	-------------------------	--	--	--

Die Laboratorien sollen die schnellsten und zuverlässigsten Verfahren zum Nachweis, zur Isolierung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung von Mykobakterien, vor allem von Tuberkulosebakterien, anwenden können.

		U	O	Bemerkungen
5.5.2.1	Wird von geeignetem Untersuchungsgut bei entsprechender Indikation innerhalb von 24 h ein mikroskopischer Befund erstellt?			(neu)
5.5.2.2 II, III, IV	Wird bei geeignetem Untersuchungsgut ein Nukleinsäureamplifikationsverfahren zum Direktnachweis von Tuberkulosebakterien angewandt?			(geändert)
5.5.2.3 IIa, III, IV	Werden molekularbiologische Verfahren zur Differenzierung von Mykobakterien eingesetzt?			(neu)
5.5.2.4 IV	Werden Empfindlichkeitstestungen auch als "Schnellteste" innerhalb von 5 - 10 Tagen durchgeführt?			

		U	O	Bemerkungen
5.5.3	Kulturelle Untersuchungsverfahren			
5.5.3.1	Erfolgt die Probenvorbehandlung mit einem Verfahren, das den internationalen Qualitätsstandards entspricht (s. 5.5.1)?			
5.5.3.2	Werden Primärkulturen mit mindestens zwei festen und einem flüssigen Nährmedium durchgeführt?			

		U	O	Bemerkungen
5.5.3.3	Werden Kulturen von Haut- und ggf. anderen Gewebeproben auch bei 30 °C kultiviert und entsprechend supplementiert (z.B. Hämin)?			(geändert)

5.5.4	Differenzierungsverfahren			
--------------	----------------------------------	--	--	--

Zur vollständigen Identifizierung angezüchteter Mykobakterien müssen die Temperaturanforderungen für das Wachstum und die Pigmentbildung untersucht werden.

		U	O	Bemerkungen
5.5.4.1 III, IV	Werden ggf. die Temperaturanforderungen und die Pigmentbildung untersucht? Wenn "NEIN", geben Sie bitte den (die) Mangelbereich(e) an: <input type="checkbox"/> Bei 22-32 °C <input type="checkbox"/> Bei 35 - 37 °C <input type="checkbox"/> Bei 42 °C <input type="checkbox"/> Untersuchung der Photoreaktivität			
5.5.4.2 III, IV	Stehen geeignete biochemische Differenzierungsverfahren zur Verfügung, die dem Grad der Identifizierung angemessen sind? Wenn "NEIN", geben Sie bitte den (die) Mangelbereich(e) an: <input type="checkbox"/> Nitratreduktasetest <input type="checkbox"/> Hitzelabile Katalase (68 °C-Katalase) <input type="checkbox"/> Semiquantitativer Katalasetest <input type="checkbox"/> Arylsulfatasetest <input type="checkbox"/> Niacintest <input type="checkbox"/> Tween-80-Hydrolyse <input type="checkbox"/> Ureasereaktion <input type="checkbox"/> Prüfung des Sauerstoffbedarfes <input type="checkbox"/> Prüfung auf Eisenaufnahme			(geändert)

		U	O	Bemerkungen
5.5.4.3 III, IV	Stehen Verfahren zur Identifizierung von Tuberkulosebakterien (z.B. <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. caprae</i> , BCG-Stamm, <i>M. africanum</i>) zur Verfügung?			(neu)
5.5.4.4 III, IV	<p>Wird im Laboratorium eines der folgenden Verfahren zur Identifizierung von Mykobakterien durchgeführt:³</p> <p><input type="checkbox"/> DNA-rRNA-Hybridisierung (z.B. Accu Probe Assay[®])?</p> <p><input type="checkbox"/> Sequenzspezifische Detektion von Amplifikationsprodukten mittels reverser Blot-hybridisierung (Line Probe Assay)?</p> <p><input type="checkbox"/> GC-Analyse von mykobakteriellen Zellwandbestandteilen?</p> <p><input type="checkbox"/> HPLC-Analyse von mykobakteriellen Zellwandbestandteilen?</p> <p><input type="checkbox"/> Sequenzierung speziesspezifischer Genabschnitte?</p> <p>Werden die so gewonnenen Ergebnisse einer Plausibilitätsprüfung bezüglich der phänotypischen Eigenschaften unterzogen</p>			(geändert)

5.6	Sicherstellung der Qualität der Untersuchungsverfahren			
-----	--	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.6.1	Allgemeines			
5.6.1.1	Wird die Wiederfindungsrate in festgelegten Abständen durch Mitbehandlung einer Suspension von <i>M. fortuitum</i> und Überimpfung auf feste Medien überprüft?			
5.6.1.2	Werden statistische Parameter, wie z.B. die Kontaminationsrate oder Positivitätsrate, entsprechend MIQ 5 (Kap. 13.2) kontinuierlich statistisch erfasst?			(neu)
5.6.1.3	Werden aus diesen Auswertungen ggf. Konsequenzen gezogen?			(neu)

³ Laboratorien der Stufe IV sollen mindestens eine der 3 letztgenannten Methoden zur Differenzierung von Mykobakterien etabliert haben.

		U	O	Bemerkungen
5.6.1.4	Werden ausreichende Maßnahmen zur Kontaminationsvermeidung (Verschleppung von Mykobakterien) getroffen (z.B. Verwendung von Einmalröhrchen, -pipetten usw., keine Benutzung von Pipettierhilfen, kein gleichzeitiges Öffnen mehrerer Probengefäße)?			(neu)

5.6.2	Nährmedien			
--------------	-------------------	--	--	--

Zur guten Laborpraxis gehört die Kontrolle aller verwendeten Nährmedien (vgl. auch Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Bakteriologie, Abschnitt 5.6.1).

		U	O	Bemerkungen
5.6.2.1 II, III, IV	Sind alle Medien nach Inaugenscheinnahme in einem zufrieden stellenden Zustand (mit Herstellungs- und Verfalldatum, richtige Farbe, ausreichend hydriert, nicht kontaminiert, in Röhrchen befindliche Medien von den Seiten her nicht eingetrocknet oder lose)?			
5.6.2.2 II, III, IV	Wird eine geeignete Stichprobe aller vom Laboratorium selbst hergestellten Medien kontrolliert auf: <input type="checkbox"/> Sterilität (nach dem Zusatz von Additiven nach der Sterilisierung)? <input type="checkbox"/> Fähigkeit der Wachstumsförderung anhand von Referenzkontrollkulturen und/oder paralleler Prüfung im Vergleich mit früheren Chargen? <input type="checkbox"/> Ggf. biochemische Reaktivität? <input type="checkbox"/> Ggf. Selektivität?			

		U	O	Bemerkungen
5.6.3	Färbungsverfahren			
5.6.3.1	Werden bei allen Färbungen zum Nachweis säurefester Stäbchen bei jeder Durchführung Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt, und die Ergebnisse protokolliert? ⁴			
5.6.3.2	Ist bei Laboratorien, die keine Kulturen anlegen, eine ausreichend große Zahl von ungefärbten Kontrollpräparaten mit säurefesten Bakterien vorhanden, so dass bei jeder Färbung ein Kontrollpräparat mitgeführt werden kann?			

⁴ Eine Negativkontrolle ist bei Färbungen mit Fluoreszenzfarbstoffen (z.B. Auramin, Acridinorange) immer notwendig. Bei Hellfeld-Methoden (z.B. Ziehl-Neelsen-, Kinyoun-Färbung) kann bei überwiegendem Vorkommen negativer Befunde auf die Negativkontrolle verzichtet werden.

		U	O	Bemerkungen
5.6.4	Differenzierungsverfahren			
5.6.4.1 III, IV	Werden alle biochemischen Teste an jedem Tag der Anwendung mit geeigneten Positivkontrollen überprüft, und die Ergebnisse protokolliert? ⁵			
5.6.4.2 III, IV	Gibt es ein System zur Überprüfung der Plausibilität der Identifizierung von Mykobakterien mittels DNA-Sonden?			

5.8	Befundberichte			
-----	----------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.8.1	Werden Ergebnisse säurefester Färbungen bei dringendem klinischen Verdacht innerhalb von 24 Std. nach Eingang der Probe vom Laboratorium mitgeteilt?			(geändert)
5.8.2 IV	Sind die Ergebnisse der Differenzierung und von Empfindlichkeitstesten zeitgerecht verfügbar?			(geändert)

⁵ Die Prüfung der Eisenaufnahme erfordert sowohl eine Positiv- als auch eine Negativkontrolle.

