



ZSVA-Spiegel

Ausgabe 03/96
Register 9

Unsere Meinung

Biologische Kontrolle - der lebende Beweis

”Bio-Indikatoren sind bestimmte Zubereitungen mit Mikroorganismen, die so beschaffen sind, daß bei Abtötung der Keime durch das Sterilisationsverfahren angenommen werden kann, daß das Verfahren wirksam war.”

(Zitat aus: DIN 58 900 Teil 1, April 1987)

Die Entwicklung neuer verschiedenartiger Bio-Indikatorsysteme in den letzten Jahren hat gezeigt, welcher Stellenwert biologischem Material bei der Überprüfung von Sterilisationsprozessen beigemessen wird. Da die Abtötungskinetik von Mikroorganismen mathematischen Gesetzen unterworfen ist, kann leicht nachvollzogen werden, in welcher Zeit bei Einwirkung eines schädigenden Agens, z. B. Dampf, eine definierte Population von Keimen reduziert wird. Die Abtötungsgeschwindigkeit von Bio-Indikatoren folgt einer exponentiellen Funktion. Die Keimbelastung über die Sterilisationszeit wird immer kleiner, erreicht Null jedoch nicht. Die Zeit, in der sich die Keimpopulation um eine Zehnerpotenz reduziert, wird als D-Wert (=Dezimalreduktionswert) beschrieben. Ausgehend von beispielsweise 1 Million Mikroorganismen (10^6) zeigt der D-Wert, in welcher Zeit 900-tausend, also 90% der Mikroorganismen, abgetötet wurden, so daß nur noch 100-tausend Keime übrig bleiben. Wurde um 6 Zehnerpotenzen reduziert, bleibt theoretisch noch ein Keim übrig, d.h., es wurde keine Keimfreiheit erzielt, sondern nur eine extreme Keimarmut. Daher ist definiert, daß ein SAL (Sterility Assurance Level) von 10^{-6} erreicht werden soll. Diese Definition besagt, daß von 1 Million sterilisierter Teile nur 1 Teil mit 1 Keim belastet sein darf.

Ob die Abtötung nun tatsächlich stattgefunden hat, ist nachweisbar, indem eventuell überlebende Keime in einem Nährmedium zum Wachstum angeregt werden und somit identifiziert werden können. Die Bebrütungszeit und Bebrütungsdauer, sowie die

Zusammensetzung des Kulturmediums sind abhängig von der Art der eingesetzten Bio-Indikatoren.

Für die in der DIN beschriebene mikrobiologische Überprüfung von festem und porösem Sterilisiergut sowie von Gummiwaren in Dampf-Sterilisatoren werden mit *Bacillus stearothermophilus*-Sporen beimpfte Keimträger verwendet, die nach der Sterilisation in einer Casein-Sojamehl-Pepton-Bouillon zum Wachstum angeregt werden. Bei positivem Befund, d. h. Wachstum, zeigt sich eine Trübung des Mediums.

Da allerdings die Überführung der Sporenstreifen in das Kulturmedium unter aseptischen Bedingungen verlaufen muß (Kontaminationsgefahr) und für die Inkubation ein Zeitraum von 7 Tagen benötigt wird, bewähren sich zunehmend direkt inkubierbare Bio-Indikator-Systeme, im englischen Sprachgebrauch als "self-contained-units" bekannte Bio-Indikatoren. Hierbei befindet sich in einer Polypropylenhülle zusätzlich zu einem beimpften Keimträger eine Glasampulle, die ein Kulturmedium enthält. Nach Beendigung des Sterilisierzyklus werden überlebende Sporen aktiviert, indem die Glasampulle durch Druck auf die Polypropylenhülle zerbrochen wird und das Wachstumsmedium den Keimträger benetzt. Eine Überführung in ein separates Röhrchen zwecks Anzüchtung entfällt damit. Die Bebrütungszeit dieser Ampullen in einem Inkubator beträgt maximal 48 Stunden, da durch die spezielle Rezeptur des Kulturmediums das Wachstum von überlebenden Sporen stärker angeregt wird als bei einer einfachen Casein-Sojamehl-Pepton-Bouillon.

Anzahl und Verteilung von Bio-Indikatoren bei der Prüfung von Dampfsterilisatoren sind in der DIN-Norm beschrieben. Es ist vorgegeben, daß bei einem Fassungsvermögen eines Sterilisators von 1 StE mindestens 4 Bio-Indikatoren, bei 4 StE wenigstens 8 Bio-Indikatoren, etc., zu verteilen sind. Darüberhinaus wird 1 weiterer Bio-Indikator als positive Wachstumskontrolle mitgeführt, also dem Sterilisationszyklus nicht unterworfen.

Hinweise zur Kultivierung sind in der DIN 58 946, Teil 4 vom Mai 1987 vermerkt.

Zitat Absatz 4.1.2.2: " **Die Kulturen werden nach einer bestimmten Bebrütungsdauer auf Wachstum von Mikroorganismen geprüft (Trübung des Kulturmediums bzw. Änderung der Farbe des dem Kulturmedium beigefügten Indikators).**"

Dabei ist Voraussetzung, daß ein für den verwendeten Bio-Indikator geeignetes Kulturmedium eingesetzt wird. Die häufig geäußerte Vermutung, daß bei der periodischen Prüfung grundsätzlich eine Inkubationszeit von mindestens 7 Tagen einzuhalten sei, ist nach den geltenden Normen hingegen nicht haltbar.

Neben der periodischen Prüfung (alle 400 Chargen bzw. mind. halbjährlich) werden Bio-Indikatoren nach Reparaturen, Parameteränderungen am Sterilisator, bei der Validierung, also um die keimtötende Wirkung des eingesetzten Verfahrens eng zu überwachen, eingesetzt. In vielen Krankenhäusern gehört daher bereits eine wöchentliche Überprüfung des Status zum Routineprogramm. Empfehlenswert ist, diese Testung generell am Freitagnachmittag mit der letzten Charge durchzuführen, um nach Anzüchtung über das Wochenende den Befund der direkt inkubierbaren Bio-Indikatorsysteme zu Beginn der neuen Woche abzulesen und zu bewerten.

Zur Überprüfung von Ethylenoxid-Gas-Sterilisatoren werden Keimträger mit *Bacillus subtilis* (var. *niger*) verwendet. Die Verteilung und Anzahl der Bio-Indikatoren sind wie bei der Dampfsterilisation in einzelnen Normen nachzulesen. Zur Testung bieten sich dem Anwender auch bei der Ethylenoxid-Gassterilisation zwei Auswahlmöglichkeiten, entweder konventionell mit Sporenstreifen, die für 7 Tage bebrütet werden, oder mit direkt inkubierbaren Bio-Indikatorsystemen und rascher Identifikation innerhalb von 2 Tagen.

Eine einfache und sichere Lösung, einen Sterilisierzyklus transparenter zu gestalten und direkt am Ort des Geschehens zu überprüfen, ob eine Abtötung von Mikroorganismen erfolgt ist, wird dem Anwender von direkt inkubierbaren Bio-Indikatorsystemen (z. B. BAG-EZ Test) somit innerhalb kürzester Zeit geboten.

Normen und Entwürfe - Dampfsterilisatoren

DIN 58 946 T3 April 1988 Entwurf	Sterilisation; Dampf-Sterilisatoren für medizinische Sterilisiergüter; Groß-Sterilisatoren; Prüfung auf Wirksamkeit
DIN 58 946 T4 Mai 1987	Sterilisation; Dampf-Sterilisatoren für medizinische Sterilisiergüter; Bio-Indikatoren; Begriffe, Anforderungen, Prüfung
DIN 58 946 T5 Jan. 1987	Sterilisation; Dampf-Sterilisatoren; Klein-Sterilisatoren; Anforderungen
DIN 58 946 T8 März 1986	Sterilisation; Dampf-Sterilisatoren; Klein-Sterilisatoren; Prüfung auf Wirksamkeit
DIN EN 554 Nov. 1994	Sterilisation von Medizinprodukten; Validierung und Routineüberwachung für die Sterilisation mit feuchter Hitze
DIN EN 866 T1 Febr. 1993 Entwurf	Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren; Allgemeine Anforderungen
DIN EN 866 T3 Febr. 1993 Entwurf	Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren; Teil 1: Spezielle Systeme für den Gebrauch in Sterilisatoren mit feuchter Hitze
*prEN 866-7 April 1995 draft	Biological systems for testing sterilizers - Part 7: Particular requirements for self-contained biological indicator systems for use in moist heat sterilizers

Normen und Entwürfe - Ethylenoxid-Gas-Sterilisatoren

DIN 58 948 T1 Juni 1988	Sterilisation; Gas-Sterilisatoren, Begriffe
DIN 58 948 T2 Okt. 1987	Sterilisation; Gas-Sterilisatoren; Ethylenoxid-Groß-Sterilisatoren; Anforderungen
DIN 58 948 T3 Okt. 1987	Sterilisation; Gas-Sterilisatoren; Prüfung auf Wirksamkeit von Ethylenoxid-Gas-Sterilisatoren
DIN 58 948 T4 Jan. 1988	Sterilisation; Gas-Sterilisatoren; Bio-Indikatoren zur Prüfung auf Wirksamkeit von Ethylenoxid-Gas-Sterilisatoren für den Krankenhausbereich
DIN EN 550 Nov. 1994	Sterilisation von Medizinprodukten; Validierung und Routineüberwachung für die Ethylenoxidsterilisation
DIN EN 866 T1 Febr. 1993 Entwurf	Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren; Allgemeine Anforderungen
DIN EN 866 T2 Febr. 1993 Entwurf	Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren; Teil 2: Spezielle Systeme für den Gebrauch in Ethylenoxid-Sterilisatoren
*prEN866-8 April 1995 draft	Biological systems for testing sterilizers - Part 8: Particular requirements for self-contained biological indicator systems for use in ethylene oxide sterilizers

* Entwürfe noch nicht im Druck

EZ-Test - Das BAG-Angebot an direkt inkubierbaren Bio-Indikatorsystemen:

Noch Fragen? Rufen Sie uns einfach an!

Kundenservice: 06404/925-125 oder direkt Frau Birgit Früh, 06404/925-303.

BAG - Für eine Zukunft mit Dimension.

