

Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie

Teil 6: Anforderungen an Kontrollstämme
Beispiele zur Herstellung und Aufbewahrung
von Pilzen als Stamm- und Gebrauchskulturen

Beiblatt 2
zu
DIN 58959-6

ICS 07.100.10

Ersatz für
DIN 58941-3 Bbl 1:1984-05

Deskriptoren: Qualitätsmanagement, Mikrobiologie, Medizin

Quality management in medical microbiology – Part 6: Requirements for control strains – Examples for production and preservation of fungi used as stock cultures and working cultures

Management de la qualité en microbiologie médicale – Partie 6: Exigences pour souches contrôles – Exemples pour la préparation et conservation de champignons utilisées comme cultures stock et cultures de travail

Dieses Beiblatt enthält Informationen zu DIN 58959-6,
jedoch keine zusätzlichen genormten Festlegungen.

*This supplement contains information regarding DIN 58959-6,
yet no additional standardized requirements.*

In case of doubt, the German-language version should be referred to as the authoritative text.

Vorwort

Dieses Beiblatt wurde vom Normenausschuß Medizin, Arbeitsausschuß E12 "Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie" erarbeitet.

Die Normen und Beiblätter der Reihe DIN 58959 "Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie" sind im Beiblatt 1 "Übersicht und Stichwortverzeichnis" zu DIN 58959 aufgeführt.

Frühere Ausgaben

Gegenüber DIN 58941-3 Bbl 1:1984-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

Die Festlegungen wurden redaktionell überarbeitet, dem neuesten wissenschaftlichen Stand angepaßt, in die Normen der Reihe DIN 58959 eingegliedert und damit auf den Anwendungsbereich der gesamten medizinischen Mikrobiologie erweitert.

DIN 58941-3 Bbl 1:1984-05

Foreword

This supplement was drafted by the Normenausschuß Medizin (medical standards department), technical committee E12 "Quality management in medical microbiology".

The standards and supplements of the series DIN 58959 "Quality management in medical microbiology" are listed in supplement 1 "Overview and index" to DIN 58959.

Amendments

In comparison to DIN 58941-3 Bbl 1:1984-05 the following amendments were made:

The content was revised editorially, adapted to the scientific state-of-the-art, integrated into the standards of the series DIN 58959 and therefore amended to encompass the entire scope of medical microbiology as the field of application.

Fortsetzung Seite 2 bis 6
Continued on pages 2 to 6

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

Einleitung

In diesem Beiblatt sind derzeit gebräuchliche Methoden und Kulturmedien zur Herstellung und Aufbewahrung von Pilzen als Stamm- und Gebrauchskulturen für das mikrobiologische Laboratorium aufgeführt.

1 Gebräuchliche Kulturmedien [1], [2], [3], sofern nicht anders angegeben, zur Anzucht von Referenzstämmen sowie Herstellung von Stamm- und Gebrauchskulturen

1.1 Kulturmedien¹⁾

- Sabouraud-Agar, modifiziert [3]
- Sabouraud-Bouillon
- Malzextrakt-Agar
- Malzextrakt-Bouillon
- Czapek-Dox-Agar
- Kimmig-Agar
- Yeast-Nitrogen-Agar (YN-Agar)
- Yeast-Nitrogen-Bouillon (YN-Bouillon)

1.2 Zusammensetzung

Die Kulturmedien sind nach den Angaben der Hersteller herzustellen und zu verwenden.

2 Möglichkeiten zur Herstellung und anschließenden Aufbewahrung von Stammkulturen und Gebrauchskulturen¹⁾

2.1 Stammkulturen

2.1.1 Stammkulturen auf Schrägagar

Ausgehend von den angezüchteten Referenzstämmen werden Schrägagarkulturen auf Sabouraud-Agar, Malzextrakt-Agar, Czapek-Dox-Agar oder supplementiertem YN-Agar angelegt und so lange bei 22 °C bzw. 25 °C bebrütet, bis diese gut entwickelt (optimaler Reifezustand) sind.

Die Kulturen werden so verschlossen, daß sie mindestens 10 Wochen ohne Austrocknen gelagert werden können. Dazu eignen sich z. B. sterilisierbare, hydrophobe Silikon-Schwamm-Stopfen, die einen Gasaustausch gewährleisten, aber weitgehend wasserdampfdurchlässig sind. Die Verwendung von Schraubkappen oder das Versiegeln der Kulturen mit Paraffinwachs führt häufig zum Absterben der Kulturen durch Anreicherung von CO₂ bzw. Sauerstoffmangel.

Möglich ist, die gut angewachsenen Kulturen mit sterilem Paraffinöl zu überschichten; das Öl muß dabei mindestens 1 cm oberhalb des oberen Randes der Agarschicht stehen. Zur Sterilisation wird das Paraffinöl in Portionen von höchstens 100 ml in verschließbare Gefäße abgefüllt und mindestens 2 h bei 170 °C im Trockenschrank sterilisiert.

Bei der Aufbewahrung von Pilz-Agarkulturen ist mit einem Befall durch Pilzmilben zu rechnen. Diese verunreinigen und zerstören die Kulturen. Milbenbefall ist anfangs mit bloßem Auge nicht zu erkennen und führt zur raschen Zerstörung einer Sammlung. Die früher gebräuchliche Vergif-

¹⁾ Über die Bezugsquelle gibt Auskunft: Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin)

Introduction

This supplement contains commonly used methods and culture media for production and preservation of fungi as stock cultures in the microbiological laboratory.

1 Frequently used culture media [1], [2], [3], unless otherwise stated, used for the culture of reference strains and stock and working cultures

1.1 Culture media¹⁾

- Sabouraud agar, modified [3]
- Sabouraud broth
- Malt extract agar
- Malt extract broth
- Czapek Dox agar
- Kimmig agar
- Yeast nitrogen agar (YN-agar)
- Yeast nitrogen broth (YN-broth)

1.2 Composition

The culture media shall be made up and used according to the instructions issued by the manufacturer.

2 Possibilities for preparing and subsequent storing of stock and working cultures¹⁾

2.1 Stock Cultures

2.1.1 Stock cultures on slope

Slope cultures from culture reference strains are set up on Sabouraud agar, Malt extract agar, Czapek Dox agar or supplemented YN-agar and kept at 22 °C resp. 25 °C until they are well developed (optimum stage of maturation).

The cultures are to be sealed in such a way, that they can be maintained for at least 10 weeks. For this purpose e.g. sterilizable hydrophobic silicon sponge stoppers are suitable, which allow gas-exchange, however, are almost water-vapor impermeable. The use of screw caps or sealing with paraffine-waxes frequently causes the death of the cultures due to accumulation of CO₂ respectively oxygen deficiency.

A possibility is to overlay well grown cultures with sterile paraffine oil; the oil shall extend the rim of the agar slant of at least 1 cm. For sterilization of paraffine oil it is divided in portions of a maximum of 100 ml in sealable containers and be heated in an oven at 170 °C for at least 2 hours.

By maintaining fungal agar-cultures, the possibility of the contamination with mites has to be considered. They contaminate and destroy the cultures. Mite-infection may not be recognized in the beginning by the naked eye and leads to rapid destruction of a strain collection. The former usage

¹⁾ Information on the supplier by: Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., 10772 Berlin (Street address: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin)