

**April
2020**



INSTAND

Begleitheft

**Informationen zur Testdurchführung
Bakteriologie Gr. 411**

**Behandeln Sie bitte die Proben
wie Patientenproben!**

Aktualisierung im Ringversuch 411

gültig ab	Aktualisierung
B1-2020	Hinweis zu Rückfragen aktualisiert (Ergänzende Hinweise, 10.)
B3-2019	Onlineerfassung der Werteingabe unter https://www.instand-ev.de/ringversuche-online.html und damit verbundene Überarbeitung des Begleitheftes
B1-2019	Kodierung der Neudefinition der "intermediär"-Kategorie nach EUCAST, bzw. EUCAST+NAK in der Empfindlichkeitsprüfung. Überarbeitung der Codetabellen und der dazugehörigen Benutzeranleitung.
B1-2018	Aktualisierung des Hinweises zur Taxonomie der Enterobacteriaceae/ Enterobacterales
B3-2017	Hinweis zur neuen Taxonomie der Enterobacteriaceae/ Enterobacterales
	Hinweis zu abgeleiteten Bewertungen von Antibiotika
B1-2017	Link für die Ergebnisveröffentlichung aktualisiert
B4-2016	Überarbeitung der Code-Tabellen
B3-2016	Überarbeitung der Code-Tabellen, insbesondere zu Code 6
B1-2016	Einführung der Bewertungsmöglichkeit zur Empfindlichkeitsprüfung nach EUCAST mit den modifizierten Bewertungsgrenzen des Nationalen Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitees (NAK) – Webseite: www.NAK-Deutschland.org Überarbeitung der Code-Tabellen, insbesondere Ergänzungen zu Code 4
B2-2015	Wegfall der Codierung „3“ = „Testung nicht zu bewerten“ in der Empfindlichkeitsprüfung
B1-2015	Neue Antibiotika und Zusammenstellungen
B1-2015	Zu Ihrer Information: die DIN-Normen zur Empfindlichkeitsprüfung (Normenreihe 58940) wurden zum Jahresende 2014 ersatzlos zurückgezogen. Damit ist die Anwendung nicht mehr zulässig.
2014	Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung nur noch nach den Normenwerken CLSI und EUCAST (www.EUCAST.org) zulässig
2014	Gram-Färbung und zugehörige Code-Tabellen (7-9)



Ergebnisse ab **22.04.2020**
unter www.instand-ev.de

Mikrobiologischer Ringversuch **B2/2020** inkl. Gram-Färbung

Sehr geehrte Frau Kollegin,
sehr geehrter Herr Kollege,

anbei erhalten Sie die Proben für den mikrobiologischen Ringversuch der Reihe B.
Sie bestehen wiederum aus getrockneten Stämmen in Schraubröhrchen. Das Vorgehen zur Anzucht ist unter 'Ergänzende Informationen' beschrieben.

Herkunft der Proben:

Probe 1: Urin bei unkompliziertem Harnwegsinfekt
Probe 2: Urin bei unkompliziertem Harnwegsinfekt
Probe 3: Urin bei unkompliziertem Harnwegsinfekt

Aufgabenstellung:

1. Soweit Sie in Ihrem Labor Gram-Färbungen durchführen, nehmen Sie bitte am Teil Gram-färbung teil. Bei erfolgreicher Teilnahme wird ein Zertifikat ausgestellt und die Anforderung der RiliBÄK B3 zur externen Qualitätskontrolle des Parameters „Gram-Färbung“ ist erfüllt.
2. Identifizierung der Stämme bis zu der Stufe, die eine sichere Basis für die diagnostische Beurteilung der Mikroorganismen liefert.
3. Sensibilitätsprüfung gegenüber den unten genannten Antibiotika entsprechend dem von Ihnen gewählten und zwingend beim Werteeintrag anzugebenden Normenwerk.
Für Teilnehmer aus Deutschland ist die Bewertung nach NAK zur Sicherung der Konsistenz mit der Zulassung von Antiinfektiva durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) empfohlen.
Geben Sie bitte die verwendete Norm im entsprechenden Markierungsfeld an:
 - CLSI
 - EUCAST (www.EUCAST.org)
 - EUCAST + NAK (www.NAK-Deutschland.org)
4. Einhaltung des vorgegebenen Zeitlimits für die Bearbeitung.

Ergänzende Hinweise:

1. Die Werteingabe der Ergebnisse des Ringversuchs erfolgt ab sofort ausschließlich papierlos über <https://www.instand-ev.de/ringversuche-online/online-bestellung-und-ergebnisseingabe/>. Dort stehen sowohl eine Kurzanleitung „Onlineanmeldung“ als auch eine „Anleitung RV-Online“ zum Download zur Verfügung. Um Ihnen die Dokumentation der Daten im Labor zu erleichtern, finden Sie im Bereich Werteingabe einen Laufzettel zur laborinternen Protokollierung der geforderten Parameter.
Nach erfolgter Ergebniseingabe können Sie mit dem Button „Druckvorschau“ Ihre abgegebenen Resultate ausdrucken oder im PDF-Format speichern. Wir empfehlen Ihnen, jeden Ringversuch auszudrucken / zu speichern, da dies als Nachweis für die fristgerechte Eingabe Ihrer Werte dienen kann.
2. Zur Empfindlichkeitsprüfung sind die zu testenden Antibiotika nach ihrer Zugehörigkeit zur Gruppe der grampositiven, bzw. gramnegativen Bakterien entsprechend der untenstehenden Tabelle auszuwählen. Dabei gilt zusätzlich:
 - a. Es ist in der Verantwortung des Teilnehmers, die richtige Antibiotika-Zusammensetzung auszuwählen.
 - b. Es sind nur Bewertungen zu dokumentieren, die nach der jeweiligen Norm ermittelt werden können. Ist dies nicht möglich, sind die Felder leer zu lassen.
 - c. In jedem Fall gelten die Antibiotika als bewertbar, für die die jeweilige Norm nach Technik und Keimart Bewertungsgrenzen (breakpoints) vorgibt. Darüber hinaus ist zu beachten, dass normenkonform auch Antibiotika bewertbar sind, für die zwar keine Bewertungsgrenzen, jedoch Vorgaben zur Ableitung der Bewertung von anderen Testergebnissen verfügbar sind. Dies betrifft für die Antibiotikaauswahl im Ringversuch z.B. nach EUCAST:

Keimart	Bewertetes Antibiotikum	Bewertung abgeleitet für
<i>Staphylococcus aureus</i> u. <i>lugdunensis</i>	Penicillin	Ampicillin
<i>Staphylococcus spp.</i>	Cefoxitin-Screen oder Oxacillin	Oxacillin, Cefpodoxim-Proxetil
<i>Streptococcus</i> Gr. A, B, C und G	Penicillin	Ampicillin, Cefpodoxim-Proxetil

Die Ringversuchsleitung legt die Mindestzahl der zu testenden Antibiotika nach den Substanzen fest, für die Bewertungsgrenzen benannt sind. Die Angabe von abgeleiteten Bewertungen durch die Teilnehmer ist jedoch in jedem Fall sinnvoll, da sich bei einer höheren Zahl von Testungen die Auswirkung von falschen Bestimmungen reduziert. Es sind mindestens 6 der 8 Antibiotika zu testen. Sind nach der Normenvorgabe weniger als 6 Antibiotika bewertbar, sind diese vollständig anzugeben.

- d. Zur Bewertung der Ergebnisse ist die jeweils zum Zeitpunkt des Probenversandes gültige Version des jeweiligen Normenwerkes maßgebend.
- e. Mögliche Werte für die ermittelten Empfindlichkeitsstufen sind:
 - resistent
 - intermediär (CLSI) bzw. sensibel bei erhöhter Exposition (EUCAST +/-NAK)
 - sensibel
 - nicht durchgeführt

Die im Jahr 2019 von EUCAST eingeführte Neudefinition der intermediären Kategorie mit der neuen Bedeutung „I“ = „sensibel bei erhöhter Exposition“ wird berücksichtigt. Nähere Erläuterungen finden Sie auf den Webseiten von EUCAST (www.eucast.org), bzw. des Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK; www.nak-deutschland.org).

Zu testende Antibiotika für:

Antibiotika-Auswahl	Grampositive Bakterien*	Gramnegative Bakterien*
Penicillin	Penicillin	-
Ampicillin	Ampicillin	-
Ampicillin/Sulbactam	-	Ampicillin/Sulbactam
Oxacillin	Oxacillin	-
Cefpodoxim-Proxetil	Cefpodoxim-Proxetil	Cefpodoxim-Proxetil
Ceftazidim	-	Ceftazidim
Meropenem	-	Meropenem
Gentamicin	Gentamicin	Gentamicin
Ciprofloxacin	Ciprofloxacin	Ciprofloxacin
Nitrofurantoin	Nitrofurantoin	Nitrofurantoin
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	Trimethoprim/Sulfamethoxazol	Trimethoprim/Sulfamethoxazol

* In der Online-Werteingabe sind die Antibiotika entsprechend der Zuordnung für die Bakteriengruppen farblich gekennzeichnet: blau – nur bei grampositiven Bakterien, rot - nur bei gramnegativen Bakterien sowie schwarz - bei allen Bakterien.

- Seit Dezember 2016 gilt für Enterobacteriaceae eine überarbeitete Nomenklatur. Aufgrund phylogenetischer Analysen sind viele der ehemals in der Familie der Enterobacteriaceae geführten Genera und Spezies in neue Familien überführt worden, die nun unter einer ebenfalls neuen Ordnung „Enterobacterales“ geführt werden. Davon sind die ggf. im Rahmen des Ringversuches relevanten Genera *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Serratia*, *Yersinia*, *Rahnella*, *Hafnia*, *Pantoea*, *Moellerella*, *Budvicia*, *Erwinia*, *Tatumella* betroffen. Die EUCAST Norm berücksichtigt die neue Nomenklatur seit 2018. Danach gelten die Bewertungsgrenzen für Enterobacteriaceae für alle Enterobacterales nach neuer Nomenklatur. Die CLSI berücksichtigt die Änderungen der Nomenklatur auch 2019 noch nicht. Für den Ringversuchsteil Empfindlichkeitsprüfung gilt daher ggf., dass nach CLSI die Tabellen für Enterobacteriaceae anzuwenden sind.
- Die Aufgabe kann nicht als gelöst gewertet werden, wenn die Frist bis zur Eingabe der Ergebnisse überschritten wird.
- In der Werteeingabe ist mit einer Ausnahme in den Feldern jeweils nur ein Ergebnis möglich. Die Ausnahme stellt das Feld „Bewertung, Klassifikation, Meldepflicht nach Infektionsschutzgesetz“ dar, in dem Mehrfachangaben möglich sind.
- Bewertungen bitte strikt nach vorgegebener Nummernfolge der Proben bei der Werteeingabe eintragen. Die Ringversuchsleitung wird falsche Zuordnungen nicht korrigieren.

7. Ergebnisse spätestens am **15.04.2020** unter „**rv-online.instandev.de**“ erfassen.
8. Sie sollten die Stämme bis zum Eintreffen der Ringversuchsauswertung aufheben (Möglichkeit der Nachkontrolle bei falschem Ergebnis).
9. Nach Einsendeschluss können Sie das Ergebnis der drei Proben im Internet unter www.instandev.de/aktuelles/ sowie unter https://www.instand.ev.de/no_cache/ringversuche-online/ringversuche-service/ ab dem **22.04.2020** einsehen.
10. Rückfragen richten Sie bitte
 - a. zur Aussendung des Ringversuchs sowie zur Online-Erfassung an INSTAND e. V.,
Tel. +49-211-1592130
 - b. zur Bearbeitung des Ringversuchs sowie Reklamationen an das Institut der Ringversuchsleitung unter der Telefonnummer +49-511-532-4368.

Viel Erfolg und besten Dank für die Zusammenarbeit.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. D. Schlüter
Ringversuchsleiter

OA Dr. med. S. Ziesing
Stellv. Ringversuchsleiter

ERGÄNZENDE INFORMATIONEN

Rehydrierung und Anzuchtung der Stämme

Die zu prüfenden Kulturen (Bezeichnung 1 bis 3) wurden nach einem Spezialverfahren unter Zusatz von Gelatine und Kohlepulver getrocknet. Zur Erhaltung ihrer Lebensfähigkeit sollten sie bis zur Verwendung ungeöffnet im Kühlschrank, besser im Tiefkühlschrank, aufbewahrt werden. Die Lebensfähigkeit beträgt dann im Allgemeinen mindestens 3 Monate.

Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, sollte jede Probe einzeln geöffnet, rekonstituiert und abgeimpft werden.

Zur Anzuchtung der Stämme wird folgendes Verfahren empfohlen:

1. Schraubkappenröhrchen der Verpackung entnehmen.
2. Den Röhrchen jeweils 0,2 - 0,3 ml einer sterilen Nährlösung, die keine selektiven Zusätze enthalten dürfen, zusetzen. Sie können hierzu das beigefügte Medium verwenden. Anschließend die Röhrchen mit festgedrehter Schraubkappe in einen Brutschrank (30 - 36° C) stellen.
3. Nach etwa 30 Minuten wird der Inhalt der Röhrchen durch kräftiges Schütteln gemischt. Die ursprünglich vorhandene, durch Kohlepulver schwarz gefärbte Schicht am Boden der Schraubröhrchen sollte nach dem Schütteln vollständig gelöst sein. Bitte die Suspension auch dann weiterverarbeiten, wenn keine sichtbare Trübung zu erkennen ist.
4. Bitte beimpfen Sie mit der Keimsuspension die Medien, die Sie auch in Ihrem Labor für das angegebene Material verwenden würden, und inkubieren diese bei 36°C.
5. Sie sollten darauf achten, dass, ungeachtet Ihrer sonstigen Materialanlage, immer ein Rest der Keimsuspension in ein flüssiges Nährmedium als Anreicherung überführt wird, das ebenfalls bei 36°C inkubiert werden sollte. Falls auf den parallel angelegten Agarmedien nach 24 bis 48 Stunden kein Wachstum zu erkennen ist, sollten Sie die Flüssigkeit überimpfen.
6. Einige empfindliche Stämme lassen sich nicht mit Hilfe des obigen Trocknungsverfahrens konservieren. Alternativ werden solche Kulturen in kleinen Röhrchen mit Agar geliefert. Bitte geben Sie ca. 0,1ml Nährlösung zu dem Agar. Mischen Sie diese Lösung mit dem Bakterienfilm (z.B. mit Hilfe einer Impföse oder einer sterilen Pipette). Verfahren Sie dann bitte weiter wie unter den Punkten 4 und 5 beschrieben.