

# HYGIENE

## Leistungskatalog

### **Hinweise für den Einsender**

- Dienstzeiten im Labor
- Probentransport
- Terminabsprache
- Reklamationen

### **Angaben auf dem Probenbegleitschein**

#### **Krankenhaushygiene**

- Hygienisch, periodische Prüfung von flexiblen, aufbereiteten Endoskopen und Optikspülsystemen mittels Abstrich /Spüllösung
- Umgebungsuntersuchungen (Abklatsch-(RODAC)-Platten, Abstrichtupfer)
- Lufthygienische Untersuchung (Impaktionsverfahren, Sedimentationsplatten)
- Biologische Überprüfung der Sterilisatoren/ Autoklaven
- Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektions-Geräten
- Überprüfung von Desinfektionsgeräten mittels Bioindikatoren
- Untersuchung von Desinfektionsmittelproben aus Desinfektionsmitteldosieranlagen auf Pseudomonaden , *Acinetobacter baumannii* und Enterobacteriaceae
- Untersuchung von Waschlotionen und Ultraschallkontaktgel
- Molekularbiologische Typisierung von bakteriellen Krankheitserregern im Rahmen des Ausbruchsmanagements

#### **Untersuchungen nach Europäischem Arzneibuch (EuAB)**

- Sterilitätsprüfungen von Arzneimitteln/ Ernährungslsg.
- Untersuchung von *Aqua purificata*
- Prüfung auf mikrobielle Verunreinigung bei nicht sterilen Naturprodukten oder Arzneimitteln

#### **Wasserhygiene**

- Untersuchung von Trinkwasser nach der Trinkwasserverordnung von 2001 (letzte Änderung 2013)
- Untersuchung von Schwimm- und Badebeckenwasser nach DIN 19643/1
- Nachweis von Legionellen aus wasserführenden Systemen nach DIN 11731 Teil 2
- Untersuchung von Wasser aus Rückkühlwerken („Kühlturmwasser“)
- Untersuchung von Wasser aus Dentaleinheiten
- Untersuchung von Wasser aus leitungsgebundenen Wasserspendern („Trinkbrunnen“)
- Untersuchung von Wasser aus Krankenhausbereichen am UKW, in denen besonders infektionsanfällige Patienten behandelt werden („Wasser aus Risikobereich“)
- Permeat aus Osmoseanlagen
- VE-Wasser
- Eiswasser

#### **Lebensmittelhygiene**

- Untersuchung von Kakao und Schokolade auf Salmonellen

#### **Mikrobiologische Kontrolle von Blut und Blutkomponenten**

- Blut und Blutkomponenten nach Arbeitskreis Blut

## Hinweise für den Einsender

### Dienstzeiten im Labor

Montag - Freitag                      08:00 – 16:30 Uhr

Materialannahme nach telefonischer Rücksprache mit dem Hygiene-Labor  
(in der Regel bis 14.30 Uhr)

Der Probeneingang, der außerhalb der regulären Dienstzeit (nach 16:30 Uhr), an Wochenenden/Feiertagen, im Institut für das Hygienelabor abgegeben wird, muss vom sog. Bringdienst in ein Formblatt FB-HY-152 eingeschrieben werden. Dokumentation von Datum, Uhrzeit, leserlicher Name und Unterschrift, Angabe ob die Probe in den Kühl- oder Brutschrank eingelegt wurde und sonstige Anmerkungen/Abweichungen sind vorzunehmen. Außerdem ist die aktuelle, laufende Nummer des Formblatts auf der Probe bzw. der Probenumhüllung zu vermerken.

### Probentransport

Grundsätzlich sollte der Transport gekühlt und so schnell wie möglich erfolgen. Ist dies nicht möglich, ist auf die richtige Lagerung des Untersuchungsmaterials und die Dokumentation zu achten.

Der Probenversand von Wasser sollte in sterilen Gefäßen (mit einem Zusatz an Natrium-Thiosulfat), die auf Wunsch von uns zur Verfügung gestellt werden können, gekühlt und innerhalb von max.8h erfolgen.

Bei Versand von Agarplatten, auf denen bereits Koloniewachstum zu beobachten ist, ist die Bestimmung nach UN 3373 zu beachten.

Treten Sie bitte vorab mit dem Hygiene-Labor (0931/31 46929) in Kontakt.

### Terminabsprache für Probennahme

Um Ihre größeren Aufträge zeitnah bearbeiten zu können, bitten wir um rechtzeitige Terminabsprache, Angaben über den Materialumfang und Ankündigung des Probeneingangs.

### Reklamationen

Um Zufriedenheit unserer Kunden sind wir stets bemüht. Sollte dennoch etwas nicht nach Ihren Vorstellungen erledigt worden sein, bitten wir Sie, es unserer QM-Beauftragten mitzuteilen.

(Frau Keller 0931/31 46928, [qm@hygiene.uni-wuerzburg.de](mailto:qm@hygiene.uni-wuerzburg.de))

## Angaben auf dem Probenbegleitschein

Für das Hygiene-Labor stehen grüne Probenbegleitscheine zur Verfügung.

Bitte füllen Sie den Schein sorgfältig und vollständig aus!

### Einsender

- Adresse
- Telefonnummer, Ansprechpartner

### Material

Kreuzen Sie bitte das zu untersuchende Material an oder ergänzen Sie ggf. die *Platzhalter.....*

Bei den mit \* gekennzeichneten Materialarten tragen Sie bitte ggf. ergänzende Angaben zur Herkunft auf der Rückseite „*Probenbezeichnung*“ *Tabelle 1* ein.

Zur Untersuchung von Wasser füllen Sie bitte auf der Rückseite *Tabelle 2*, *Trinkwasser/Badewasser/Wasser*, aus.

Bitte notieren Sie auf der Rückseite im unteren Feld „*Datum der Probennahme*“ und den „*Namen des Probennehmers*“.

### Untersuchungsparameter

Bitte kreuzen Sie die gewünschte Untersuchung an. Es sind mehrere Markierungen möglich. Ist für seltene Anforderungen kein Markierungsfeld verfügbar, notieren sie nach Absprache mit uns die gewünschte Untersuchung bitte im Feld „*Zusatzinformationen*“.

**Datum und Unterschrift auf der 1. Seite unten links bitte nicht vergessen!**

## Hygienisch, periodische Prüfung von flexiblen, aufbereiteten Endoskopen mittels Abstrich/Spüllösung

### Anforderung

#### 1) nach RKI-Richtlinie

Zur Sicherstellung der Hygienequalität bei der Durchführung von Endoskopien werden (¼-) jährliche Kontrollen (*gemäß der RKI-Richtlinie „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung flexibler Endoskope und endoskopischen Zusatzinstrumentariums“ Bundesgesundheitsblatt 2002. 45, 395-411*) und Stichproben im Rahmen der krankenhaushygienischen Untersuchungen am UKW und auch bei Verdacht auf Infektionen durchgeführt. **Beschreibung der Untersuchung gemäß der RKI-Richtlinie (s. o.):**

#### Abstrich

Am Distalende bei allen Endoskopen (Duodenoskope: Nische beidseits des Albaranhebels)

#### Optik-Spülsystem

Spülprobe 20 ml steriles NaCl 0,9% aus Flasche durch Anschlusschlauch entnommen in neutralisierende Nährlösung laufen lassen.

#### Instrumentierkanal

Spülprobe 20 ml steriles NaCl 0,9% vom Kanaleingang zum Distalende in neutralisierende Nährlösung laufen lassen.

#### Luft/Wasser-Kanal

Spülprobe 20 ml steriles NaCl 0,9% aus Optikspülsystem in neutralisierende Nährlösung laufen lassen.

#### 2) Untersuchung im Rahmen der QSHE (KVB)

Die Überprüfung im Rahmen der Qualitätssicherung Hygiene in der Endoskopie erfolgt halbjährlich nach den Qualitätssicherungsvorgaben der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns (KVB). Die korrekte Probenentnahme darf nur von akkreditierten und von der KV anerkannten Laboratorien, zu denen das IHM gehört, durchgeführt werden.

#### Hinweise zur Probennahme

Im Rahmen der QSHE erfolgt die Probennahme durch Mitarbeiter des IHM.

Um die Praxisbesuche besser koordinieren zu können, bitten wir Sie, ca. zwei Wochen vor Ihrem Wunschtermin, einen Termin mit den Mitarbeiterinnen unter der Telefonnummer 0931-31 46929 zu vereinbaren.

#### Transport

Die Proben sollten innerhalb von 4 h nach der Probennahme im Labor eintreffen.

Bei Kühlung z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), wird eine Anlieferung innerhalb von 8 h akzeptiert.

## **Befundung/Beurteilung**

Beurteilung erfolgt gemäß der RKI-Richtlinie bzw. den Vorgaben der KVB.

## **Umgebungsuntersuchungen**

### **Abklatschuntersuchungen von Flächen / Händen**

#### **Anforderung**

Quantitative Umgebungsuntersuchung von planen Arbeitsflächen, Gegenständen und Körperoberflächen mittels RODAC (= *replicate organism detection and counting*) und als Eigenkontrolle von aseptischen Arbeitsverfahren (z.B. Reinraum) durch Händeabklatsch auf Columbia-Blutagar.

#### **Anwendungen:**

1. Nachweis von nosokomialen Infektionserregern in der unbelebten Umgebung
2. Hygiene-Monitoring von Reinnräumen
3. Überprüfung von Reinigungs-, Desinfektions- und Sterilisationsmaßnahmen

Routinemäßig werden RODAC-Platten (21 cm<sup>2</sup>) zum Abklatsch von planen Flächen benutzt:

1. Casoagar enthemmend (TSA Contact + LTH-RT) zum Nachweis auf desinfizierten Flächen
2. Nährboden zur Anzucht von Schimmelpilzen und Hefen (Sabouraud-Platten)

Abklatschuntersuchungen von Händen: Columbia-Blutagar

#### **Hinweise zur Probennahme**

Die Planung und Durchführung vor Ort erfolgt in der Regel durch Hygienefachkräfte/Hygienetechniker bzw. durch die anfordernde Einrichtung in Anlehnung an die Vorgaben des QMS der Einsender.

Die RODAC bzw. Columbia-Blutagar-Platten werden vom IHM zur Verfügung gestellt.

Der Probenbegleitschein sollte Angaben über die nachzuweisenden Bakterien oder Pilzarten enthalten.

#### **Durchführung Abklatsch:**

Die RODAC-Platten werden für circa 3 Sekunden auf den zu untersuchenden Gegenstand schräg aufgesetzt und unter gleichmäßig leichten Druck abgerollt.  
Beachte: Platte nicht verschieben, sonst wird der Agar beschädigt.

#### **Durchführung Händeabklatsch:**

Jeder Finger einer Hand wird vorsichtig und mit leichtem Druck auf je eine Columbia-Blutagar-Platte pro Hand gedrückt.

Die Beschriftung (Nummerierung) der Platten darf nur auf der Bodenseite, nicht aber auf dem Deckel der Petrischale erfolgen, um spätere Verwechslungen bzw. Vertauschungen auszuschließen.

Die RODAC-Caso-Agar-Abklatschplatten enthemmend haben einen Drehverschluss, der sicheres Transportieren gewährleistet.

Die Blut-Agar-Platten müssen zugeklebt transportiert werden. Bitte nicht mit Tesa-Film!

#### Transport:

Die Proben sollten möglichst am selben Tag im Labor eintreffen und in geschützten Versandbehältnissen bei Umgebungstemperatur transportiert werden.

Gegebenenfalls sind eine Zwischenlagerung im Kühlschrank bei 2-8°C und der Versand über 24 h möglich. Dokumentation diesbezüglich seitens des Einsenders notwendig!

Bei Versand von Agarplatten, auf denen bereits Koloniewachstum zu beobachten ist, ist die Bestimmung nach UN 3373 zu beachten.

### **Befundung/ Beurteilung**

Die Ergebnisse eines Abklatschtestes werden als koloniebildende Einheiten pro Fläche, ggf. mit Keimdifferenzierung, mitgeteilt.

Die Bewertung erfolgt durch den Einsender nach eigenen Vorgaben (wie z. B. GMP-Richtlinien etc.).

### **Untersuchung von Abstrichtupfern**

#### **Anforderung**

Umgebungsuntersuchung von englumigen oder nicht-ebenem Material zum Nachweis der Keimbelastung oder von speziellen Keimen.

#### **Hinweise zur Probennahme**

Die Durchführung vor Ort erfolgt durch geschultes Personal bzw. Hygienefachkräfte/Hygienetechniker.

Es sollten generell Abstrichtupfer mit Transportmedien verwendet werden (diese sind im IHM erhältlich).

Die Probennahmestellen werden entsprechend der Fragestellung gewählt.

#### Durchführung:

Der angefeuchtete Abstrichtupfer (z.B. mit steriler NaCl 0,9%-Lösung) wird gleichmäßig von vorne und unter Rollbewegungen über die zu untersuchende Probestelle bewegt.

#### Transport:

Die Proben sollten möglichst am selben Tag im Labor eintreffen.

Gegebenenfalls sind eine Zwischenlagerung im Kühlschrank bei 2-8°C und der Versand über 24 h möglich. Dokumentation diesbezüglich seitens des Einsenders notwendig!

## **Befundung/ Beurteilung**

Die Bewertung erfolgt durch den Einsender nach eigenen Vorgaben.

## **Lufthygienische Untersuchung**

### **Keimzahlbestimmung der Luft**

#### **Anforderung**

Mikrobiologische Raumlufuntersuchungen dienen dazu, eine möglicherweise gesundheits-schädliche Belastung durch Mikroorganismen (z.B. Schimmelpilze) zu erkennen. Desweiteren ist die periodisch-mikrobiologische Überprüfung von RLT-Anlagen Teil der Qualitätssicherung in Eingriffsräumen mit erhöhten Anforderungen an die Raumluf.

#### **Impaktionsverfahren mittels Luftkeimsammler**

Zur Überprüfung der Luftkeimzahlwerte/m<sup>3</sup> und der Funktionsfähigkeit von raumluf-technischen Anlagen (RLT).

Luftgetragene Mikroorganismen werden durch Ansaugen von 500-1000 Litern Luft auf eine Agarplatte abgeschieden und quantitativ in KBE/m<sup>3</sup> angegeben.

#### **Sedimentationsverfahren**

Luftkeime sedimentieren in definierter Zeit (1h - 4h) auf Agarplatten.

Zur orientierenden Routinekontrolle in Räumen mit besonderer Infektionsgefährdung (Intensivstationen).

#### **Hinweise zur Probennahme**

Die Anzahl der Proben und die Festlegung der Probennahmestellen richten sich nach normativen Verfassungen (DIN, VDI) und nach der Fragestellung und der Größe der Räume. Bei Untersuchungen der Schimmelpilzbelastung in Innenräumen ist unbedingt zeitgleich auch eine Außenluftprobe zu nehmen.

Je nach Einsatzbereich ist es wichtig, dass die zu beprobenden Räume vor und während der Messung nicht von anderen Personen betreten werden (at rest). Ggf. ist vor der Messung eine Scheuer-Wisch-Desinfektion des Raumes durchzuführen.

Auch eine Messung im Betriebszustand (in operation) ist denkbar.

Vor allem bei Schimmelpilzuntersuchungen müssen bestimmte Vorbedingungen (z.B. Entfernen von Topfpflanzen und organischen Materialien; Fenster und Türen über Nacht geschlossen halten) erfüllt sein, um die ermittelten Werte richtig beurteilen zu können.

Die Durchführung vor Ort erfolgt durch den Hygienetechniker.

#### **Transport:**

Die Proben sollten möglichst am selben Tag im Labor eintreffen und in geschützten Behältnissen bei Umgebungstemperatur transportiert werden.

Bei Versand von Agarplatten, auf denen bereits Koloniewachstum zu beobachten ist, ist die Bestimmung nach UN 3373 zu beachten.

Benötigte Agarplatten, wie z. B. Columbia-Blutagar/ CASO-Agar (Universalnährmedium/ Bakterien) und Bierwürz-Agar (Schimmelpilze/Hefen) stellt das IHM zur Verfügung.

### **Befundung/Beurteilung**

Zur Befundbeurteilung sind unbedingt die Zeit- bzw. Volumen-Angaben auf dem Probenbegleitschein erforderlich.

Je nach räumlicher Anforderung dürfen Grenz- und Richtwerte nicht überschritten werden. Erreger nosokomialer Infektionen dürfen nicht nachweisbar sein.

Bei Untersuchung der Innenraumlufte erfolgt nach Absprache mit dem Einsender eine orientierende Schimmelpilzdifferenzierung.

## **Biologische Überprüfung von Sterilisatoren**

### **Anforderung**

Mikrobiologische Überprüfung von nicht validierten Heißluftsterilisatoren, Dampfsterilisatoren und Reinigungs-u. Desinfektionsgeräten vor Inbetriebnahme, nach Reparaturen, in der Routine mindestens halbjährlich bzw. alle 400 Chargen.

Grundsätzlich sind alle genutzten Programme der einzelnen Geräte zu testen.

Bei den Bioindikatoren für Feststoffe handelt es sich um geschlossene verpackte Teststreifen mit thermoresistenten, apathogenen Bakteriensporen, bei deren Abtötung von einer ausreichenden Funktion des Sterilisators ausgegangen werden kann. Teilweise sind diese Sporenpäckchen nicht nur lichtgeschützt und trocken, sondern auch gekühlt zu lagern (2-8°C).

Die Funktionstestung von Sterilisatoren, in welchen Flüssigkeiten sterilisiert werden, erfolgt mit Bioindikatoren bestehend aus Ampullen mit Sporensuspension von *Geobacillus stearothermophilus*.

Diese werden einem flüssigkeitsgefüllten Testgefäß zugegeben und mitsterilisiert.

### **Wichtige Angaben für die Bestellung von Bioindikatoren**

- Geräteart/Baujahr
- Angabe der Kammergröße und somit ein Hinweis für die notwendige Bioindikatorenmenge (s.u.)
- Angabe über die zu testenden Programme
- Gerätenummer
- Standort

Bestellung: Telefonisch: 0931/ 31 46929 oder Fax: 0931/ 31 46445 oder schriftlich:

Institut für Hygiene und Mikrobiologie  
der Universität Würzburg  
Hygiene-Labor  
Josef-Schneider-Str. 2/ Gebäude E 1  
97080 Würzburg

Auf Wunsch ist es möglich, die Bioindikatoren ohne zusätzliche Mehrkosten in halbjährlichen Abständen automatisch zusenden zu lassen.

**Geräte:** **genormte Bioindikatoren mit ausgewählten Testkeimen:**

Dampfautoklav: *Geobacillus stearothermophilus*

Dampfsterilisation von Flüssigkeiten: *Geobacillus stearothermophilus*

Heißluftsterilisator: *Bacillus subtilis- Sporen*

(Desinfektionsgerät: *Bacillus athrophaeus (DES 105°C)*)

(Dampfdesinfektionsgeräte: *Enterococcus faecium (DES 75°C)*)

Die Anzahl der Bioindikatoren richtet sich nach dem Volumen der Sterilisierkammer:

Gerät	STE/ Liter	Anzahl der Bioindikatoren, zzgl. je Programm eine Transportkontrolle
Dampfsterilisator: (DIN 58946-6)	< 1 STE < 54 Liter	<b>4+1</b>
	1 STE bis 108 Liter	<b>6+1</b>
	2-8 STE bis 432 Liter	<b>10+1</b>
	≥ 9 STE >432 Liter	<b>20+1</b>
<b>Anmerkung: 1 STE entspricht 54 Liter; STE = Sterilisiereinheit</b>		
Heißluftsterilisator; (DIN 58947)	bis 6 Liter	<b>3 + 1</b>
	bis 30 Liter	<b>6 + 1</b>
	bis 60 Liter	<b>9 + 1</b>
	bis 250 Liter	<b>12 + 1</b>
<b>Anmerkung: Temp.: 120-180°C, mind. Einwirkzeit: 30 Minuten</b>		

**Durchführung der Prüfung mit Bioindikatoren:**

- äußere Verpackung (Folie) des Bioindikators nicht aufreißen

- zur Angabe der Lokalisation im Gerät die Bioindikatoren mit den mitgeschickten Etiketten **nach** der Sterilisation bekleben und die Lokalisation auf dem Begleitschein beschreiben
- Positivkontrolle wird nicht mitsterilisiert!
- auf gleichmäßige Verteilung der Bioindikatoren (pyramidenförmig) im Innenraum des Sterilisators achten
- Sterilisation unter maximaler Beladung durchführen!
- nach Beendigung des Sterilisationsprozesses, Bioindikatoren entnehmen  
(äußere Verpackung kann mit der Hand angefasst werden)
- Rücksendung der trockenen Bioindikatoren einschließlich Positivkontrolle und Probenbegleitschein

### **Befundung/Beurteilung**

Wird der Testkeim im Anreicherungsverfahren nach 7-tägiger Bebrütung nicht nachgewiesen, gibt es keinen Hinweis auf unzureichende Funktion des Programms. Ist auch nur eines der Sporenpäckchen mit Keimwachstum auffällig geworden, sollte ein Techniker hinzugezogen werden und eine Nachkontrolle erfolgen. Zum Zeitpunkt eines positiven Befundes ist von keiner ausreichenden Sterilisationsleistung auszugehen.

## **Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektions-Geräten (RDG)**

### **Anforderung**

Die Wiederaufbereitung von semikritischen und kritischen Medizinprodukten beinhaltet die maschinelle Reinigung und Desinfektion. Vorzugsweise ist diese mit validierten Geräten durchzuführen. Ist eine Validierung nicht möglich, stellt die biologische Überprüfung der Reinigungsdesinfektionsleistung einen Baustein der Sicherstellung einer einwandfreien Funktion dar.

Es kommen mit Blut-RAMS-Kombination (Rinderalbumin, Mucin, Maisstärke-Schafsblut) angeschmutzte Prüfkörper (Schrauben, Edelstahlplättchen) zum Einsatz, die mit bestimmten Keimmengen von *Enterococcus faecium* kontaminiert sind. Die Reinigungsdesinfektionsleistung wird als erreicht angesehen, wenn bei einer Prüfung die Abtötung der jeweiligen log-Stufe erfüllt wurde (siehe Befundung).

Die Auswahl der Keimträger sowie die Anzahl der Prüfkörper muss auf das mit dem jeweiligen Programm aufzubereitende Dekontaminationsgut abgestimmt werden. Es kann daher erforderlich sein, mehrere Prüfsets einzusetzen.

Verschiedene Prüfsets können im Hygienelabor (Tel. 0931/31 46943) angefordert werden: Da wir die Prüfkörper, meist frisch, über die Firma Simicon GmbH beziehen, bitten wir Sie an eine rechtzeitige Anforderung zu denken.

- Edelstahlplättchen, kontaminiert mit Schafsblut-RAMS-Kombination und *Enterococcus faecium* 10<sup>5</sup>
- (Schrauben, kontaminiert mit Schafsblut und *Enterococcus faecium* 10<sup>8</sup>)
- Schrauben, kontaminiert mit Schafsblut und *Enterococcus faecium* 10<sup>5</sup>

Bitte beachten Sie beim Einsatz der Prüfkörper folgende Aspekte:

Die Prüfung darf nur von fachkundigem Personal durchgeführt werden.

Die Prüfkörper sind mit dem Prüforganismus und einer spezifischen organischen Belastung angeschmutzt. Es handelt sich bei diesen Prüfkörpern um so genannte offene Prüfkörper. Dies bedeutet, dass im Rahmen der Anwendung dieser Prüfkörper eine Kontamination der Maschine oder auch des Spülgutes nicht ausgeschlossen werden kann.

**Durchführung der Prüfung:**

Die Bestückung der Geräte erfolgt nach der Ausführung der Loseblattsammlung Behr's Verlag 2008 "Qualitätssicherung von Reinigungs- und Desinfektionsprozessen / Qualitätssicherung von Reinigung, Desinfektion und technischer Hygiene" herausgegeben von S. Krüger, M. Linner und R. Zschaler.

Die Schrauben sind in Siebe für chirurgische Kleinteile zu geben, damit sie nicht während des Spülgangs im Gerät herumgewirbelt werden und das Gerät oder andere Instrumente möglicherweise beschädigen.

Die zwei Transportkontrollen dürfen dem Reinigungs-Desinfektions-Prozess nicht ausgesetzt werden und werden lediglich in ein steriles Röhrchen umverpackt.

Bei der Entnahme der einzelnen Prüfkörper ist sorgfältig darauf zu achten, dass es nicht zu einer Kontamination der Prüfkörper kommt. Es wird empfohlen, Schutzhandschuhe zu tragen, die nach jedem Kontakt von Prüfkörper zu Prüfkörper desinfiziert werden; zusätzlich ist ggf. die Verwendung steriler Pinzetten (Bei Entnahme der Schraube!) erforderlich.

Visuelle Prüfung der optischen Sauberkeit

Nach der Reinigung im RDG ist bei den Prüfkörpern eine Sichtprüfung vorzunehmen. Der Grad der optischen Sauberkeit wird schon vor Ort entsprechend den Vorgaben auf der Rückseite des Probenbegleitscheines (*Tabelle 3, Beurteilung der Reinigungsleistung*) vermerkt.

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein. Bitte die Rückseite nicht vergessen (*Tabelle 3, Beurteilung der Reinigungsleistung*).

**Befundung/Beurteilung**

Die Reinigungswirkung des RDG ist als ausreichend zu betrachten, wenn der Prüfkörper keine sichtbaren Rückstände der Anschmutzungssubstanz auf den Außenseiten aufweist und eine Reduktion des aufgetragenen Keimes stattgefunden hat:

A0-Wert von 600: Reduktion von 5 log-Stufen bei *Enterococcus faecium*  
(Ausgangskeimzahl  $10^5$ )

A0-Wert von 3000: Reduktion von 8 log-Stufen bei *Enterococcus faecium*  
(Ausgangskeimzahl  $10^8$ )

Die Reinigungs- und Desinfektionskontrolle mittels angeschmutzter Prüfkörper kommt bei nicht validierten RDG zum Einsatz. Sie wird komplementiert durch weitreichende Qualitätssicherungsmaßnahmen (periodische Temperaturkontrolle, Reinigungskontrolle, Wasserzustandskontrolle, Dosierkontrolle). Da pro Programm und RDG eine große Zahl von Prüfkörpern zum Einsatz kommt, hält das IHM ein quantitatives Auswertungsverfahren durch Verdünnungsreihen für unwirtschaftlich. Es werden daher in der Regel bei A0 600 Prüfkörper mit Belastung von  $10^5$ , bei A0 3000 Prüfkörper mit  $10^8$  Keimen verwendet. Sollte die Auswertung über eine Verdünnungsreihe dennoch gewünscht werden, bittet das IHM um Mitteilung.

## Überprüfung von Desinfektionsgeräten mittels Bioindikatoren

### Dampfdesinfektion

#### **Anforderung**

Biologische Überprüfung der Funktionstüchtigkeit von Desinfektionsgeräten mittels Bioindikatoren.

Grundsätzlich sind alle genutzten Programme der einzelnen Geräte entsprechend der Gerätegröße mit der jeweils erforderlichen Anzahl an Bioindikatoren zu testen.

Bei den Bioindikatoren handelt es sich um geschlossene verpackte Teststreifen mit thermoresistenten Testkeimen, bei deren Abtötung von einer ausreichenden Funktion des Sterilisators ausgegangen werden kann.

Teilweise sind diese Sporenpäckchen (DES 75!) nicht nur lichtgeschützt und trocken, sondern auch gekühlt zu lagern (4-8°C).

Bestellung: Telefonisch: 0931/ 31 46929 oder Fax: 0931/ 31 46445 oder schriftlich:

Institut für Hygiene und Mikrobiologie  
der Universität Würzburg  
Hygiene-Labor  
Josef-Schneider-Str. 2/ Gebäude E 1  
97080 Würzburg

Auf Wunsch ist es möglich, sich die Bioindikatoren in halbjährlichen Abständen zusenden zu lassen.

## Geräte

## genormte Bioindikatoren mit ausgewählten Testkeimen:

Dampfdesinfektionsanlagen 105°C  
Dampfdesinfektionsanlagen 75°C

*Bacillus athrophaeus*  
*Enterococcus faecium*  
(Lagerung im Kühlschrank!)

Die Anzahl der Bioindikatoren richtet sich nach der Größe und dem Fassungsvermögen der zu testenden Anlage.

## Durchführung der Prüfung mit Bioindikatoren:

- äußere Verpackung (Folie) des Bioindikators nicht aufreißen
- zur Angabe der Lokalisation im Gerät die Bioindikatoren mit den mitgeschickten Etiketten **nach** der Sterilisation bekleben und die Lokalisation auf dem Begleitschein beschreiben
- Positivkontrolle wird nicht dem Desinfektionsprogramm ausgesetzt!
- auf gleichmäßige Verteilung der Bioindikatoren im Innenraum achten
- Prüfung unter maximaler Beladung durchführen!
- Desinfektionsprogramm durchführen
- nach Beendigung des Programms Bioindikatoren entnehmen  
(äußere Verpackung kann mit der Hand angefasst werden)
- Rücksendung der trockenen Bioindikatoren einschließlich Positivkontrolle und Probenbegleitschein

## Befundung/Beurteilung

Wird der Testkeim im Anreicherungsverfahren nach 7-tägiger Bebrütung nicht nachgewiesen, gibt es keinen Hinweis auf unzureichende Funktion des Programms.

Ist auch nur eines der Sporenpäckchen mit Keimwachstum auffällig geworden, sollte ein Techniker hinzugezogen werden und eine Nachkontrolle erfolgen. Zum Zeitpunkt eines positiven Befundes ist von keiner ausreichenden Sterilisationsleistung auszugehen.

## Chemisch-thermische Desinfektionsverfahren

### Anforderung

Kontrolluntersuchung von Desinfektionsverfahren z.B. Endoskopwaschautomaten, Wäschedesinfektion, Bettgestell-Desinfektionsanlagen, OP-Schuhreinigungsautomaten.

## 1) Überprüfung mittels Des-Controller (Firma Meducomp GmbH)

Hierfür werden geschlossene Keimträger der Fa. Meducomp verwendet. Der Testkeim (*Enterococcus faecium* + Blut) ist von einer thermisch, mechanisch und chemisch stabilen und dennoch flexiblen Membran umhüllt (Lagerung im Kühlschrank empfohlen).

Bestellung: Telefonisch: 0931/ 31 46929 oder Fax: 0931/ 31 46445 oder schriftlich:

Institut für Hygiene und Mikrobiologie  
der Universität Würzburg  
Hygiene-Labor  
Josef-Schneider-Str. 2/ Gebäude E 1  
97080 Würzburg

### Durchführung der Prüfung:

- Die Chargen-Nr. des jeweiligen verwendeten „Des-Controllers“ auf dem Probenbegleitschein prüfen und zuordnen
- Transportkontrolle bleibt unbehandelt!
- In dem zu prüfenden Desinfektions-Gerät fixieren (so, dass er nicht weggespült werden kann)
- Nach Beendigung des Desinfektions-Programms den Indikator unter Leitungswasser abspülen und zwischen Zellstoff trocknen
- Rücksendung der trockenen Bioindikatoren einschließlich Positivkontrolle und Probenbegleitschein

### Befundung/ Beurteilung

Wird der Testkeim nicht mehr nachgewiesen, gibt es keinen Hinweis auf unzureichende Funktion des Programms. Die Reinigungsleistung kann nicht beurteilt werden, da es sich um ein geschlossenen Prüfkörper handelt.

Das Prüfverfahren ist derzeit noch nicht durch gültige Normen geregelt.

## Untersuchung von Desinfektionsmittelproben aus Desinfektionsmitteldosieranlagen auf Pseudomonaden, Enterobacteriaceae und *Acinetobacter baumannii*

### Anforderung

Primär oder sekundär resistenten Erregern gelingt es unter bestimmten Voraussetzungen, auch in Desinfektionsmittellösungen zu überdauern und sich sogar zu vermehren.

Deshalb ist die regelmäßige Kontrolle von Desinfektionsmittelmischanlagen wichtiger Bestandteil der Qualitätssicherung in medizinischen Einrichtungen.

### Beachte:

Durch die Wirkung des jeweiligen Desinfektionsmittels sind die vorhandenen Keime mit üblichen Methoden kaum anzüchtbar. Der Wirkstoffeffekt des Desinfektionsmittels muss deshalb mit einer Inaktivierungslösung unterbunden werden.

### **Probennahme**

Sterile Glasflaschen, in denen die nötige Inaktivierungslösung (100 ml) vorgelegt wurde, erhalten sie nach Terminabsprache im Hygiene-Labor (0931/31 46943). Bitte rechtzeitig anfordern, da die Inaktivierungslösung immer frisch hergestellt werden muss.

Die Probennahme sollte nur durch qualifizierte Probennehmer (z.B. Hygienefachkräfte/Hygienetechniker) und unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden.

### Transport

Die Probe sollte in dem sterilen Gefäß der Inaktivierungslösung bei Umgebungstemperatur innerhalb von 24 h im Labor eintreffen.

### **Mindestprobenmenge**

Pro Dosieranlage (Incidin plus 0,5%, Terralin Protect 0,5%) werden 100 ml entnommen und direkt in die dafür vorgesehene Glasflasche mit Inaktivierungslösung überführt.

Pro Dosieranlage (Sekusept 4%) werden 25 ml entnommen und direkt in die dafür vorgesehene Glasflasche mit Inaktivierungslösung überführt.

### **Befundung/Bewertung**

Kein Nachweis von *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter baumannii* und Enterobacteriaceae.

## **Untersuchung von Wasser aus Dentaleinheiten**

### **Anforderung**

Die mikrobiologische Untersuchung von Zahnstühlen ist Gegenstand der RKI Richtlinie „Infektionsprävention in der Zahnheilkunde von 2006“. Danach sollte eine regelmäßige Untersuchung der Gesamtkeimzahl pro Zahnarztstuhl und eine Untersuchung auf Legionellen pro Versorgungseinheit durchgeführt werden.

Zusätzlich sollte ein *P. aeruginosa*-Nachweis pro Zahnarztstuhl bei Behandlung von immunsupprimierten Patienten durchgeführt werden.

### **Analyt**

Koloniezahl/ml 36°C (am UKW zusätzl. 20°C) nach DIN EN ISO 6222 bzw. TrinkwV a. F. (05.12.90)

Legionellen in 1ml-Oberflächenverfahren (optional in 100ml) nach ISO 11731-2

*P. aeruginosa* in 1ml (am UKW optional in 100ml) nach ISO 16266

(Alternatives Verfahren: Pseudalert®/Quanti-Tray®)

**Mindestprobenmenge:** ca. 10 ml/ optional bis zu 210ml pro Entnahmestelle

### **Hinweis zur Probennahme**

Die möglichst sterile Probennahme erfolgt durch eingewiesene Zahnarzthelferinnen/-helfer oder anderes geschultes Personal (Hygienetechniker).

Nach Ablaufen des Wassers über einen Zeitraum von 20 sec. wird die Probe am Mundglasfüller entnommen.

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein.

Sterile Probengefäße mit Natrium-Thiosulfat können nach Absprache mit dem Hygiene-Labor (0931/31 46929) zur Verfügung gestellt werden.

### Transport

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

### **Befundung/Beurteilung**

Die Ergebnisse werden entsprechend den Grenz- und Richtwerten der RKI-Richtlinie: „Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene“ (Bundesgesundheitsblatt 2006) beurteilt.

## **Untersuchung von Wasser aus leitungsgebundenen Wasserspendern („Trinkbrunnen“) am UKW**

### **Anwendung**

Untersuchung von Trinkbrunnen als kontinuierliches Hygienemonitoring im Klinikbereich.

### Analyt

Koloniezahl/ml nach DIN EN ISO 6222 und TrinkwV a. F. (05.12.90)  
*Pseudomonas aeruginosa* nach DIN 16266

**Mindestprobenmengen:** ca. 125 ml

### **Hinweis zur Probennahme:**

Für die Probenahme erhalten Sie sterile Flaschen mit Natrium-Thiosulfat nach Terminvereinbarung im Hygiene-Labor (0931/ 31 46929)

Die Flaschen sollten nicht bis über den Flaschenhals befüllt werden (ca. 5/6), um eine bessere Mischung der Probe zu ermöglichen.

Ein weiterer Grund dafür ist, dass das enthaltene Natrium-Thiosulfat, welches zur Enthemmung dient, auf das gekennzeichnete Füllvolumen berechnet ist.

Probe (mit und ohne CO<sub>2</sub>) möglichst kontaminationsfrei entnehmen.  
Als erstes die Probe ohne CO<sub>2</sub>!

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein.

#### Transport:

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt, z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

### **Befundung/Beurteilung**

Die Beurteilung der Gesamtkeimzahl orientiert sich an den Grenzwerten der Trinkwasserverordnung. Jeder Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* weist auf eine Kontamination des Trinkbrunnens hin.

## **Untersuchung von Waschlotionen und Ultraschallkontaktgel**

### **Anwendung**

Überprüfung von handelsüblichen Produkten zur kutanen Anwendung, wie z.B.:

s&m Waschlotionen (Fa.Schülke) auf Nasseime, *P. aeruginosa*  
und

Ultraschallkontaktgel (Fa. Caesar & Loretz GmbH) auf Nasseime, *P. aeruginosa*.

### **Anforderung:**

U.a. den Nasseim *P. aeruginosa* gelingt es unter bestimmten Voraussetzungen auch in handelsüblichen Seifen und Ultraschallkontaktgelen zu überdauern und sich zu vermehren. *P. aeruginosa* ist ein wichtiger Erreger nosokomialer Infektionen. Eine regelmäßige Kontrolle ist daher wichtiger Bestandteil der Qualitätssicherung in medizinischen Einrichtungen.

### **Probenahme:**

Die Probenahme erfolgt vor Ort durch Hygienefachkräfte/ Hygienetechniker des Klinikums. Die Proben sind in Originalverpackungen oder in sterilen Probenahmegefäßen zu transportieren.

### **Transport:**

Die Proben sollten möglichst am Tag der Abnahme/Beschaffung im Labor eintreffen (ggf. ist eine Zwischenlagerung im Kühlschrank und der Versand über 24h möglich).

### **Verarbeitung:**

Die Verarbeitung erfolgt in Anlehnung an die Untersuchung von Produkten zur kutanen Anwendung des Europäischen Arzneibuchs.

**Befundung/Bewertung:**

Nachweis/kein Nachweis von *P. aeruginosa*.  
Ggf. Resistenztestung

**Molekularbiologische Typisierung von bakteriellen Krankheitserregern im Rahmen des Ausbruchsmanagements****Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Pseudomonas aeruginosa*****Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

**Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

**Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

**Zielgen:**

ppsA und trpE; ggf. alle 7 MLST-Loci

**Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen (<http://usmirror1.pubmlst.org/paeruginosa/>) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Curran et al. (2004), Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol 42:5644-9

**Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Escherichia coli*****Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

**Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

**Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

**Zielgen:**

adk, fum und icd; ggf. alle 7 MLST-Loci

**Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Ecoli>) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Wirth et al. (2006), Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 60:1136-51

**Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Klebsiella pneumoniae*  
Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Klebsiella oxytoca*****Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

**Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

**Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

**Zielgen:**

7 MLST-Loci

**Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen (<http://bigsdw.web.pasteur.fr/klebsiella/>, <http://pubmlst.org/koxytoca/>) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Diancourt et al. (2005), Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol* 43:4178-82

Herzog et al. (2014), Genotypes of *Klebsiella oxytoca* isolates from patients with nosocomial pneumonia are distinct from those of isolates from patients with antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 52:1607-1616

## **Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Clostridium difficile***

### **Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

### **Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

### **Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

### **Zielgen:**

7 MLST-Loci

### **Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen (<http://pubmlst.org/cdifficile/>) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Griffiths D, Fawley W, Kachrimanidou M, Bowden R, Crook DW, Fung R, Golubchik T, Harding RM, Jeffery KJ, Jolley KA, Kirton R, Peto TE, Rees G, Stoesser N, Vaughan A, Walker AS, Young BC, Wilcox M, Dingle KE. Multilocus Sequence Typing of *Clostridium difficile*. Journal of Clinical Microbiology, 2010 Mar;48(3):770-8.

## **Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Acinetobacter baumannii***

### **Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

### **Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

### **Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

### **Zielgen:**

7 MLST-Loci

### **Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen

([http://pubmlst.org/perl/bigdb/bigdb.pl?db=pubmlst\\_abaumannii\\_oxford\\_seqdef](http://pubmlst.org/perl/bigdb/bigdb.pl?db=pubmlst_abaumannii_oxford_seqdef)) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodríguez-Valera F. 2005. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2005 Sep;43(9):4382-90. Erratum in: J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):2101.

## **Multilokus Sequenztypisierung (MLST) von *Enterobacter cloacae/aerogenes***

### **Stammauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

### **Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

### **Untersuchungsverfahren:**

PCR und DNA-Sequenzierung

### **Zielgen:**

7 MLST-Loci

### **Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Allele macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: PCR-Produkte der korrekten Größe werden einer doppelsträngigen Sequenzanalyse unterzogen. Durch Vergleich mit einer Datenbank von Referenzsequenzen (<http://pubmlst.org/ecloacae/>) wird die Sequenz einer eindeutigen Allel-Variante zugeordnet.

**Literatur:** Miyoshi-Akiyama T, Hayakawa K, Ohmagari N, Shimojima M, Kirikae T. 2013. Multilocus sequence typing (MLST) for characterization of *Enterobacter cloacae*. PLoS One. 2013 Jun 11;8(6):e66358

## **Molekulare Typisierung von Vancomycin-resistenten *Enterococcus faecium*-Stämmen mittels MLVA (Multilocus variable number of tandem repeats analysis)**

### **Patientenauswahl:**

Isolate von Patienten und Umgebungsuntersuchungen nach Auswahl durch den Krankenhaushygieniker

### **Untersuchungsmaterial:**

Bakterienisolate auf Festkulturnährmedium

### **Untersuchungsverfahren:**

PCR und Gel-Elektrophorese

### **Zielgen:**

6 Genloci mit repetitiven DNA-Sequenzen werden anhand der Repeat-Zahl bewertet.

**Befundinterpretation:**

Diese Untersuchung ermöglicht den Stammvergleich. Der Nachweis unterschiedlicher Repeat-Zahlen macht einen epidemiologischen Zusammenhang unwahrscheinlich.

Nachweisgrenze: entfällt

Spezifität: Die PCR-Produkte werden elektrophoretisch aufgetrennt und größenspezifische Allelnummern zugeordnet. Durch Vergleich des Profils der Allelnummern mit einer Datenbank wird ein MLVA-Typ ermittelt.

**Literatur:** Top, J. et al. (2004) Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis, a novel typing scheme to study the genetic relatedness and epidemiology of *Enterococcus faecium* isolates. J Clin Microbiol 42:4503-11  
Abele-Horn, M. et al. (2006) Molecular epidemiology of hospital-acquired vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 44:4009-13

## Sterilitätsprüfung nach EuAB

### Anforderung

Im Rahmen der Zubereitung von Flüssigkeiten ist ggf. eine Kontrolle des Endproduktes auf Sterilität durchzuführen.

#### 1) Membranfiltermethode (Steritest-Set der Firma Millipore)

Die Membranfiltermethode wird bei Flüssigkeiten und wässrigen Lösungen oder Zubereitungen, die in Wasser oder anderen geeigneten Lösungsmitteln löslich sind, angewendet. Der Vorteil besteht darin, dass es sich um ein geschlossenes System mit geringer Kontaminationsgefahr handelt.

#### 2) Direktbeschickungsmethode

Die Direktbeschickungsmethode wird bei Feststoffen, löslichen, unlöslichen, suspendierbaren oder emulgierbaren Zubereitungen sowie bei Cremes und Salben angewendet. Es wird eine definierte Menge des Materials in Flüssigmedien gegeben.

### Hinweise für den Einsender:

Der Probenbegleitschein muss Angaben über die antimikrobielle Aktivität (Hemmstoffe) und Konservierungsstoffe des zu untersuchenden Produktes enthalten.

Bei jedem neuen Produkt wird die Eigenhemmung in einer Validierungsprüfung durch Kontamination mit mehreren Testkeimen untersucht.

#### Transport:

Die Proben sollten in der Originalverpackung bei Umgebungstemperatur an das IHM gebracht bzw. versandt werden. Die Dauer des Transportes ist in den meisten Fällen unkritisch.

### Mindestprobenmenge:

Richtet sich nach der hergestellten Chargengröße und nach der Füllmenge des Probenbehältnisses, jedoch mindestens 2 ml für die Membranfiltermethode/ mindestens 20 ml für die Direktbeschickungsmethode.

(vgl. EuAB)

Beachte: Mindestens die gleiche Probenmenge ist bei Ersteinsendung, Änderungen in der Rezeptur oder bei Änderungen der experimentellen Bedingungen für eine erneute Validierungsprüfung erforderlich!

Ggf. Rücksprache mit dem Hygiene-Labor.

### Befundung/Beurteilung

Nach 7-tägiger Bebrütung bei 23°C und 33°C erfolgt ein vorläufiger Prüfbericht. Es darf kein Keimwachstum nachweisbar sein.

Nach 14-tägiger Bebrütung bei 23° und 33°C darf kein Keimwachstum nachweisbar sein. Es erfolgt ein endgültiger Prüfbericht.

# Untersuchung von *Aqua purificata* gemäß EuAB

## Anforderung

Überprüfung von gereinigtem bzw. enthärtetem Wasser, dass für die Herstellung von Arzneimitteln bestimmt ist, die weder steril noch pyrogenfrei sein müssen.

## Hinweise für den Einsender:

Mindestprobenmenge: ca. 125 ml

Die sterilen Flaschen mit Natrium-Thiosulfat sollten nicht bis über den Flaschenhals befüllt werden (ca. 5/6), um eine bessere Mischung der Probe zu ermöglichen.

Ein weiterer Grund dafür ist, dass das enthaltene Natrium-Thiosulfat, welches zur Enthemmung dient, auf das gekennzeichnete Füllvolumen berechnet ist.

Sterile Flaschen erhalten Sie nach Terminvereinbarung im Hygiene-Labor (0931/ 31 46929).

## Transport

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt, z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

## Befundung/Beurteilung

Nach EuAB (8. Ausgabe Grundwerk 2014) gilt als angemessener Wert von gereinigtem Wasser zum Eingreifen eine Gesamtkeimzahl koloniebildender Einheiten von 100 KBE/ml, bestimmt durch Filtration.

Teilweise ist vom Kunde eine Differenzierung bei > 0 KBE/ml gewünscht.

Alternativ:

Beurteilung nach QMS des Einsenders (z. B. enthärtetes Wasser: 5.000 – 25.000 KBE je Milliliter).

# Prüfung auf mikrobielle Verunreinigung bei nicht sterilen Naturprodukten oder Arzneimitteln nach EuAB 8.0/2.6.12/2.6.13/2.6.31/5.1.4 und 5.1.8

## Anforderung

Chargenkontrolle und zur Kontrolle des Herstellungsprozess von Arzneimitteln und Naturprodukten.

## Analyt

1. Gesamtkeimzahl:

Bakterien (TAMC)  
Hefen und Schimmelpilze (TYMC)

2. Nachweis bestimmter Mikroorganismen:

*Escherichia coli*  
Salmonellen  
Galletolerante gramnegative Bakterien  
*Staphylococcus aureus*  
*Pseudomonas aeruginosa*

**Für derzeitige Einsender bedeutsame Kategorien mit den jeweiligen Grenzwerten:**

**Das EuAB (8. Ausgabe Grundwerk 2014) teilt die zu untersuchenden Materialien in verschiedene Darreichungsformen ein:**

**Kategorie kutane Anwendung** gemäß EuAB 8.0 Grundwerk 2014, 5.1.4  
Anwendungen in der Mundhöhle, Anwendung am Zahnfleisch, kutane Anwendung, Anwendung in der Nase, Anwendung am Ohr

höchstens  $10^2$  TAMC KBE/g bzw ml  
höchstens  $10^1$  TYMC KBE/g bzw. ml  
zulässiger Toleranzfaktor für TAMC und TYMC: **2**  
in 1g bzw. ml kein *S. aureus* oder *P. aeruginosa*

**Kategorie A** gemäß EuAB 8.0 Grundwerk 2014, 5.1.8

Pflanzliche Arzneimittel (mit oder ohne Hilfsstoffe), die pflanzliche Drogen enthalten, welche zur Herstellung eines Aufgusses oder Dekokts unter Verwendung von siedendem Wasser bestimmt sind (z.B. Tees mit oder ohne Zusatz von Aromastoffen)

maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^7$  TAMC KBE/g bzw ml  
maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^5$  TYMC KBE/g bzw. ml  
höchstens  $10^3$  KBE/g bzw. ml *E.coli*  
in 25g bzw. ml keine Salmonellen

## **Kategorie B**

gemäß EuAB 8.0 Grundwerk 2014, 5.1.8

Pflanzliche Arzneimittel (mit oder ohne Hilfsstoffe), die z.B. Extrakte und / oder pflanzliche Drogen enthalten, deren Herstellungsverfahren (z.B. Extraktion) oder, falls zutreffend, im Falle pflanzlicher Drogen, deren Vorbehandlung den Gehalt an Mikroorganismen so weit reduziert, dass er den nachfolgenden Kriterien für die Kategorie entspricht.

maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^4$  TAMC KBE/g bzw ml  
maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^2$  TYMC KBE/g bzw. ml  
höchstens  $10^2$  KBE/g bzw. ml gramnegative Bakterien, die gegen Gallensalze resistent sind  
in 1g bzw. ml kein *E. coli*  
in 25g bzw. ml keine Salmonellen

## **Kategorie C**

gemäß EuAB 8.0 Grundwerk 2014, 5.1.8

Pflanzliche Arzneimittel (mit oder ohne Hilfsstoffe), die z.B. Extrakte und / oder pflanzliche Drogen enthalten, deren Herstellungsverfahren (z.B. Extraktion bei niedrigen Alkoholkonzentrationen oder mit nicht siedendem Wasser oder durch Konzentrieren bei niedriger Temperatur) oder, im Falle von pflanzlichen Drogen, deren Vorbehandlung den Gehalt an Mikroorganismen nicht ausreichend reduziert, um den unter Kategorie B geforderten Kriterien zu entsprechen.

maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^5$  TAMC KBE/g bzw ml  
maximale annehmbare Anzahl  $5 \times 10^4$  TYMC KBE/g bzw. ml  
höchstens  $10^4$  KBE/g bzw. ml gramnegative Bakterien, die gegen Gallensalze resistent sind  
in 1g bzw. ml kein *E. coli*  
in 25g bzw. ml keine Salmonellen

Abkürzungen:

TAMC = *Total Aerobic Microbial Count*,

TYMC = *Total combined Yeasts/Mould Count*

GKZ = Gesamtkeimzahl

**Mindestprobenmenge:** 40 - 50 g

## **Hinweise zur Probennahme**

Die Entnahme aus der entsprechenden Charge unter Beachtung steriler Kautelen .

Die Einsendung sollte Montag – Donnerstag bis 12:00 Uhr, Freitag bis 11:00 Uhr erfolgen oder in eiligen Fällen nach Absprache mit dem Hygiene-Labor (0931/ 31 46929).

Der Probenbegleitschein muss folgendes unbedingt enthalten:

- Angabe bei vorhandener mikrobieller Aktivität
- Die Kategoriezuordnung sollte mit dem gewünschten Parameter in der zu untersuchenden Mengenangabe angegeben werden.

### Probentransport:

Der Transport erfolgt bei Umgebungstemperatur. Die Dauer des Transportes ist in den meisten Fällen unkritisch.

## Befundung/Beurteilung

Die Beurteilung erfolgt nach dem Europäischen Arzneibuch 8. Ausgabe Grundwerk 2014

# Wasserhygiene

## Untersuchung von Trinkwasser für den menschl. Verbrauch nach der Trinkwasserverordnung/Trinkwasser zur Abfüllung in Behältnissen bestimmt

### Anforderung

Routinemäßige bzw. periodische Untersuchung von Wasser aus kommunalen und Eigenversorgungsanlagen, welche der Untersuchung nach TrinkwV unterliegen.

### Analyt

- Bestandteil der routinemäßigen Untersuchung - Allgemeine Anforderungen an Trinkwasser

***E. coli / Coliforme / 100 ml nach ISO 9308-1***

***Alternatives Verfahren: Colilert®-18/Quanti-Tray®***

***Enterokokken / 100 ml nach ISO 7899-2***

***Alternatives Verfahren: Enterolert®-DW/Quanti-Tray®***

***Legionellen / 100 ml nach ISO 11731-2***

(ist Bestandteil der TrinkwV und muss unter bestimmten Voraussetzungen 1 x jährlich untersucht werden)

Die Anzahl an Proben hängt von der Art des Wasserverteilungssystems und dem Zweck der Untersuchung ab. Die Untersuchung erfolgt nach Anforderung.

- Allgemeine Indikatorparameter

***Koloniezahl / ml nach TrinkwV a.F. (05.12.90) und/oder DIN EN ISO 6222***

- Optional im Bereich der jährlichen Beprobung der Probenahmestellen des Wassersicherheitsplan am UKW

***Pseudomonas aeruginosa / 100 ml nach ISO 16266***

***Alternatives Verfahren: Pseudalert®/Quanti-Tray®***

### **Hinweise zur Probennahme:**

Die Entnahme vor Ort erfolgt durch zertifizierte Probennehmer (ggf. nach Terminabsprache) nach DIN EN ISO 19458:2006. Wird die Entnahme von nicht akkreditierten Personen durchgeführt, so liegt die Probenentnahme in der Verantwortung des Auftraggebers und der Prüfbericht wird unter Vorbehalt erstellt.

Zur Probenahme erhalten Sie sterile Flaschen mit Natrium-Thiosulfat-Zusatz nach Terminvereinbarung im Hygiene-Labor (0931/ 31 46929).

Die Flaschen sollten nicht bis über den Flaschenhals befüllt werden (ca. 5/6), um eine bessere Mischung der Probe zu ermöglichen.

Ein weiterer Grund dafür ist, dass das enthaltene Natrium-Thiosulfat, welches zur Enthemmung dient, auf das gekennzeichnete Füllvolumen berechnet ist.

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein.

Die Angaben über die Entnahmestelle, Entnahmezeit, Probentemperatur und ggf.

Temperaturkonstante und zur Chlorierung sind auf der Rückseite zu notieren

(*Tabelle 2, Trinkwasser/Badewasser/Wasser*), ebenso Angaben zum Probennehmer, dem Abnahmzweck (A, B oder C) und dem Grund der Überprüfung.

### **Mindestprobenmengen:**

Koloniezahl /ml bei 22°C und 36°C → 2ml

*E. coli*/Coliforme / 100 ml

(für jeden weiteren Parameter zusätzl. 100 ml)

### Transport:

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt, z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

### **Befundung/Beurteilung**

Die Ergebnisse werden entsprechend den Grenzwerten der TrinkwV beurteilt.

# Untersuchung von Schwimm- und Badebeckenwasser nach DIN 19643/1

## Anforderung

Die Untersuchung von Badebeckenwasser, insbesondere auch die Untersuchungsparameter und Probenhäufigkeit sind in der DIN 19643 (Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser) geregelt.

## Mindestprobenmenge und Analyt

Routineuntersuchung bei Beckenwasser und Filtrat:

Mindestprobenmenge 500 ml

**Koloniezahl / ml nach DIN EN ISO 6222 (nur bei 36°C)**

***E. coli* / 100 ml nach ISO 9308-1**

**Alternatives Verfahren: Colilert®-18/Quanti-Tray®**

***Pseudomonas aeruginosa* / 100 ml nach ISO 16266**

**Alternatives Verfahren: Pseudalert®/Quanti-Tray®**

**Legionellen / 100 ml nach DIN EN ISO 11731-2**

Untersuchung von Reinwasser nur bei auffälligem Befund von Beckenwasser

## Hinweise zur Probennahme

Die Entnahme vor Ort erfolgt durch zertifiziertes Personal.

Zur Probenahme erhalten Sie sterile Flaschen mit Natrium-Thiosulfat-Zusatz nach Terminvereinbarung im Hygiene-Labor (0931/ 31 46929).

Die Flaschen sollten nicht bis über den Flaschenhals befüllt werden (ca. 5/6), um eine bessere Mischung der Probe zu ermöglichen.

Beckenwasser (Wasser in Schwimm- und Badebecken)

Die Probennahme erfolgt während der Hauptbelastungszeit des Beckens ca. 50 cm vom Beckenrand entfernt aus dem oberflächennahen Bereich als Schöpfprobe.

Filtrat (aufbereitetes Wasser vor Einmischung des Desinfektionsmittels)

Wasserprobe aus der Filtratleitung unmittelbar vor Einmischung des Desinfektionsmittels

Reinwasser (aufbereitetes Wasser nach Einmischen von Desinfektionsmittel)

Die Probennahme erfolgt aus dem Zapfhahn der Reinwasserleitung unmittelbar vor Eintritt des Wassers in das Becken.)

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein. Die Angaben über die Entnahmestelle, Entnahmezeit, Probentemperatur und zur Chlorierung sind auf der Rückseite zu notieren. (*Tabelle 2, Trinkwasser/Badewasser/Wasser*). Ebenso Angaben zum Probenehmer und dem Grund der Überprüfung.

Transport:

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt, z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks), transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

## Befundung/Beurteilung

Die Ergebnisse werden entsprechend den Grenzwerten von Schwimm- und Badewasser nach DIN 19643/1 beurteilt.

# Nachweis von Legionellen aus wasserführenden Systemen

## Anforderung:

Die Untersuchung soll eine Aussage über eine mögliche Kontamination eines Systems mit Legionellen und deren Ausmaß liefern, um eine Bewertung und ggf. geeignete Abwehrmaßnahmen vornehmen zu können.

Grundsätzlich sind die Vorgaben der Trinkwasserverordnung zu beachten, wonach Legionellenuntersuchungen in Hausinstallationen, aus denen Wasser an die Öffentlichkeit abgegeben wird (z.B. Schulen, Kindergärten, Krankenhäuser und sonstige Einrichtungen) einmal jährlich vorgeschrieben sind (Warmwasserspeicher > 400 Liter/> 3 Liter Wasser im Rohrleitungssystem).

## Mindestprobenmengen: 150 ml pro Probe

Die Anzahl der Proben ist abhängig von der Art des Wasserverteilungssystems und dem Zweck der Untersuchung.

## Hinweis zur Probennahme

Die Proben sind gemäß der jeweils gültigen Fassung der Empfehlung des Umweltbundesamtes Nachweis von Legionellen in Trink- und Badebeckenwasser und unter Beachtung der Trinkwasserverordnung durch akkreditierte Probennehmer zu entnehmen. Zur Probenahme erhalten Sie sterile Flaschen mit Natrium-Thiosulfat-Zusatz nach Terminvereinbarung im Hygiene-Labor (0931/ 31 46929)

Die Flaschen sollten nicht bis über den Flaschenhals befüllt werden (ca. 5/6) um eine bessere Mischung der Probe zu ermöglichen.

Der Probenbegleitschein muss vollständig ausgefüllt sein.

Die Angaben über die Entnahmestelle, Entnahmezeit, Probentemperatur und ggf. Temperaturkonstante und zur Chlorierung sind auf der Rückseite zu notieren (*Tabelle 2, Trinkwasser/Badewasser/Wasser*), ebenso Angaben zum Probennehmer, dem Abnahmezweck und dem Grund der Überprüfung.

## Transport

Die Proben sollten gekühlt bei 4-8°C und lichtgeschützt, z. B. in Behältern aus Styropor mit Kühlelementen (Kühlpacks) transportiert werden und innerhalb von 8 h im Labor eintreffen.

## Befundung/Beurteilung

Bei der Untersuchung in Trinkwassererwärmungs- und Leitungsanlagen gelten die Angaben nach DVGW-Merkblatt W 551.

Bei Wasser aus Rückkühlwerken erfolgt eine Bewertung nach dem „Informationsblatt für Betreiber von Verdunstungsrückkühlwerken (VRKW)“ des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit. (Stand: 1. Januar 2007). Es wird empfohlen, den Richtwert von 1000 KBE/ Liter Legionella species zu unterschreiten.

## Untersuchung von Kakao und Schokolade auf Salmonellen

### **Anforderung**

Chargenkontrolle bei der Produktion von schokoladehaltigen Produkten.

Um eine gesundheitliche Gefährdung der Verbraucher zu vermeiden, müssen Lebensmittel hygienisch-mikrobiologisch überwacht werden. Stichprobenumfang, Untersuchungsspektrum und ggf. Bewertungskriterien werden durch den Auftraggeber festgelegt.

Die Durchführung der Untersuchung erfolgt nach DIN EN ISO 6579:2002 + A1:2007.  
Der Probenbegleitschein muss eindeutig und vollständig mit dem gewünschten Parameter in der zu untersuchenden Mengenangabe angegeben sein.

**Mindestprobenmenge:** nach Vorgaben des QMS des Einsenders (100 g)

### **Hinweise für den Einsender:**

Die zu untersuchende Menge ist auf dem Probenbegleitschein unbedingt zu vermerken.

### Transport

Der Transport erfolgt bei Umgebungstemperatur. Die Dauer des Transportes ist in den meisten Fällen unkritisch.

### **Befundung/Beurteilung**

Salmonellen dürfen in der jeweiligen Menge nicht nachgewiesen werden

# Überprüfung von Blut und Blutkomponenten auf Mikrobiologische Qualität

## Anforderung

Im Rahmen der Qualitätssicherung (nach den Vorgaben des Arbeitskreises Blut, Bundesgesundheitsblatt 56:474-475/Votum 43) von Blut und Blutprodukten müssen Stichprobenuntersuchungen, Qualitätskontrollen und Proben nach Transfusionsreaktionen auf Mikrobiologische Qualität durchgeführt werden.

Mindestprobenmenge: 20 ml +/- 2 ml Beutelinhalt

## Analyt

1. Hinweis auf Mikrobiologische Qualität von Blut- und Blutprodukten  
(Anzucht in BacT/Alert® SN (anaerob) und SA (aerob) - Kulturflaschen!)
2. Mikroorganismen: - Aerobe und anaerobe Bakterien

- Pilze

## Hinweise für den Einsender:

### Transport:

Der Transport der Produkte erfolgt möglichst keimfrei verpackt in einer Tüte bei Umgebungstemperatur.

(bei zu spätem Eintreffen (nach 15:30 Uhr) im Hygienelabor ist eine Zwischenlagerung bis zum nächsten Tag im Kühlschrank bei 2-8°C bzw. Raumtemperatur möglich.)

## Befundung/Beurteilung

Die Ergebnisse werden nach den Vorgaben des Arbeitskreises Blut, Bundesgesundheitsblatt 56:474-475/Votum 43 beurteilt.