

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

als Gram-positiven Teststamm *S. aureus* ATCC® 29213 oder *S. aureus* ATCC® 25923, und als Gram-negativen Teststamm *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 Kontrollstämmen 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 – Kontrollstämmen für häufig verwendete Kulturmedien, stützen.

Zu beachten:

Da der **Müller-Hinton-Agar** kein Nährmedium im eigentlichen Sinne, sondern ein Testmedium darstellt, 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.

1. **LYFO DISK®** (6 lyophilisierte Pellets pro VE)
2. **KWIK-STIK™** (2 oder 6 Sticks pro VE).
3. **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 finden Sie **Labor-Lehrvideos** zur Anlage einer Stammkultur aus dem Lyophilisat und dem weiteren Vorgehen, wie aus solchen Stammkulturen eine Kryobank angelegt wird.

Diese und weitere hilfreiche Videos zu mikrobiologischen Testsystemen finden Sie unter: <https://aurosan.de/de/fortbildung/selbststudium>

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 Thema in unserem eigenen Schulungslabor in Essen oder gerne auch direkt bei Ihnen im Praxis-Labor.

Zudem bieten wir zahlreiche weitere Fortbildungsinhalte u.a. zum Thema Qualitätsmanagement oder zur Charakterisierung von (Multi-) Resistenzmechanismen an. Fortbildungen finden bei uns in Essen, bei Ihnen vor Ort in Ihrer Praxis oder online als Webinar statt. 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 eine Hilfe zur Verwendung der Referenzkeime und der Kryobank?

In unserer AUROSAN Mediathek finden Sie **Labor-Lehrfilme** zur Anlage der **Stammkultur aus dem Lyophilisat** und dem weiteren Vorgehen, wie solche Stammkulturen in eine **Kryobank** überführt werden. Diese und weitere hilfreiche Videos zu mikrobiologischen Testsystemen finden Sie unter: <https://aurosan.de/de/fortbildung/selbststudium>

Referenzstämme & Kryobank - Anfrage.

Bitte diese Seite als Formular **per Fax an 0201 21961-731** oder **per Email an service@aurosan.de** schicken. Wir antworten dann mit einem konkreten Angebot.

Artikel	Bestellnummer	Bestellmenge
Cyrobank® Starterkit bestehend aus Box, 80 barcodierten Röhrchen, Kryoblock aus Aluminium, Styroporbox	MD9101	

Referenzstamm	ATCC-Nr.	Produkt	Bestellnummer	Bestellmenge
<i>Escherichia coli</i>	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	
<i>Staphylococcus aureus</i>	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	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853 (Wildtyp)	KWIK STIK™ (2)	MD0353P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0353K	
		LYFO DISK®	MD0353L	
		Microtrol™	MD0057	
<i>Mycoplasma hominis</i>	15488	LYFO DISK®	MD0156L	
<i>Ureaplasma parvum</i>	27813	LYFO DISK®	MD0151L	

AUROSAN-Kundennummer

Stempel / Datum & Unterschrift

Referenzstämme & Kryobank - Anfrage.

Bitte diese Seite als Formular **per Fax an 0201 21961-731** oder **per Email an service@aurosan.de** schicken. Wir antworten dann mit einem konkreten Angebot.

Referenzstamm	ATCC-Nr.	Produkt	Bestellnummer	Bestellmenge
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212 (Wildtyp)	KWIK STIK™ (2)	MD0366P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0366K	
		LYFO DISK®	MD0366L	
		Microtrol™	MD0053	
	19433	KWIK STIK™ (2)	MD0367P	
		Microtrol™	MD0062	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	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			
<i>Candida albicans</i>	10231	KWIK STIK™ (2)	MD0443P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0443K	
		LYFO DISK®	MD0443L	
		Microtrol™	MD0050	
<i>Bacillus subtilis</i>	6051	KWIK STIK™ (2)	MD0120P	
	6633	Microtrol™	MD0065	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12401	KWIK STIK™ (2)	MD0864P	
	13813 (dsm 2134)	KWIK STIK™ (2)	MD0370P	
		Microtrol™	MD0061	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	KWIK STIK™ (2)	MD0385P	
		KWIK STIK™ (6)	MD0385K	
		LYFO DISK®	MD0385L	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15305	KWIK STIK™ (2)	MD0494P	
	BAA-750	KWIK STIK™ (2)	MD0134P	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	KWIK STIK™ (2)	MD0371P	
		Microtrol™	MD0060	
	14990	KWIK STIK™ (2)	MD0412P	
<i>Proteus mirabilis</i>	25933	KWIK STIK™ (2)	MD0690P	
	14153	Microtrol™	MD0066	

AUROSAN-Kundennummer

Stempel / Datum & Unterschrift

Aurosan GmbH
Frankenstr. 231
D-45134 Essen

Tel.: +49 201 21961-701
Fax: +49 201 21961-731
service@aurosan.de
www.aurosan.de
www.aurosan-shop.de

Geschäftsführer: Dr. Michael Delfs
Sitz der Gesellschaft: Essen
Registergericht Essen, HRB 24458
ST.-Nr. 112/5713/2846
UStidentN DE288149260
IK 590518620

Bankverbindung:
apoBank Düsseldorf
IBAN DE64 30060601 000601 3685
BIC DAAEDEDXXX