

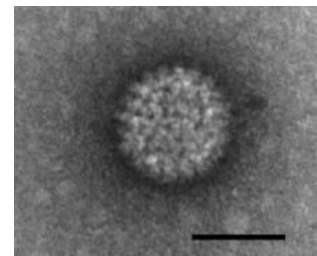
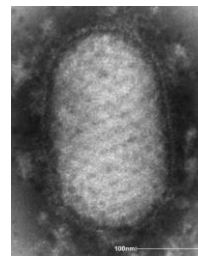
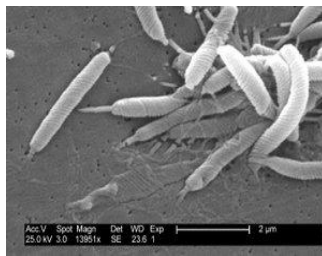


Atenschutz Lexikon



Merkblatt Desinfektion

Desinfektionsnachweis mittels Abklatschproben



Bilderquellen: Gabler, Wikipedia

unterstützt von **Dräger**

Autor: Dr. Catrin Bleul, Labor für Mikrobiologie und Hygiene, Hoyerswerda

1 Grundverständnis

Die Desinfektion wird durchgeführt, um krankmachende (pathogene) Keime abzutöten, zumindest aber unter die zur Infektion ausreichende Anzahl zu drücken. Dafür werden im Atemschutz chemische Stoffe, die Desinfektionsmittel, eingesetzt. Sie können aber nur vollständig wirken, wenn ihre Prozessparameter

- Temperatur der Lösung,
- Zeitdauer der Desinfektion und
- Konzentration des Desinfektionsmittels

in der Desinfektionslösung exakt eingehalten werden. Die dafür entsprechenden Daten geben die Hersteller in den Nutzeranleitung vor.

Das genaue Einhalten dieser Vorgaben sichert den Desinfektionserfolg. Exakt messbar und unmittelbar nach der Desinfektion oder gar durch Sichtkontrolle erkennbar ist er nicht.

Derzeit besteht nur eine Möglichkeit, gesichert den Desinfektionserfolg beurteilen zu können – die Abklatschprobe. Sie wird z. B. durch Experten aus Mikrobiologischen Laboren und Gesundheitsämtern durchgeführt. Innerhalb weniger Tage lässt sich so nachweisen, ob die Desinfektion z. B. durch den Atemschutzgerätewart oder den Gerätewart für Chemikalienschutzanzüge erfolgreich durchgeführt wurde.

Das Ziel des mikrobiologisch/hygienischen Tests „Abklatschprobe“ besteht in der Überprüfung der Gesamtkeimzahl auf der desinfizierten Oberfläche. So lässt sich die Keimreduktion – also der Erfolg der Desinfektionsmaßnahme, sicher und juristisch anerkannt nachweisen. Nachfolgend wird das Verfahren näher erläutert.

Empfehlenswert ist es für Atemschutz- und CSA-Werkstätten, wenigstens einmal jährlich die Qualität der Desinfektionsarbeit auf diesem Weg nachzuweisen.

2 Zu verwendender Nährboden: CASO-Agar

CASO-Agar (Casein-Sojamehl-Pepton-Agar) ist ein nährstoffreicher Agar⁽¹⁾ für die Anzucht von diversen Organismen, darunter Bakterien und Pilze (die Gesamtkeimzahl ergibt sich aus der Summe an Bakterien und Pilzen).

Der Nährboden enthält zwei Peptone, die durch die enzymatische Hydrolyse von Sojaprotein und Casein erhalten wurden. Dadurch wachsen diverse, auch viele anspruchsvolle Mikroorganismen auf CASO-Agar, aerobe und anaerobe Organismen.

Der Nährboden enthält keine Kohlenhydrate und ist dadurch wichtig bei der Untersuchung von hämolytischen Reaktionen.

Zu den Mikroorganismen, die auf CASO-Agar angezüchtet werden können, gehören beispielsweise Streptokokken, Pasteurella, Vibrio, Candida (Hefe), Corynebakterien, Pneumokokken, Neisserien und viele andere.

Je nach Wahl des Nährmediums auf der Abklatschplatte können auch spezifische Organismen oder Organismengruppen nachgewiesen werden:

z.B. bei Verwendung von Sabouraud-Agar oder Malzextrakt-Agar: Anzucht und Quantifizierung von Pilzen (Schimmelpilze, Hefen).

Durch den verwendeten Nährboden kann somit auch eine Selektion vorgenommen werden, je nachdem, welche Organismen angezüchtet und nachgewiesen werden sollen.

⁽¹⁾ Agar: syn. Nährboden; Nährmedium. Bestehend aus Nährstoffen zur Anzucht von Organismen und Agar-Agar (Geliermittel)

3 Vorteil der Methode

Mit den Abklatschplatten lassen sich eindeutige Aussagen treffen, wie viele Organismenkolonien auf einer bestimmten Fläche vorhanden sind. Die Fläche einer Abklatschplatte beträgt 25 cm².

4 Nachweis des Desinfektionserfolges

Desinfektion bedeutet Keimreduktion.

Mit Abklatschproben ist die Keimzahl auf Oberflächen messbar. Interessant sind auch Vergleiche „vor der Desinfektion“ und „nach der Desinfektion“.

Weitere Möglichkeiten, den Keimgehalt von Oberflächen festzustellen, liegen in der Verwendung von sog. Dip Slides (gleiches Wirkungsprinzip wie Abklatschplatten) oder Tupferproben.

Der Nachteil von Tupferproben liegt in der semiquantitativen Bestimmungsmethode. Selbst, wenn eine definierte Fläche „abgetupfert“ wird, verbleiben beim Extahieren der Organismen aus dem Tupfer noch diverse Zellen in der Tupferwolke, die nicht berücksichtigt werden können. Diese Methode führt also oft zu einer Unterschätzung der eigentlichen Keimzahl.

Tupfer zeigen Ihre Stärke an schwer zugänglichen Stellen, wo keine Abklatschplatte hinein passt. Dort sind Tupfer ungeschlagen.

5 Die Abklatschplatte



Abbildung 1: ungetestete, ungeöffnete Abklatschplatte

Die Abklatschplatte (Abbildung 1) ist eine Petrischale mit dem Nährboden und setzt sich zusammen aus einem Kunststoffboden, welcher den Nähragar (gelb) enthält sowie einen Kunststoffdeckel.

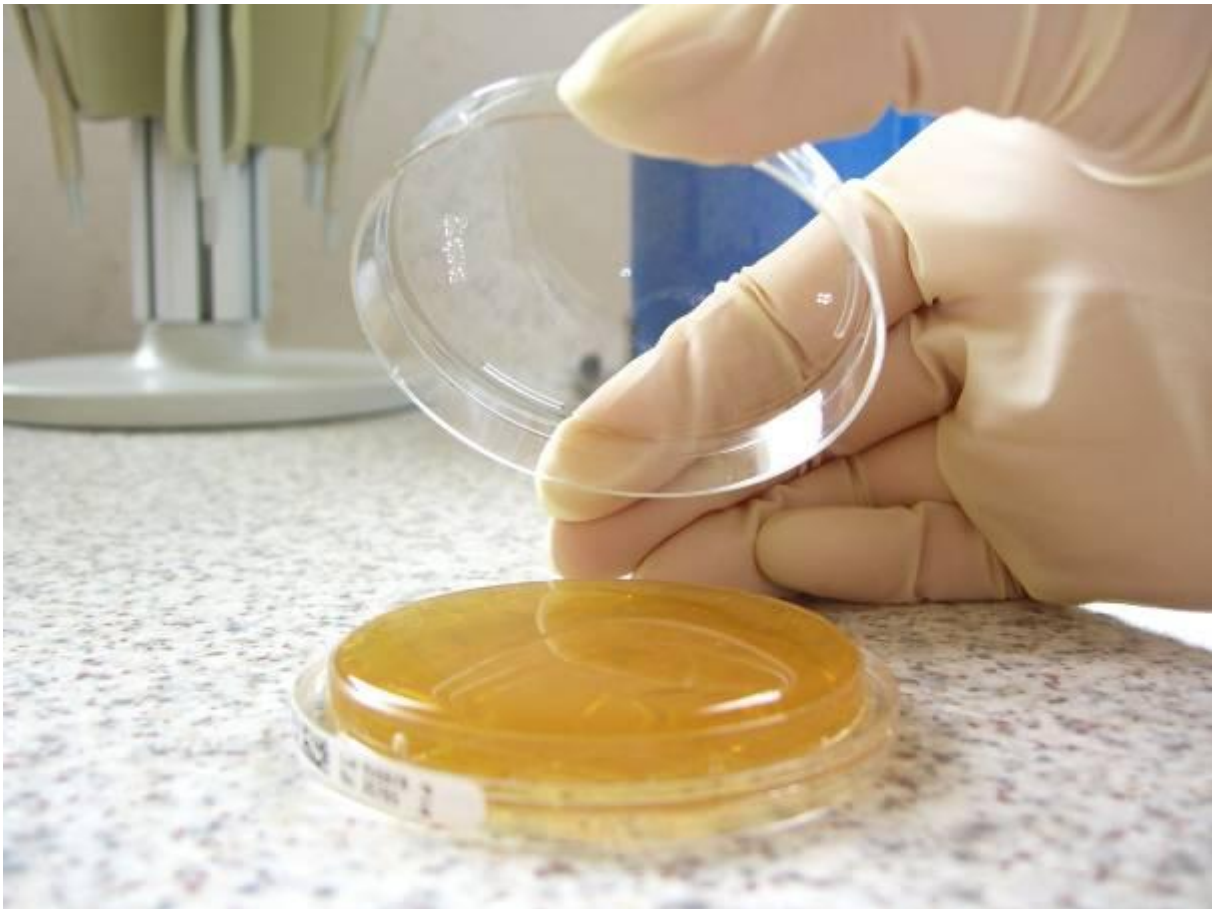


Abbildung 2: Abklatschplatte, geöffnet

In Abbildung 2 ist die konvexe Oberfläche des Nährbodens gut zu sehen. Der Nährboden ist höher gegossen als der umgebende Rand des Petrischalenbodens. Dadurch ist ein Abdruck von einer Oberfläche erst möglich.

6 Die Probenahme von Abklatschproben



Abbildung 3: geschlossene Abklatschplatte an der zu beprobenden Fläche

Die Probenahme erfolgt an mehreren Stellen auf der entsprechenden Oberfläche, eine einzige Probe ist nicht repräsentativ. Besonders an Stellen, die von Desinfektionsmaßnahmen schwer erreichbar sind (durch Faltenbildungen in Anzügen etc.) sollten Proben genommen werden. Eine

Vergleichsprobe auf einer sehr gut Desinfektionsmittel-zugänglichen Oberfläche ist empfehlenswert.

Im Beispielfoto wird die Probenahme auf dem schwarzen Untergrund durchgeführt (Abbildung 3). Die Abklatschplatte wird vor der eigentlichen Probenahme nicht geöffnet!

Sonst besteht die Gefahr, dass der Nährboden durch sedimentierende Organismen aus der Luft bereits kontaminiert wird und somit das Ergebnis falsch positive Werte liefert.

Wenn der Nährboden mit den Fingern berührt wird oder herunterfällt, ist die Abklatschplatte zu verwerfen.

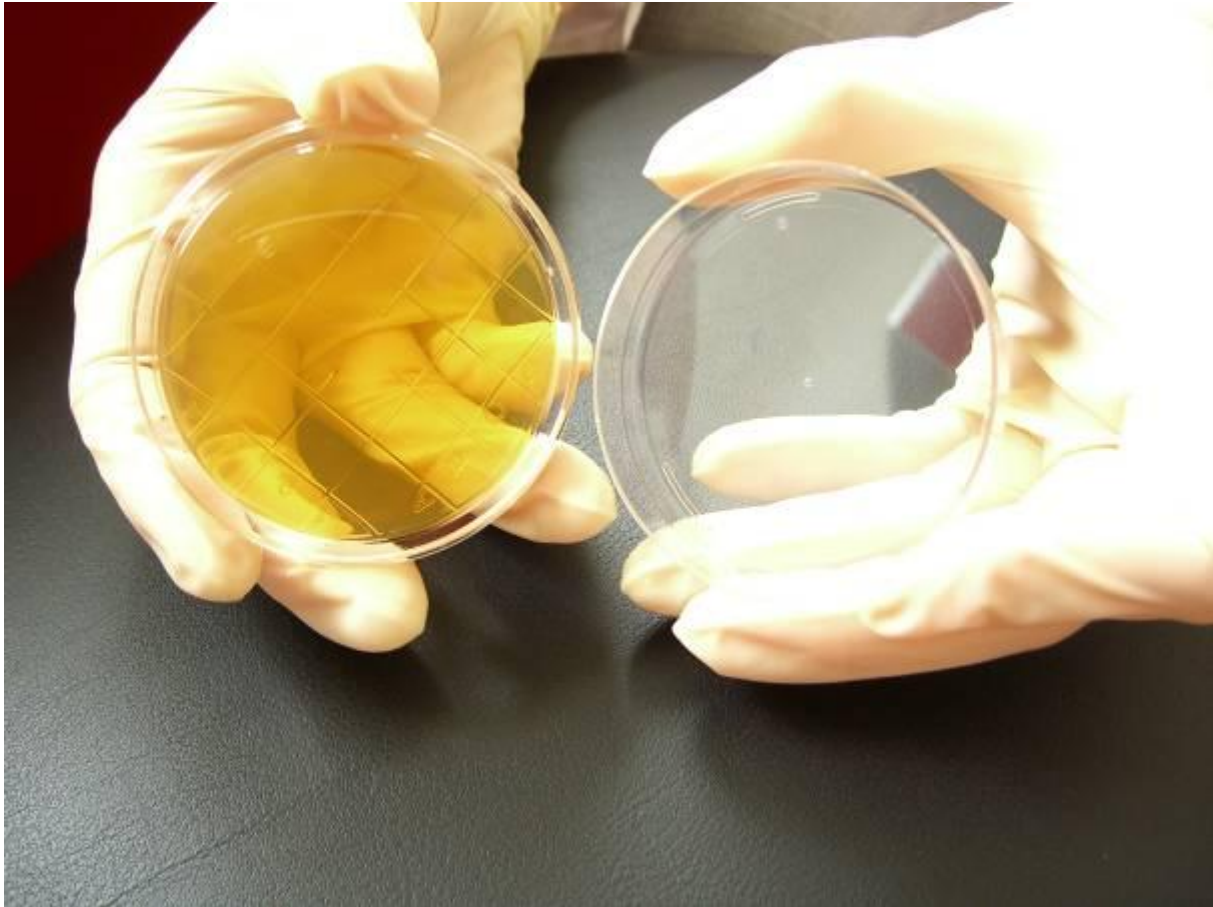


Abbildung 4: Abklatschplatte öffnen

Die Probenahmestellen sind nun ausgewählt und erst unmittelbar an der Probenahmestelle wird der Deckel der Abklatschplatte geöffnet (Abbildung 4).

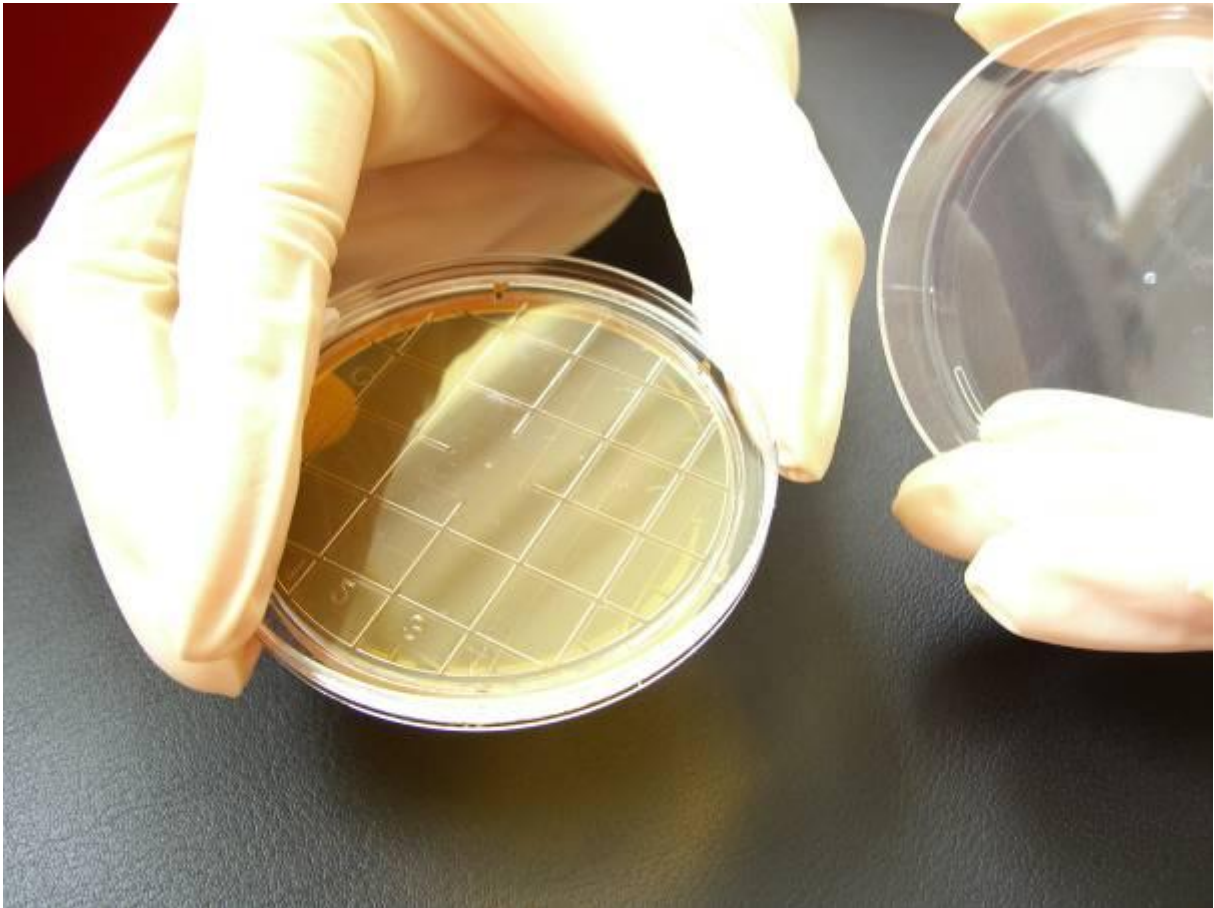


Abbildung 5: Probenahme I

Wie in Abbildung 5 dargestellt, wird der Nährboden in Richtung Oberfläche geführt. Der Deckel wird in dieser Zeit mit der anderen Hand festgehalten, nicht abgelegt. Evtl. vorhandenes Kondenswasser im Deckel höchstens vorsichtig ablaufen lassen, nicht mit Tüchern auswischen! Nicht mit der Platte oder dem Deckel herumwedeln.

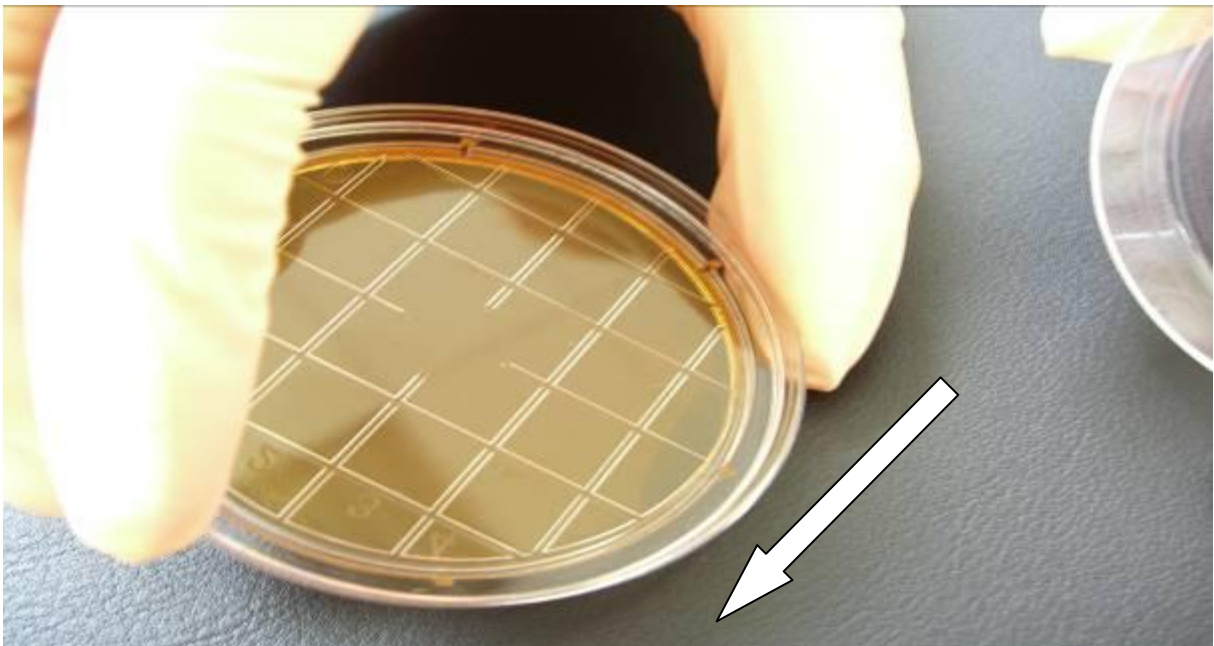


Abbildung 6: Probenahme II

Der Nährboden der Abklatschplatte wird nun vorsichtig auf der Oberfläche abgesetzt, erkennbar in Abbildung 6 (mit dem Pfeil markiert) und schließlich auf die gesamte Abklatschfläche aufgebracht (Abbildung 7).

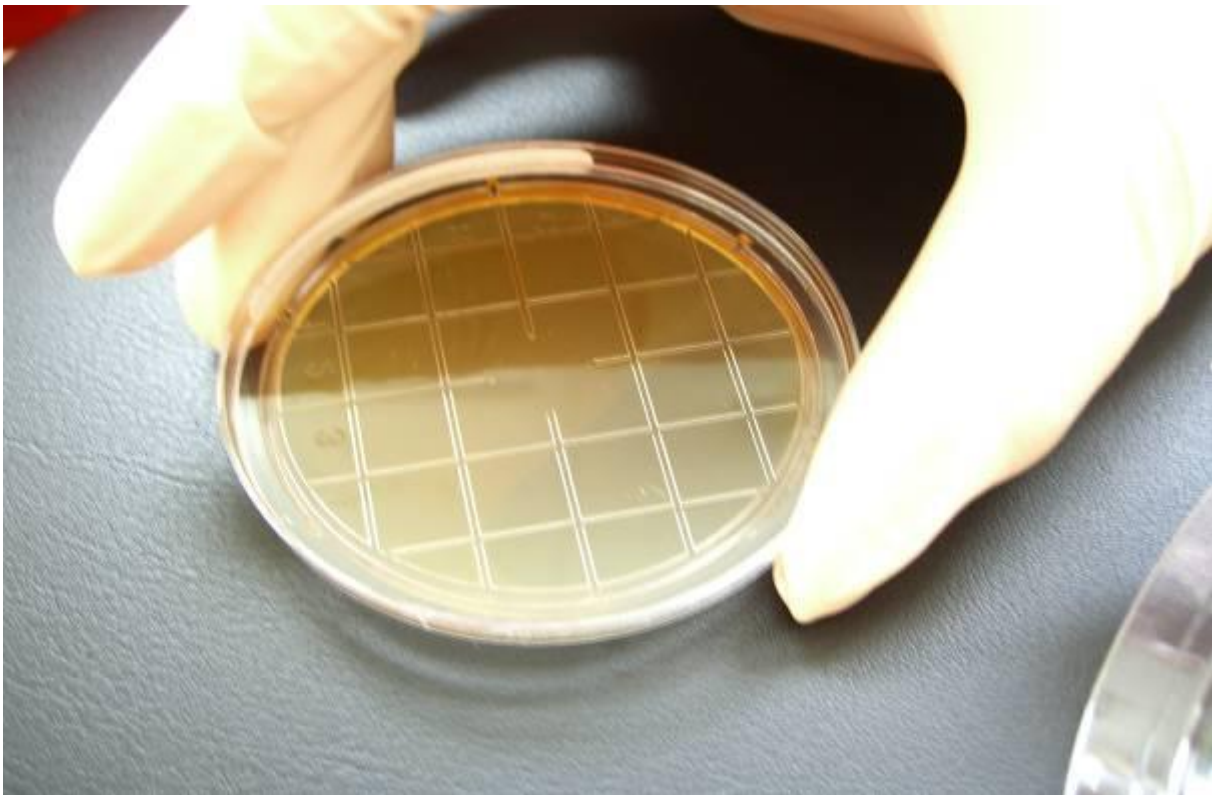


Abbildung 7: Probenahme III

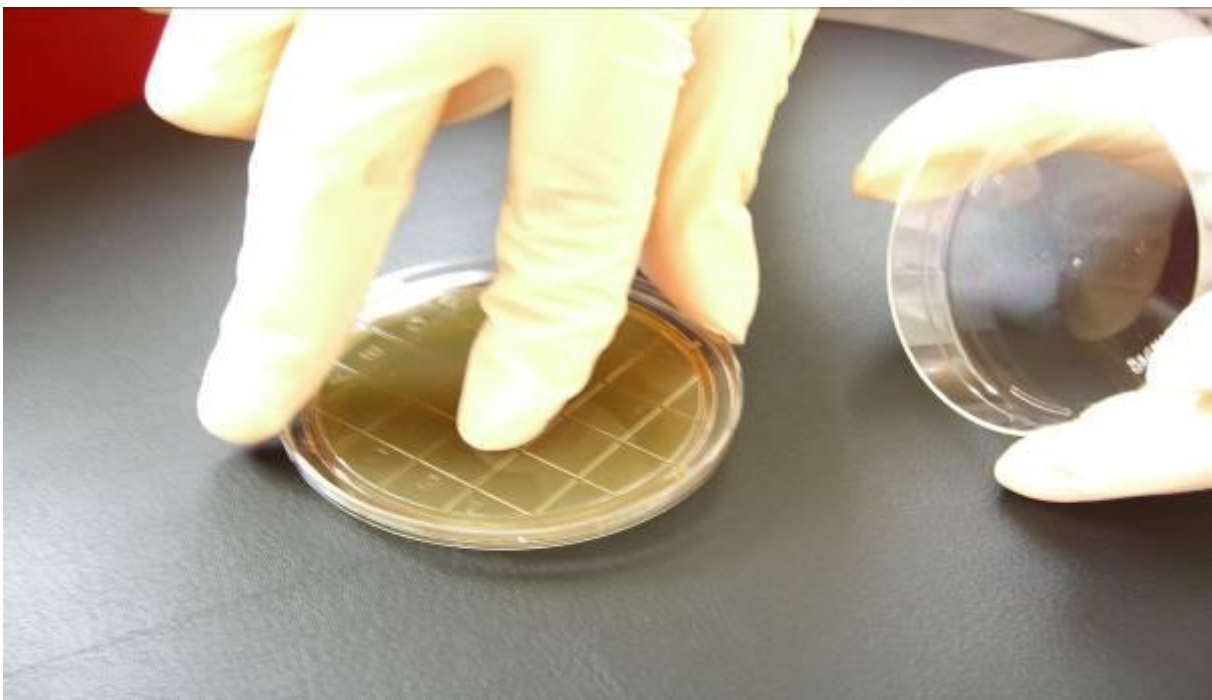


Abbildung 8: gesamte Abklatschplatte berührt die Oberfläche

Mit LEICHTEM Druck wird nun die gesamte Abklatschplatte auf die Oberfläche aufgelegt. Die Abklatschplatte sollte ohne Luftblasenbildung die Oberfläche benetzen.

Das Auflegen dauert nur wenige Sekunden.

Wichtig ist, dass die Abklatschplatte nicht über die Oberfläche gezogen oder gewischt wird. Damit wären keine eindeutigen Aussagen über die untersuchte Fläche möglich.

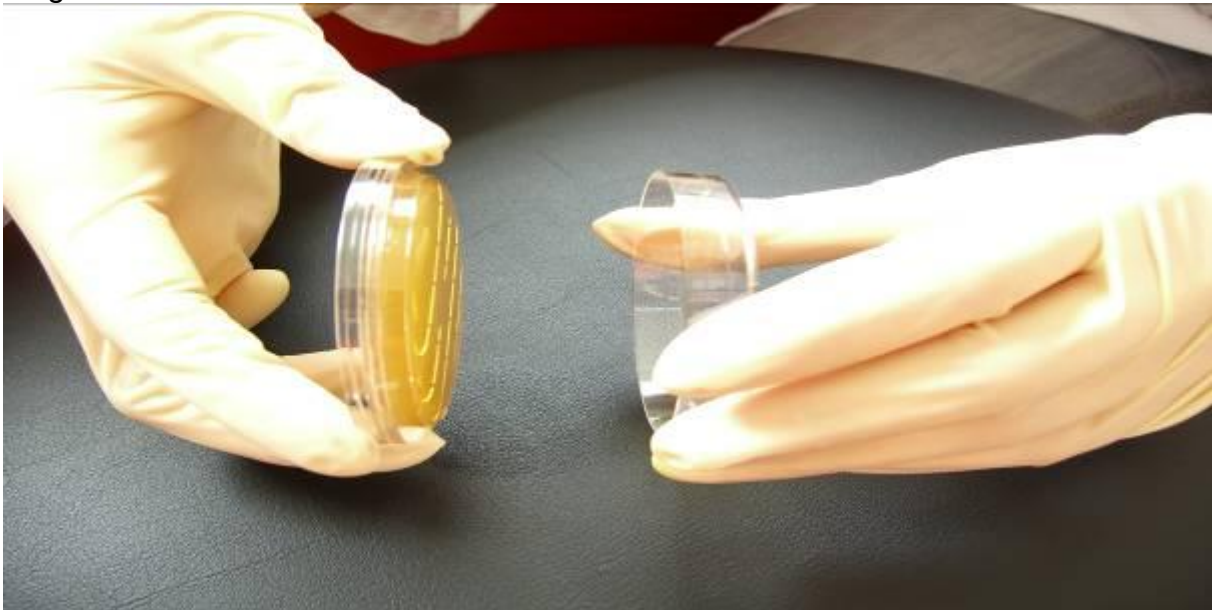


Abbildung 9: Schließen der Abklatschplatte

Nach der Probenahme wird die Abklatschplatte wieder von der Oberfläche abgehoben und sofort der Deckel geschlossen (Abbildung 9, Abbildung 10), um eventuelle Kontaminationen zu vermeiden.

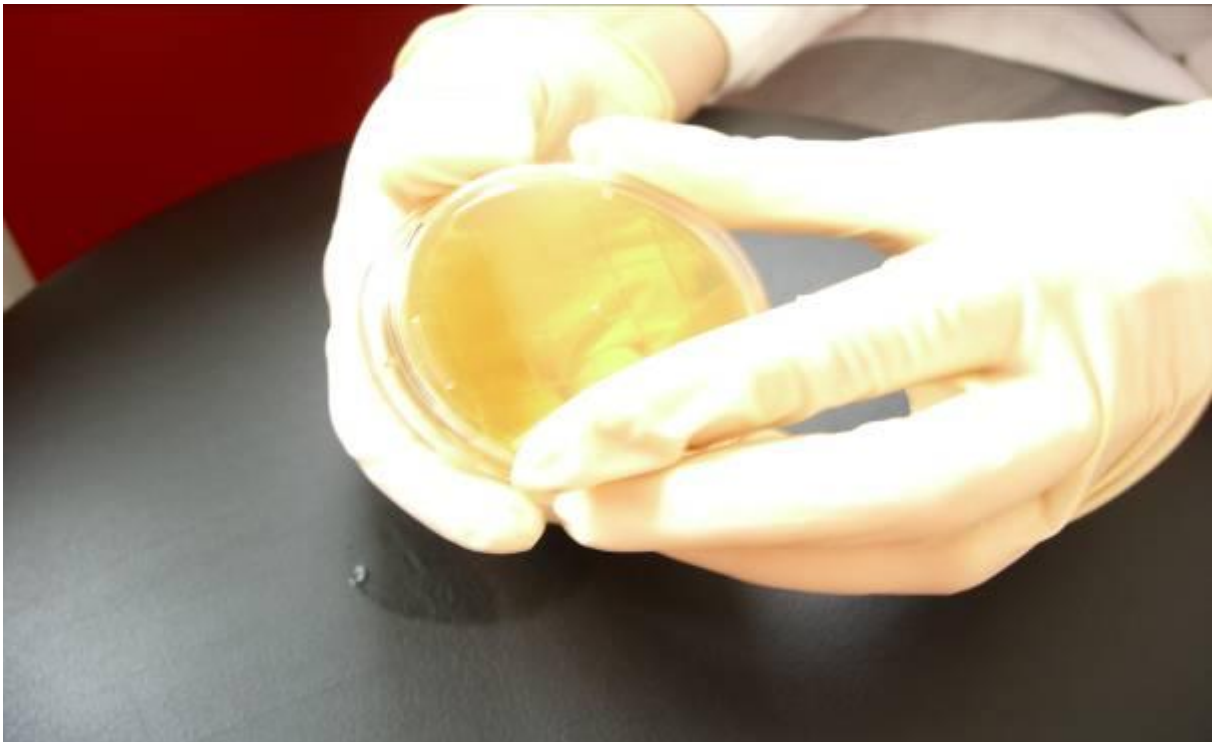


Abbildung 10: Deckel der Abklatschplatte ist wieder geschlossen

Nach der Probenahme werden die Abklatschplatten im Labor bei 36 °C für 48h und danach bei 22 °C bis zu 7 Tage in einem Brutschrank (syn. Inkubator) bebrütet.

Die unterschiedlichen Temperaturen sind bedingt durch die Temperaturoptima von Bakterien und Pilzen: insbesondere humanpathogene Bakterien wachsen bei 36 °C und Pilze werden bei 22 °C angezchtet. Da Pilze für ihr Wachstum bis zu einer Woche (mache sogar länger) benötigen, wurde eine Bebrütungszeit von 7 Tagen standardisiert.

In der Bebrütungszeit wachsen auf dem Nährboden Kolonien von Bakterien und Pilzen, die mit dem Auge erkennbar sind und ausgezählt werden.

Eine Kolonie besteht dabei aus Millionen von Organismen, alles Nachkommen von ursprünglich einer einzigen Zelle. In der Fachsprache sind die Kolonien als KbE anzugeben: KbE (Kolonie bildende Einheit), entspricht der Anzahl an wachstumsfähigen Organismen auf dem verwendeten Nährboden.

Auf den nachfolgenden Beispielfotos (Abbildung 11, Abbildung 12, Abbildung 13) sind Organismenkolonien auf den Abklatschplatten dargestellt.

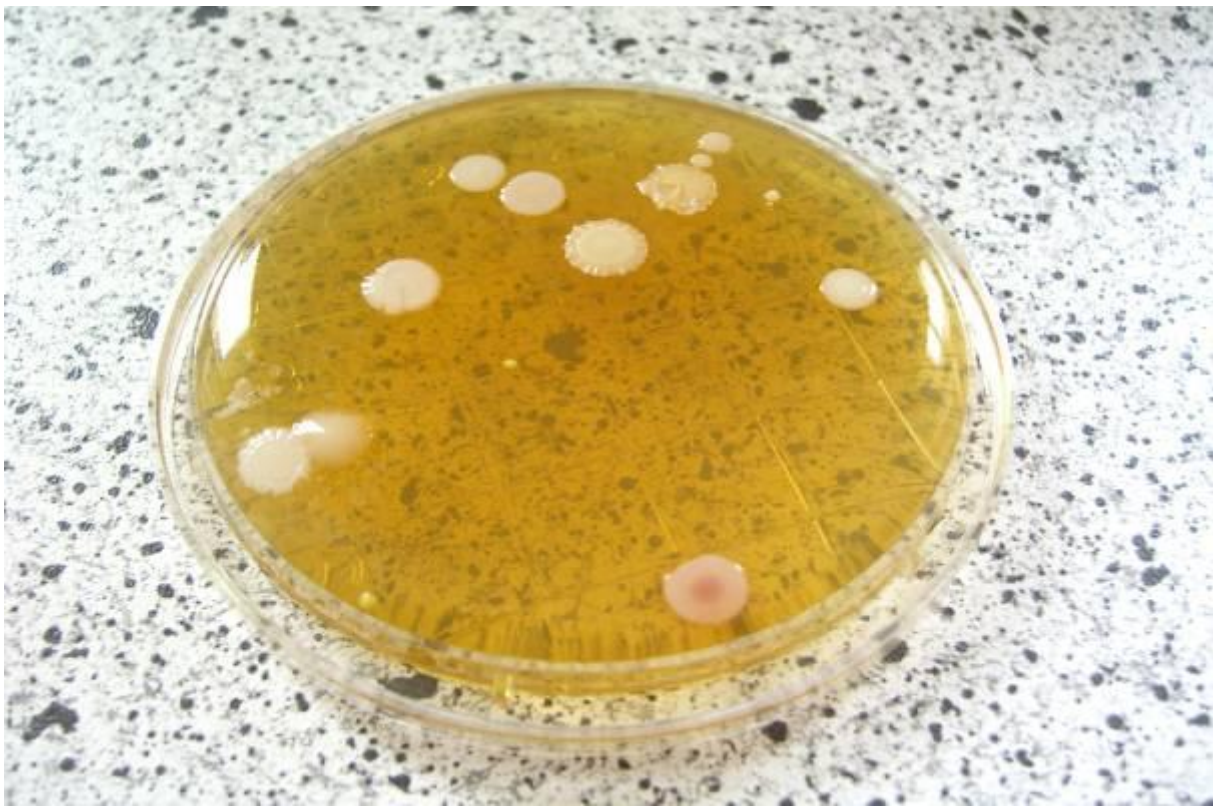


Abbildung 11: Beispielfoto I (Bakterienkolonien)



Abbildung 12: Beispielfoto I, vergrößert



Abbildung 13: Beispielfoto II