Info-Memo zum Bezug von Referenzstämmen zur internen Qualitätskontrolle in Praxis, Klinik und Labor

Die in den Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK) geforderten Maßnahmen zur internen Qualitätskontrolle dienen der verbesserten Sicherheit diagnostischer Ergebnisse.

Die dafür zu verwendenden Referenzstämme, also Mikroorganismen definierter Herkunft mit detailliert beschriebenen Eigenschaften (z.B. Morphologie, Biochemie, Resistenzmuster) werden im Wesentlichen für folgende Qualitätskontrollmaßnahmen eingesetzt:

1. Prüfung der wachstumsfördernden Eigenschaften von Nährmedien
2. Prüfung von Reagenzien, Farbstoffen/Färbelösungen und biologischen Materialien
3. Überprüfung der Leistungsfähigkeit gebrauchsfertiger Tests und Testkits
4. Überprüfung immunologischer Testsysteme
5. Prüfung der Antibiotikaresistenz bzw. -empfindlichkeit zur Ermittlung von Wirkstoffgrenzwerten und minimalen Hemmkonzentrationen

Im Nachfolgenden finden Sie wesentliche Hinweise für die praktische Umsetzung.

1. Rechtliche Grundlagen

Umgangsgenehmigung

Die Abgabe von Mikroorganismen wird in Deutschland durch das Infektionsschutzgesetz (IfSG) geregelt. Pathogene Erreger der Risikogruppen II und darüber dürfen nur an Personen bzw. Einrichtungen abgegeben werden, die eine Erlaubnis nach § 44 IfSG besitzen oder einer solchen nach § 45 IfSG nicht bedürfen. Wenn sich Ihre Tätigkeit üblicherweise auf Untersuchungen für die unmittelbare Behandlung von Patienten für die eigene Praxis beschränkt, bedürfen Sie keiner Genehmigung nach § 44 IfSG. Allerdings ist die Aufnahme von Tätigkeiten mit Krankheitserregern gemäß § 49 IfSG bei Vorliegen von Erlaubnisfreiheit nach § 45 Absatz 1 und 2 anzuzeigen. Zuständig für diese Anzeige ist das jeweilige Regierungspräsidium.

Endverbrauchervereinbarung

Seit dem 01.11.2005 dürfen ATCC®-Derivate, d. h. kommerziell hergestellte Abkömmlinge von originalen biologischen Materialien der ATCC®, nur noch an registrierte Kunden abgegeben werden. Grundlage dafür ist ein von der ATCC® (American Type Culture Collection; amerikanische Stammsammlung) eingeführtes Lizenzverfahren.

Bei Ihrer Erstbestellung werden Sie daher diese sogenannte Endverbrauchervereinbarung erhalten, deren letzte Seite Sie bitte unterzeichnet zurücksenden. Der Wortlaut der Endverbrauchervereinbarung ist weltweit standardisiert. Bei Fragen stehen wir gerne zur Verfügung.

2. Umfang der zu installierenden internen Qualitätskontrolle

Anforderungen und Häufigkeit der internen Prüfungen sind durch die Bundesärztekammer festgelegt und in den Richtlinien RiliBÄK B3 beschrieben. Über die Anzahl der einzusetzenden Referenzstämme und die Art der Stammhaltung entscheiden allein Sie.

Hinweise zur Auswahl der Referenzstämme finden Sie typischerweise in den Gebrauchsanweisungen der Produkte. Sollten Sie hierzu Fragen haben, helfen wir Ihnen gerne, die richtigen Stämme zu identifizieren. Sie werden feststellen, dass mehrheitlich identische Referenzstämme für unterschiedliche Einsatzgebiete und Produkte genannt werden, so dass sich der Umfang der zu erwerbenden Stämme auf eine „Basisausstattung" von 4-5 Referenzstämmen reduzieren lässt.

3. Qualitätskontrollmaßnahmen

3.1. Prüfung von Reagenzien, Farbstoffen/Färbelösungen und biologischen Materialien

Gram-Färbung

Für die Überprüfung der Leistungsfähigkeit von Färbelösungen und der Funktionalität der Methode selbst (z.B. Überentfärbung durch zu aggressiven oder zu lang einwirkenden Alkohol) kann man Mikroskopie-Objektträgerpräparationen verwenden. Dafür wird ein luftgetrockneter, Methanol-fixierter Ausstrich eines Gram-positiven und eines Gram-negativen Mikroorganismus mit gefärbt. Üblicherweise verwendet man dazu:

1. als Gram-positiven Referenzstamm *S. aureus* ATCC® 29213 oder *S. aureus* ATCC® 5923
2. als Gram-negativen Referenzstamm *E. coli* ATCC® 25922

Nur wenn *Staphylococcus aureus* dunkelblau und *Escherichia coli* rot erscheinen, können die Färbungsergebnisse als valide angesehen werden. Die Überprüfung ist arbeitstäglich durchzuführen.

Oxidase-Test

Der Test wird zur (orientierenden) Erregeridentifizierung verwendet. Das biochemische Verfahren weist das Enzym Cytochrom c Oxidase nach, welches in der Atmungskette von Zellen vorkommt. Als positive Kontrolle für den Oxidasetest wird *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 verwendet, der eine blaue bis purpurfarbene Farbentwicklung zeigen muss. Als negative Kontrolle wird *Escherichia coli* ATCC® 25922 eingesetzt, der keine Farbänderung zeigen darf. Die Überprüfung ist arbeitstäglich durchzuführen.

Katalase-Test

Als positive Kontrolle für den Katalase-Test wird *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 oder ATCC® 25923 verwendet, der eine Gasblasenbildung zeigen muss. Als negative Kontrolle wird *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 eingesetzt, der keine Gasblasenbildung zeigen darf. Die Überprüfung ist arbeitstäglich durchzuführen.

Bitte beachten Sie, dass der Test nicht nach Anzucht auf bluthaltigen Medien durchgeführt werden darf!

Anmerkung:

Die empfohlenen Referenzstämme basieren auf der DIN 58959, Teil 10, bzw. den Herstellerangaben zu den von uns vertriebenen Produkten.

3.2. Medien: Überprüfung der wachstumsfördernden Eigenschaften von Nährmedien

Sie hat den Zweck, die Eignung der Medien, die Sie für Ihre Diagnostik verwenden, festzustellen. Damit können Leistungsminderungen, die durch den Transport (Hitze, Kälte) oder falsche Lagerung entstehen und Kondenswasserbildung nach sich ziehen können, welche zu Austrocknung führen können, oder Fehler bei der Eigenherstellung aufgedeckt werden.

Die Prüfung sollte an jeder Charge eines gekauften gebrauchsfertigen Mediums (Testsystems), jeder Charge eines dehydrierten Mediums oder eines Mediums, das aus den Einzelkomponenten im Labor hergestellt wurde, vorgenommen werden. Fertigmedien sind wöchentlich, selbst gegossene Medien arbeitstäglich mit Referenzstämmen zu überprüfen.

Für die Prüfung der wachstumsfördernden Eigenschaften der Medien und der Auswahl geeigneter Kontrollstämme könnten Sie sich z.B. auf die Empfehlungen der DIN 58959-9, Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie, Teil 9: Anforderungen an den Einsatz von Kontrollstämmen zur Prüfung von Kulturmedien – Kontrollstämme für häufig verwendete Kulturmedien, stützen.

Zu beachten:

Da der **Müller-Hinton-Agar** kein Nährmedium im eigentlichen Sinne, sondern ein Testmedium ist, kann dessen Funktionsfähigkeit im Rahmen der Qualitätskontrolle der Empfindlichkeitstestung geprüft werden.

4. Arten von Referenzstämmen

Einzelstämme werden in mehreren verschiedenen Produktarten angeboten. Ihre Wahl sollte unter anderem davon abhängen, wie Sie die Stämme aufbewahren wollen. Wir empfehlen Ihnen, die folgenden drei Varianten in Betracht zu ziehen, da sie unserer Meinung nach anwenderfreundlich sind und es in diesen Varianten alle notwendigen Stämme gibt.

3. **LYFO DISK®** (6 lyophilisierte Pellets pro VE)
4. **KWIK-STIK™** (2 oder 6 Sticks pro VE).
5. **Microtrol™** (25 lyophilisierte Blättchen pro VE)

Alle Varianten kann man für mehrere Monate im Kühlschrank (2-8°C) lagern. Dabei kann man z.B. pro Monat ein Pellet / einen Stick / ein Blättchen benutzen, um eine Stammkultur anzulegen und daraus die für die Routine zu verwendenden Arbeits- oder Gebrauchskulturen herstellen.

Alternativ zu diesem Vorgehen und von uns favorisiert, da kostengünstiger, ist das Kryoverfahren möglich (Einfrieren und Wiederanwachsen der Stammkulturen; -20 bis -80°C). Hierfür bietet sich die kostengünstige 2er VE von KWIK-STIK™ an, in Kombination mit der **Cryobank®** (MD9101) als Aufbewahrungssystem. Gerne senden wir Ihnen weitere Informationen zum Kryoverfahren zu.

Bitte haben Sie Verständnis, dass wir keine Garantie dafür übernehmen können, wenn ein Stamm nicht wieder anwächst oder ein verändertes Resistenzverhalten aufweist.

In unserer AUROSAN-Mediathek unter www.aurosan.de finden Sie Anwendungsvideos zur Anlage einer Stammkultur aus dem Lyophilisat und dem weiteren Vorgehen, wie aus solchen Stammkulturen eine Kryobank angelegt wird.

5. Häufige Fragen

Welche Referenzstämme benötigen Sie?

In der Regel geben die Gebrauchsanweisungen der Produkte Hinweise zu den empfohlenen Stämmen und Qualitätskontrollen der Hersteller. Sollten Sie hierzu Fragen haben oder Hilfe benötigen, rufen Sie uns bitte an. Wir helfen gerne weiter und unterbreiten Ihnen ein unverbindliches Angebot. Bitte beachten Sie, dass eine Lieferung von Referenzstämmen nur möglich ist, wenn Sie die ATCC® Endverbrauchervereinbarung unterzeichnet haben. Diese erhalten Sie von uns zusammen mit dem Angebot.

Ist der Umgang mit Referenzstämmen genehmigungspflichtig?

Eine Genehmigungspflicht beim Verwenden von Referenzstämmen im ärztlichen Labor beschränkt auf den Zweck des Qualitätsmanagement Ihrer in-vitro-Diagnostik ist nicht eindeutig geregelt. Daher empfehlen wir Ihnen eine informelle Meldungsanzeige bei der für Sie zuständigen Aufsichtsbehörde, z.B. dem Regierungspräsidium.

Muss ich die Stämme regelmäßig nachkaufen?

Sie haben die Möglichkeit, entweder (1) die Stämme selbst nachzuzüchten und langfristig aufzubewahren – mit dem sogenannten Kryoverfahren (Einfrieren und Wiederanwachsen der Stammkulturen). Dann empfehlen wir Ihnen das Produkt KWIK-STIK™ kombiniert mit dem Aufbewahrungssystem Cryobank®.

Alternativ (2), wenn Sie die Stämme nicht selbst nachzüchten wollen, sondern nach Verbrauch nachkaufen wollen, können Sie zwischen LYFO DISK™ und Microtol™ wählen. Das letztere System wird z.B. als Kontrolle für unsere Nährböden verwendet.

Gibt es Fortbildungen zu RiliBÄK B3 und den internen Qualitätskontrollen?

Ja. AUROSAN veranstaltet Fortbildungen für Ärzte und ihre Praxisteams zu diesem und zahlreichen weiteren Themen, wie z.B. Qualitätsmanagement, Charakterisierung von (Multi-) Resistenzmechanismen, Digitalisierung des Labors etc. Die praktischen Kurse finden im AUROSAN-Schulungslabor in Essen oder auch bei Ihnen vor Ort in der Praxis statt. Zusätzlich bieten wir als Online-Schulung AUROSAN eLearnings zu verschiedenen Themen an.

Weitere Informationen zu den Schulungsinhalten sowie eine Übersicht über alle Termine finden Sie online auf unserer Webseite www.aurosan.de in der Rubrik „Fortbildung".

Gibt es Hilfestellungen zur Verwendung der Referenzkeime und der Kryobank?

In unserer AUROSAN-Mediathek unter www.aurosan.de finden Sie zahlreiche Anwendungsvideos zu mikrobiologischen Testsystemen, wie auch zur Anlage der Stammkultur aus dem Lyophilisat und dem Aufbau einer Kryobank.

AUROSAN
Medizin. Produkte. Technik. Kompetenz.

Referenzstämme & Kryobank

Kundenbetreuung

Tel.: 0201 21961-701
Fax: 02573 69795-9917
service@aurosan.de

Artikel			Bestellnummer	Bestellmenge
Cryobank®-Starterkit bestehend aus Box, 80 barcodierten Röhrchen, Kryoblock, Styroporbox			MD9101	
Referenzstamm	**ATCC®-Nummer**	**Produktart**	**Bestellnummer**	**Bestellmenge**
Escherichia coli	25922 (Wildtyp)	KWIK STIK™ (2)	MD0335P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0335K	
		LYFO DISK®	MD0335L	
		Microtrol™	MD0052	
	35218 (TEM-1-β-Lactamase, Ampicillin resistent)	KWIK STIK™ (2)	MD0495P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0495K	
		LYFO DISK®	MD0495L	
		Microtrol™	MD0063	
Staphylococcus aureus	29213 (schwacher β-Lactamase-Produzent)	KWIK STIK™ (2)	MD0365P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0365K	
		LYFO DISK®	MD0365L	
		Microtrol™	MD0058	
	25923	KWIK STIK™ (2)	MD0360P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0360K	
		LYFO DISK®	MD0360L	
		Microtrol™	MD0051	
Pseudomonas aeruginosa	27853 (Wildtyp)	KWIK STIK™ (2)	MD0353P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0353K	
		LYFO DISK®	MD0353L	
		Microtrol™	MD0057	
Enterococcus faecalis	29212 (Wildtyp)	KWIK STIK™ (2)	MD0366P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0366K	
		LYFO DISK®	MD0366L	
		Microtrol™	MD0053	
	19433	KWIK STIK™ (2)	MD0367P	
		LYFO DISK®	MD0337L	
		Microtrol™	MD0062	
	51299 (vanB-resistent)	KWIK STIK™ (2)	MD0959P	

Aktuelle Preise sowie Informationen zu Versandkosten finden Sie in unserem Webshop unter www.aurosan-shop.de oder können Sie bei unserer Kundenbetreuung anfragen. Es gelten unsere AGB (inkl. Datenschutz), einsehbar unter www.aurosan.de

Kundennummer: _____

Bitte per Fax an **02573 69795-9917**

oder per E-Mail an **service@aurosan.de**

Datum, Stempel, Unterschrift

AUROSAN
Medizin. Produkte. Technik. Kompetenz.

Referenzstämme & Kryobank

Kundenbetreuung

Tel.: 0201 21961-701
Fax: 02573 69795-9917
service@aurosan.de

Referenzstamm	ATCC®-Nummer	Produktart	Bestellnummer	Bestellmenge
Klebsiella pneumoniae	33495	KWIK STIK™ (2)	MD0957P	
	13438 (*KPC-3* Produzent)	KWIK STIK™ (2)	MD01117P	
	13883	Microtrol™	MD0054	
		KWIK STIK™ (2)	MD0351P	
	700603 (ESBL-Produzent, SHV-18)	KWIK STIK™ (2)	MD0784P	
		Microtrol™	MD0068	
Candida albicans	10231	KWIK STIK™ (2)	MD0443P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0443K	
		LYFO DISK®	MD0443L	
		Microtrol™	MD0050	
Streptococcus agalactiae	12401	KWIK STIK™ (2)	MD0864P	
	13813 (dsm 2134)	KWIK STIK™ (2)	MD0370P	
		Microtrol™	MD0070	
Streptococcus pyogenes	19615	KWIK STIK™ (2)	MD0385P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0385K	
		LYFO DISK®	MD0385L	
Staphylococcus saprophyticus	15305	KWIK STIK™ (2)	MD0494P	
	49453	KWIK STIK™ (2)	MD0945P	
	BAA-750	KWIK STIK™ (2)	MD0134P	
Staphylococcus epidermidis	12228	KWIK STIK™ (2)	MD0371P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0371K	
		Microtrol™	MD0060	
	14990	KWIK STIK™ (2)	MD0412P	
Proteus mirabilis	25933	KWIK STIK™ (2)	MD0690P	
	14153	Microtrol™	MD0066	
Bacillus subtilis	6051	KWIK STIK™ (2)	MD0120P	
Bacillus spizizenii (ehem. *B. subtilis*)	6633 (Hemmstofftest)	Microtrol™	MD0065	
Mycoplasma hominis	15488	LYFO DISK®	MD0156L	
Ureaplasma parvum	27813	LYFO DISK®	MD0151L	

Aktuelle Preise sowie Informationen zu Versandkosten finden Sie in unserem Webshop unter www.aurosan-shop.de oder können Sie bei unserer Kundenbetreuung anfragen. Es gelten unsere AGB (inkl. Datenschutz), einsehbar unter www.aurosan.de

Kundennummer: _____

Bitte per Fax an **02573 69795-9917**

oder per E-Mail an **service@aurosan.de**

Datum, Stempel, Unterschrift