Niedersächsisches Landesgesundheitsamt

Aktueller Stand und Entwicklungen bei den Ringversuchen des NLGA

Dr. Katrin Luden

12. Jahrestagung Ringversuche
02.03.2011 Osnabrück

Roesebeckstr. 4-6
30449 Hannover
Fon 0511/4505-0
Fax 0511/4505-140

Lüchtenburger Weg 24
26603 Aurich
Fon 04941/9171-0
Fax 04941/9171-10

www.nlga.niedersachsen.de

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt

Rückblick 2010

Parameter	I (Jan)	II (März)	III (Juni)	IV (Sept.)
E. coli / Coliforme Bakterien				
Koloniezahl bei 22°C und 36°C				
Intestinale Enterokokken				
Pseudomonas aeruginosa				
Clostridium perfringens				
Legionellen				
EU-Badegewässer				
Bakteriophagen				
Chemische Parameter				

Rückblick 2010

Parameter	I (Jan)	II (März)	III (Juni)	IV (Sept.)
E. coli / Coliforme Bakterien	454	385	295	327
Koloniezahl bei 22°C und 36°C	530	437	326	373
Intestinale Enterokokken	415	346	249	288
Pseudomonas aeruginosa	396			283
Clostridium perfringens		324	235	
Legionellen	351		241	
EU-Badegewässer		152		
Bakteriophagen				26
Chemische Parameter	~ 150	~ 150		~ 150
Anzahl Labore	**523**	**472**	**393**	**424**

Koloniezahlbestimmung (RV II-2010)

- Einzelne Ergebnispaare wiesen eine überraschend hohe Diskrepanz zwischen den Ergebnissen für die unterschiedlichen Temperaturen auf.
- Standardabweichungen ähnlich denen der letzten Ringversuche
- Qualitätskontrollen unauffällig und passend zu den Teilnehmerergebnissen
- Auswertung (Mitte Mai 2010)
- Ende Mai erstes Telefonat wegen auffälliger/untypischer Kolonien in der Ringversuchsprobe- Kontamination?

Vorbereitungen

Qualitätskontrolle: Koloniezahlen Gruppe A

Versand

Do	Fr	Sa	So	Mo	Di	Mi	Do	Fr	Sa	So	Mo	Di	Mi	Do	Fr
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	20 AF+NF	1	1	1

nachgeimpft

Vortest

7 Proben mit je 10 Parallelen (TVO 1990)

Stabilitätstest

9 Proben mit je 10 Parallelen (TVO 1990)

20er Test zur Prüfung der Verteilung: **20** Proben im Einfachansatz (TVO 1990 und DIN 6222)

Summe

36 Proben und 190 Ansätze

Gruppe A hatte 140 TN AF und 82 TN NF (~ 180) TN

Keinerlei Auffälligkeiten

Qualitätskontrollen Gruppe A

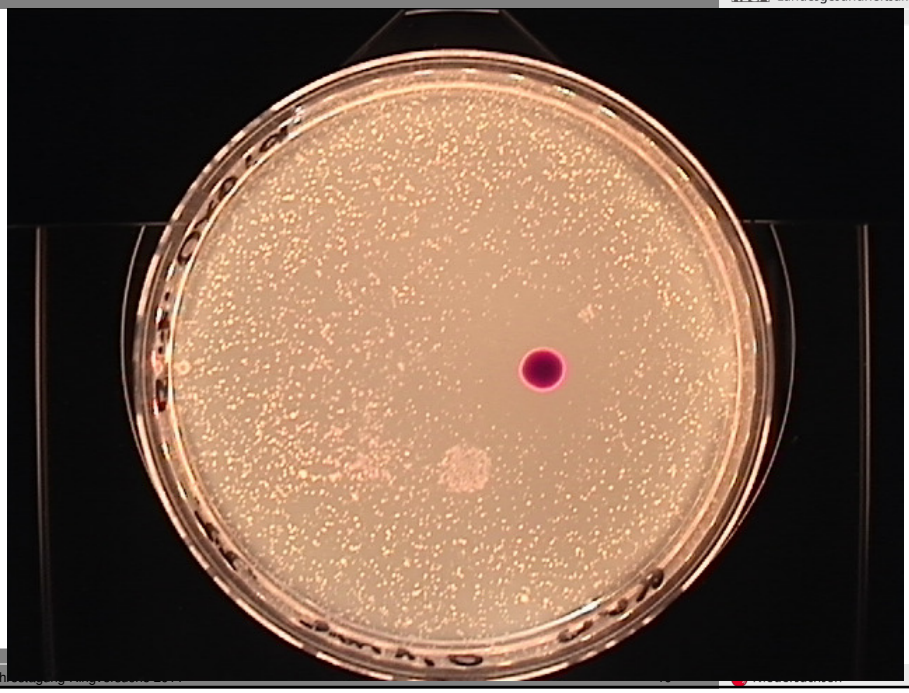
- **Konzentrationsbestimmung und Reinheitskontrolle**: Täglich Prüfung aller konzentrierten Bakterien-suspensionen (2x 3 Platten Selektiv- und nicht-)
- **Sterilkontrolle Flaschen:** die Gammasterilen Flaschen werden pro Ringversuch 10 Flaschen mit je 10 ml nichtselektivem Nährmedium befüllt und für 2 Tage bei 36°C bebrütet. Es darf kein Wachstum nachweisbar sein.

Zusatzuntersuchungen I

- Sterilkontrolle von 10 Flaschen der im Ringversuch II verwendeten Charge bei 20°C
- Nachkontrolle der Bakterienstammsuspensionen von *E. coli*, *Serratia marcescens* und *Pseudomonas aeruginosa*.
  - Ähnliche Anzahl Organismen bei 20/22°C und 36°C
  - Ähnliche Anzahl Organismen bei beiden Verfahren
  - kein zusätzliches Wachstum nach verlängerter Inkubation
  - Nur typische Koloniemorphologie erkennbar

Zusatzuntersuchungen II

- Untersuchung und Charakterisierung mehrerer verdächtiger Isolate:
  - aus einer Ringversuchsprobe mit sehr hoher Koloniezahl Labor A
  - aus einer Ringversuchsprobe mit sehr hoher Koloniezahl Labor B
  - „eigenes“ Isolat aus der ursprünglichen Probe Labor B



Charakterisierung der Isolate

- Psychrophil: langsames Wachstum bei 20 bzw. 22°C
  kein Wachstum bei 36°C
- gelblich pigmentiert
- Oxidase-positiv
- Gram-negativ

- Sequenzierung: *Sejongia antarctica*
  Spezies erst vor wenigen Jahren von Antarktisexpedition isoliert...

Referenzlabor für Gram-negative Krankenhauserreger an der Universität Bochum, MALDI-TOF-MS Analyse und Sequenzierung der 16S-rDNA

Ergebnis bestätigt durch Materialprüfungsanstalt Bremen

Fazit und Konsequenzen

- ***Einige Teilproben des Koloniezahlringversuchs waren möglicherweise kontaminiert.***

- Weitere qualitätssichernde Maßnahmen in den einzelnen Arbeitsschritten
- Information aller betroffenen Teilnehmer als Hilfestellung in der Qualitätssicherung

! Bewahren Sie die Ringversuchsstämme auf bis die Auswertung vorliegt. Besonders, wenn Ihnen irgend etwas auffällig oder ungewöhnlich vorkommt.

Chemische Ringversuche

Ringversuchssystem nach DIN 38402 – A45

- Zertifikat für einen Teilringversuch
- Jahreszertifikat – nur dies entspricht DIN 38402 - A 45
  - Es müssen 2 von 3 Niveaus richtig bestimmt werden.

Wir werden diesen Unterschied in Zukunft durch die Gestaltung der Teilnahmebestätigungen deutlicher machen.

Badegewässerringversuch (RV II-2010)

- E. coli
  - ISO 9308-3 (Miniaturisiertes MPN-Verfahren)
- Intestinale Enterokokken
  - ISO 7899-1 (Miniaturisiertes MPN-Verfahren)
  - ISO 7899-2 (Membranfiltration)
- Textblock in Rahmenbedingungen vergessen

„Die Enterokokken werden in Meerwasser verschickt. Dies ist bei der Bearbeitung der Proben zu beachten.“

Reaktion

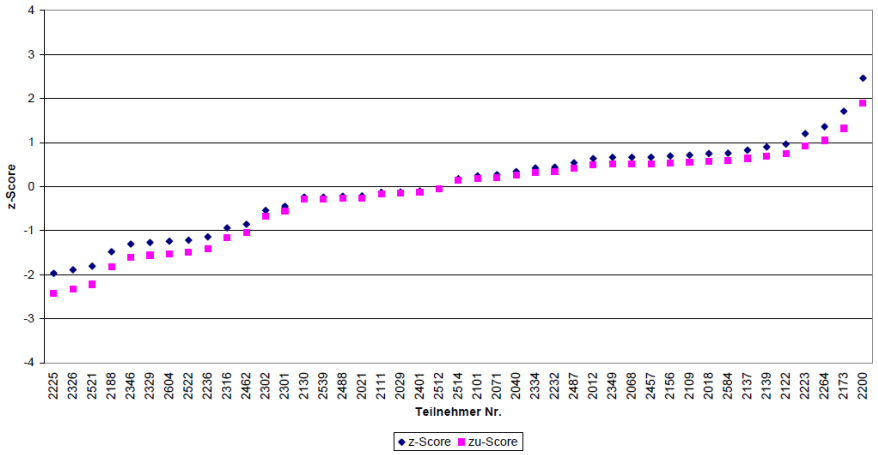
1. Sofort mail an alle uns bekannten email-Adressen der betroffenen Teilnehmerlabore geschickt.
2. Alle betroffenen Teilnehmerlabore ohne bekannte email-Adressen telefonisch informiert.
3. Alle Teilnehmerlabore, bei denen die email offensichtlich nicht angekommen ist, telefonisch informiert.
4. Zusätzliche Versuchsansatz zur Frage, wie wirkt sich ein falscher Verdünnungspuffer auf das Ergebnis aus.

Vergleichstest

	Gruppe A			Gruppe B		
	H_2O (n=20)	SMD (n=10)	TN (n=47)	H_2O (n=20)	SMD (n=10)	TN (n=47)
MW	439	339	418	714	714	464
SD	79	70	109	164	113	205

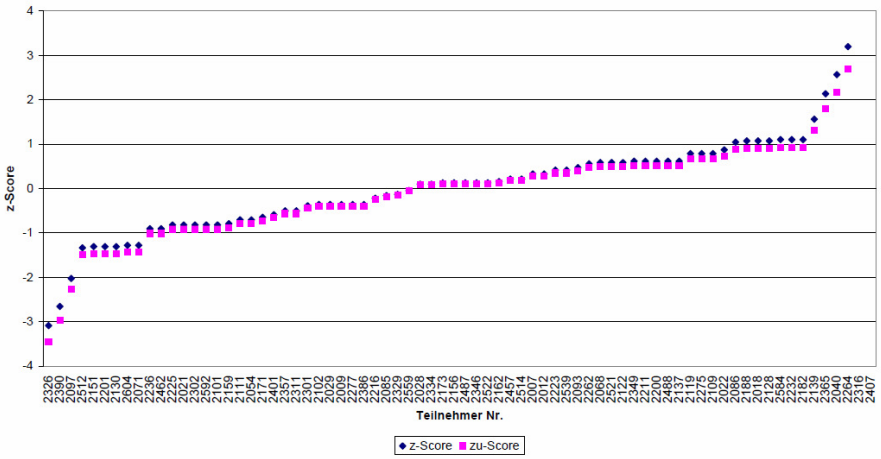
Geringer Effekt des falschen Puffers - **nicht auf reale Proben übertragbar!**

Auswertung



Auswertung

E. coli (EU-Badegew.)
II / 2010 - Niveaugruppe B
DIN EN ISO 9308-3



Aktuelle Entwicklungen

Ringversuchsportal des NLGA