

ISO 20776-2:2021



EN ISO 20776-2:2022

NBN EN ISO 20776-2:2022



Labormedizinische Untersuchungen und In vitro-Diagnostika-Systeme - Empfindlichkeitsprüfung von Infektionserregern und Evaluation von Geräten zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung - Teil 2: Evaluation der Leistung von Testsystemen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung im Vergleich zur Referenzmethode der Bouillon-Mikrodilution (ISO 20776 2:2021)

Gültig ab 22-01-2022

Ersetzt NBN EN ISO 20776-2:2007

ICS: 11.100.20

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

EN ISO 20776-2

Januar 2022

ICS 11.100.20

Ersetzt EN ISO 20776-2:2007

Deutsche Fassung

**Labormedizinische Untersuchungen und In vitro-Diagnostika-
Systeme - Empfindlichkeitsprüfung von Infektionserregern
und Evaluation von Geräten zur antimikrobiellen
Empfindlichkeitsprüfung - Teil 2: Evaluation der Leistung von
Testsystemen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung
im Vergleich zur Referenzmethode der Bouillon-Mikrodilution
(ISO 20776 2:2021)**

Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices against reference broth micro-dilution (ISO 20776-2:2021)

Systèmes d'essais en laboratoire et de diagnostic in vitro - Sensibilité in vitro des agents infectieux et évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes - Partie 2: Évaluation des performances des dispositifs pour antibiogrammes par rapport à une méthode de référence de microdilution en bouillon (ISO 20776-2:2021)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 16. Dezember 2021 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

| | Seite |
|--|-----------|
| Europäisches Vorwort | 3 |
| Vorwort | 4 |
| Einleitung | 6 |
| 1 Anwendungsbereich | 8 |
| 2 Normative Verweisungen | 8 |
| 3 Begriffe | 8 |
| 4 Prüfverfahren | 12 |
| 4.1 Allgemeines | 12 |
| 4.2 Verfahren | 13 |
| 4.2.1 Referenzmethode | 13 |
| 4.2.2 Stammauswahl | 13 |
| 4.2.3 Qualitätskontrolle (QC) | 13 |
| 4.2.4 Qualitätskontrolle (QC) der Referenzmethode | 14 |
| 4.2.5 Überprüfung der Reproduzierbarkeit mit dem Testsystem | 14 |
| 4.2.6 Isolat-Prüfprotokoll | 14 |
| 4.2.7 Herstellen des Inokulums | 15 |
| 4.2.8 Überprüfung von Abweichungen | 15 |
| 4.2.9 Zu prüfendes System | 15 |
| 5 Datenauswertung und Annahmekriterien | 16 |
| 5.1 Genauigkeit des Testsystems | 16 |
| 5.1.1 Allgemeines | 16 |
| 5.1.2 MHK-Testsysteme | 16 |
| 5.1.3 Qualitative Testsysteme | 16 |
| 5.2 Qualitätskontrolle (QC) des Testsystems | 16 |
| 5.3 Reproduzierbarkeit des Testsystems | 16 |
| 5.4 Studiendokumentation | 17 |
| Anhang A (informativ) Leistungsbewertung von MHK-Bestimmungen | 18 |
| Anhang B (informativ) Begründung für die Analyse der systematischen Abweichung | 21 |
| Anhang C (informativ) Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse für qualitative Prüfungen | 23 |
| Literaturhinweise | 25 |

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 20776-2:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212 „Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juli 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2025 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 20776-2:2007.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut/nationale Gremium des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 20776-2:2021 wurde von CEN als EN ISO 20776-2:2022 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

EN ISO 20776-2:2022 (D)**Vorwort**

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212, *Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 140, *In-vitro-Diagnostik*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 20776-2:2007), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen sind folgende:

- Überarbeitung des Titels dieses Dokuments zur besseren Angleichung an die beabsichtigten Informationen;
- Hinzufügung einer Einleitung (in der ersten Ausgabe nicht vorhanden);
- Überarbeitung von Abschnitt 3 wie folgt:
 - folgende Begriffe wurden entfernt: Kategorieübereinstimmung, sensibel, intermediär, resistent, nicht sensibel, wesentliche Abweichung, geringe Abweichung, schwerwiegende Abweichung, Grenzwerttest und Hemmhofdurchmesser;
 - 3.11.1, zeitnahes Isolat, wurde hinzugefügt und die Begriffe frisches Isolat und neues Isolat wurden entfernt;
 - folgende Begriffe wurden hinzugefügt: Reproduzierbarkeit (3.9), systematische Abweichung des Prüfverfahrens (3.10.3), Sensitivitätsanalyse (3.10.4.1), Spezifitätsanalyse (3.10.4.2), bakterielle Organismengruppe (3.16);

- 3.7, qualitative Prüfung, wurde hinzugefügt und der Begriff Grenzwerttest wurde entfernt;
- folgende Begriffe wurden überarbeitet: Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (3.4), Grenzwert (3.6), Qualitätskontrolle (3.8), Abweichung (3.10.1);
- Abschnitt 4 (Prüfverfahren) wurde neu gegliedert;
- allgemeine Anforderungen für eine Leistungsbewertung wurden in einen separaten Unterabschnitt in die Übersicht verschoben (nun umbenannt in 4.1 „Allgemeines“ unter „Prüfverfahren“);
- 4.2 zur Qualitätskontrolle wurde überarbeitet und die EUCAST- und CLSI-Dokumente bezüglich der Qualitätskontrollbereiche wurden in Bezug genommen;
- 4.2.1 (Referenzmethode) wurde überarbeitet und berücksichtigt nun die Variabilität;
- 4.2.2 (Stammauswahl) wurde überarbeitet und neue Definition der zeitnahen Isolate (3.11.1) wurde aufgenommen;
- 4.2.5 (Reproduzierbarkeit mit dem Testsystem) wurde überarbeitet;
- 4.2.8 (Überprüfung von Abweichungen) wurde überarbeitet;
- die Unterabschnitte zur Datenauswertung und zu Annahmekriterien wurden zusammengeführt (Abschnitt 5);
- 5.1 (Genauigkeit des Testsystems) wurde überarbeitet, um die Kategorieübereinstimmung zu entfernen;
- Datenauswertung für MHK-Testsysteme wurde überarbeitet, um die Kategorieübereinstimmung zu entfernen und die Anforderung hinsichtlich der systematischen Abweichung hinzuzufügen;
- Annahme für Grenzwert-Testsysteme zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit wurde entfernt;
- Festlegungen zu den Annahmekriterien für qualitative Testsysteme zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit (5.1.3) wurden hinzugefügt und Anforderungen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität aufgenommen;
- Unterabschnitte zur Qualitätskontrolle des Testsystems und zur Reproduzierbarkeit des Testsystems (5.2 und 5.3) wurden überarbeitet;
- Literaturhinweise wurden überarbeitet;
- Anhang A „Leistungsbewertung von MHK-Bestimmungen“, Anhang B „Begründung für die Analyse der systematischen Abweichung“ und Anhang C „Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse für qualitative Prüfungen“ wurden hinzugefügt.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 20776 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

EN ISO 20776-2:2022 (D)

Einleitung

Antimikrobielle *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfungen werden bei Bakterien durchgeführt, die im Verdacht stehen, Infektionskrankheiten zu verursachen, insbesondere wenn das Isolat zu einer Spezies gehört, die gegen häufiger verwendete antimikrobielle Substanzen resistent sein kann. Darüber hinaus können diese Prüfungen zur Überwachung der Resistenzlage, für epidemiologische Studien zur Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen und für Vergleiche zwischen neuen und etablierten Wirkstoffen eingesetzt werden.

Zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) von antimikrobiellen Substanzen werden in der antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung Dilutionsmethoden verwendet. MHK-Methoden werden eingesetzt zur Resistenzüberwachung, zur Festlegung und Identifizierung von Wildtyp-Phänotypen, zu Vergleichsuntersuchungen neuer Wirkstoffe, zur Bestimmung der Empfindlichkeit von Erregern, die bei Routineprüfungen keine eindeutigen Resultate liefern, bei der Prüfung von Erregern, bei denen Routineprüfungen unzuverlässig sein können, und wenn ein quantitatives Ergebnis für das klinische Management erforderlich ist. Dilutionstests prüfen Bakterienstämme auf visuell erkennbares Wachstum in Bouillon (Flüssigdilution), die die antimikrobielle Substanz in steigenden Konzentrationen enthalten, oder auf Serien von Agarplatten (Agardilution).

Die geringste Konzentration einer antimikrobiellen Substanz (in mg/l), die unter definierten Bedingungen *In-vitro*-Bedingungen ein visuell erkennbares Wachstum eines isolierten Bakterienstammes in einem definierten Zeitintervall verhindert, wird als MHK bezeichnet. Für die laborinterne und laborübergreifende Reproduzierbarkeit von Bouillon-MHK-Bestimmungen ist eine sorgfältige Kontrolle und Standardisierung erforderlich. Die MHK-Werte der Qualitätskontrolle (QC, en: quality control) erstrecken sich meist über drei Stufen der Zweifach-Verdünnung und weisen einen dominanten Median auf, sie können aber auch einen vierstufigen Verdünnungsbereich umfassen.

Bei der Mikrodilution (Bouillon-Mikrodilution) wird der Bouillon-Dilutionstest in Mikrotiterplatten durchgeführt. Die Bouillon-Mikrodilution ist mittlerweile eine der weltweit am häufigsten angewendeten Methoden, um antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfungen durchzuführen.

Dieses Dokument ist die zweite Ausgabe von ISO 20776-2. Es dient der Evaluierung von antimikrobiellen Testsystemen im Vergleich zur Bouillon-Mikrodilution als Referenzmethode (ISO 20776-1), wobei Reinkulturen aerober Bakterien verwendet werden, die auf Agar mittels Übernachtinkubation kultiviert werden; diese Bakterien wachsen gut in standardisierten Mikrotiterplatten, die standardisiertes Mueller-Hinton-Medium (Volumen jeweils $\leq 200 \mu\text{l}$) enthalten, wobei das Medium je nach der zu untersuchenden antimikrobiellen Substanz gegebenenfalls zu modifizieren ist.

Die in diesem überarbeiteten Dokument beschriebenen quantitativen MHK-Bestimmungen und qualitativen Evaluierungen messen die Genauigkeit, Vergleichpräzision und Qualitätskontrolle von Prüfungen, die mit antimikrobiellen MHK-Werte liefernden Testsystemen durchgeführt werden, vergleichend zur Mikrodilutionsreferenzmethode mit Standardbouillon. Antimikrobielle Agarscheiben-Diffusionstests werden in diesem Dokument nicht mitberücksichtigt.

Dieses Dokument wurde unter der Voraussetzung überarbeitet, dass die MHK-Bestimmung ein *In-vitro*-Analyseverfahren ist, das Variationen bei der Testdurchführung – sowohl laborintern als auch laborübergreifend – unterliegt. Wenn ein Vergleich zwischen einem abgeleiteten Prüfverfahren und der Prüfung mittels der Referenzmethode durchgeführt wird, ist es angemessen, lediglich Maßzahlen für die Leistung des Analyseverfahrens anzuwenden und keine, die eine Ergebnisinterpretation ermöglichen. Aus diesem Grund, und weil interpretierende Kategorien aus der zweite Ausgabe von ISO 20776-1 entfernt wurden, wurde die Kategorieübereinstimmung (CA, en: category agreement) und die mit ihr verbundene Terminologie, so wie sie im Dokument M23 des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) und in anderen internationalen Dokumenten beschrieben ist, nicht angewendet. Eine Bewertung der Kategorieübereinstimmung zu vermeiden trägt außerdem dazu bei, die automatisch erforderliche erneute Leistungsbewertung des Analyseverfahrens zu reduzieren, wenn die einzige vorgenommene Änderung in der Änderung des Grenzwerts besteht (was außerhalb des eigentlichen Analyseverfahrens geschieht).

Dieses Dokument wird auf neue Leistungsbewertungen angewendet, mit denen nach dem Veröffentlichungsdatum begonnen wird; Untersuchungen, die vor dem Annahmedatum dieses Dokuments durchgeführt wurden, sollten nicht neu ausgelegt und/oder Analysen nicht erneut unter Anwendung dieser Kriterien durchgeführt zu werden brauchen. Vor diesen Normen oder vor Annahme dieses Dokuments durchgeführte Untersuchungen erfolgen nach den zur Zeit der Untersuchung üblichen Standardverfahren oder Leitlinien.

Für abgeleitete Prüfungen mit mehr als 3 Zweifach-Verdünnungen wird die Leistung des Analyseverfahrens mit Instrumenten bewertet, die für die Messung der Genauigkeit mittels der grundsätzlichen Übereinstimmung (EA, en: essential agreement) und der systematischen Abweichung sowie der Präzision mittels ausschließlich EA ausgelegt sind. Für abgeleitete Prüfungen mit 1 bis 3 Konzentrationen wird die Leistung des Analyseverfahrens mittels genormter Messgrößen für die Sensitivität und Spezifität bewertet.

EN ISO 20776-2:2022 (D)

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt annehmbare Leistungskriterien für Testsysteme zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit (AST, en: antimicrobial susceptibility test) fest, die zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) von Bakterien auf antimikrobielle Substanzen in medizinischen Laboren verwendet werden.

Dieses Dokument legt Anforderungen an Testsysteme zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit sowie Verfahren zur Leistungsbewertung dieser Testsysteme fest. Es legt fest, wie eine Leistungsbewertung eines Testsystems zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit durchzuführen ist.

Dieses Dokument wurde mit dem Ziel erarbeitet, Hersteller bei der Durchführung von Leistungsbewertungsstudien anzuleiten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 20776-1, *Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1
Testsystem zur Prüfung der mikrobiellen Empfindlichkeit
AST-Testsystem, en: antimicrobial susceptibility test device
 Testsystem, einschließlich aller zugehörigen Komponenten, zum Ermitteln von Testergebnissen, die eine MHK-Bestimmung von Bakterien mit spezifischen antimikrobiellen Substanzen erlauben

Anmerkung 1 zum Begriff: Spezifische Komponenten des Testsystems umfassen Inokulator, Einmalartikel und Reagenzien, bei der Testdurchführung verwendete Medien und Lese- oder Analysegeräte. Nicht spezifische Komponenten, wie Tupfer, Pipetten und Teströhrchen, sind kein Bestandteil des Testsystems.

3.2
Referenzmethode
 Analyseverfahren, welches von Experten anerkannt ist oder im Einverständnis der Beteiligten als Referenzanwendung findet und das den anerkannten Referenzwert der Messgröße liefert oder liefern soll

Anmerkung 1 zum Begriff: Für die Anwendung dieses Dokuments wird die in ISO 20776-1 beschriebene Referenzmethode verwendet. Diese Referenzmethode beschreibt die Verdünnungsverfahren, um die *minimale Hemmkonzentration* (3.3) von antimikrobiellen Substanzen zu bestimmen.

[QUELLE: ISO/TS 22176:2020, 3.1.20, modifiziert – Anmerkung 1 zum Begriff ergänzt.]