



Medizinische Universität Graz

Erfassung von luftgetragenen, kultivierbaren Mikroorganismen in Reinräumen mittels aktiver und passiver Probennahme

Franz F. Reinthaler

7. Innenraumtag des Ministeriums für eine lebenswerte Umwelt - 8. November 2016

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin



Medizinische Universität Graz

Passiv: Sedimentationsverfahren

für Schimmelpilzuntersuchungen Innenraum:

- Umweltbundesamt: ...keine reproduzierbaren quantitativen Ergebnisse möglich
- ...kann zum Nachweis kultivierbarer Schimmelpilzsporen bei Luftuntersuchungen **nicht empfohlen werden!**

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Sedimentationsverfahren



Medizinische Universität Graz

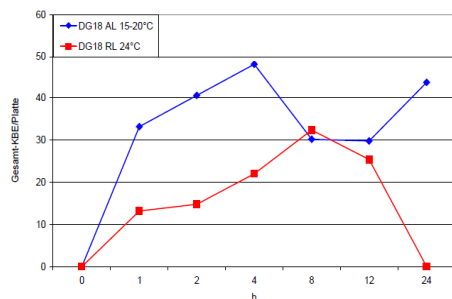
OPD-Test (open petri dish):

- Die Sinkgeschwindigkeit der Partikel hängt von ihrer Dichte, den thermischen Auftrieben und der Luftströmung im Raum ab
- Kleine Sporen sedimentieren schlecht (zB. *Aspergillus*-Arten)
- Rasch wachsende Pilze (zB. *Rhizopus*) können Platten überwuchern usw.
- Artefakte sind immer möglich
- Transport ist nicht standardisiert
 - durch Schütteln quantitative Aussagen wertlos usw.

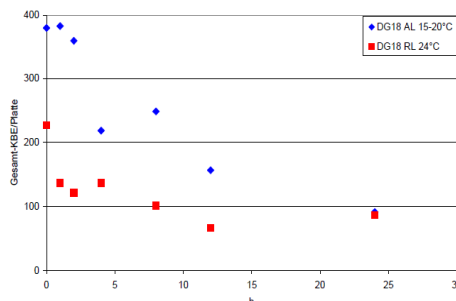
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Gesamt-KBE bestimmt auf DG 18 mittels Sedimentation und Impaktion

Sedimentation




Impaktion



Th. Gabrio


Food Control 20 (2009) 997–1001

Contents lists available at ScienceDirect



Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont




The performance of SAS-super-180 air sampler and settle plates for assessing viable fungal particles in the air of dry-cured meat production facility

Dereje T. Asefa ^a, Solveig Langsrud ^b, Ragnhild O. Gjerde ^c, Cathrine F. Kure ^b, Maan S. Sidhu ^d, Truls Nesbakken ^e, Ida Skaar ^{a,*}

^a National Veterinary Institute, Section of Mycology, Ullevålsveien 68, Post Box 750, 0106 Sentrum, Oslo, Norway

Quantitatively, the air sampler showed higher numbers of species and mean CFU/plate compared to settle plates.
Qualitatively, the two methods showed similar dominating fungal genera

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin



Medizinische Universität Graz

➤ Die passive Probenahme über die Sedimentation ist ungeeignet und wird nur bei bestimmten Fragestellungen (zB in **Reinräumen**) empfohlen!!!

?

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Hintergrund



Medizinische Universität Graz

- EG-Leitfaden der Guten Herstellungspraxis (Anhang 1, März 2008)
 - Herstellung steriler Arzneimittel
 - unterschiedlichen Reinheitsklassen
 - Grenzwerte für mikrobielle Belastung der Luft, die nicht überschritten werden dürfen

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Hintergrund



Medizinische Universität Graz

- Bei aseptischen Herstellungsvorgängen Kontrollen mikrobiolog. Kontamination durchführen z.B. Sedimentationsplatten und Entnahme volumetrischer Luftproben
- Keine weiteren Angaben zur Methode oder Durchführung mikrobiolog. Kontrollen; häufig wird Sedimentationsmethode eingesetzt

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Hintergrund



Medizinische Universität Graz

- Reinheitsklassen

- Klasse A: lokale Zone für Arbeitsvorgänge mit hohem Risiko (z.B. Abfüllbereich, Herstellung aseptischer Verbindungen)
- Klasse B: Hintergrundumgebung, Zone für aseptische Zubereitung
- Klasse C, D: reine Bereiche für die weniger kritischen Schritte bei Herstellung steriler Produkte

Empfohlene Grenzwerte für die mikrobiologische Kontamination
(EG-Leitfaden der Guten Herstellungspraxis, Anhang 1)

Reinheitsklasse	Aktive Probennahme KBE/m ³	Passive Probennahme KBE/4h*
A	<1	<1
B	10	5
C	100	50
D	200	100

*einzelne Sedimentationsplatten können weniger als 4h exponiert werden

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Studie



Medizinische Universität Graz

- Erfassung kultivierbarer, myzelbildender Schimmelpilze in **Sicherheitswerkbänken**
- Vergleich der aktiven und passiven Probennahme

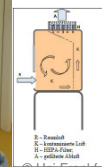
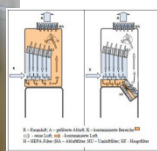
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Methoden



Medizinische Universität Graz

- Messorte
 - Laminar-Flow-Sicherheitswerkbänke (n=4)
 - Laborabzüge (n=3)



Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Methoden



Medizinische Universität Graz

- Aktive und passive Probennahme
 - Impaktion mittels MAS-100NT®
 - Sedimentation
- Nährmedien
 - Malzextraktagar (MEA)
 - Dichloran-Glycerol-Agar (DG18)



Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Methoden



Medizinische Universität Graz

- Messungen im Ruhezustand nach 30 min „Clean-up-Phase“
- Parallelmessungen - Mittelwert
- Aktive Luftkeimsammlung
 - Impaktor mittig Werkbank platziert
 - Sammelstart 1 min verzögert
 - Sammelvolumen 100L/min
- Passive Luftkeimsammlung
 - Petrischalen mittig Werkbank platziert
 - 2h geöffnet



Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

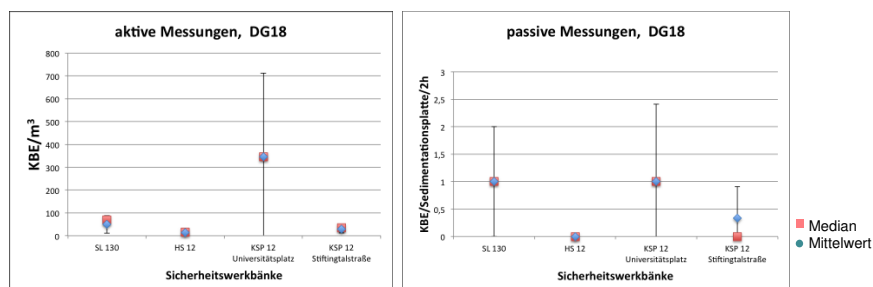
Ergebnisse



Medizinische Universität Graz

Sicherheitswerkbänke, quantitativ

(aktive/passive Probennahme, KBE/m³ - KBE/2h, DG18 Agar)



- Pilzsporenkonzentrationen: 0 bis $6,1 \times 10^2$ KBE/m³
Mittelwerte "SL130" 50 KBE/m³, "HS12" 13 KBE/m³, "KS12U" 345 KBE/m³, "KS12S" 30 KBE/m³
- Sedimentation: 0 bis 2 KBE/2h
Mittelwerte "SL130" 1 KBE/2h, "HS12" 0 KBE/2h, "KS12U" 1 KBE/2h, "KS12S" 0,3 KBE/2h

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin



Medizinische Universität Graz

Empfohlene Grenzwerte für die mikrobiologische Kontamination
(EG-Leitfaden der Guten Herstellungspraxis, Anhang 1)

Reinheitsklasse	Aktive Probennahme KBE/m ³	Passive Probennahme KBE/4h*
A	<1	<1
B	10	5
C	100	50
D	200	100

*einzelne Sedimentationsplatten können weniger als 4h exponiert werden

KS12S"	30 KBE/m ³	0,3 KBE/2h
KS12U"	345 KBE/m ³	1 KBE/2h
HS12"	13 KBE/m ³	0 KBE/2h

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

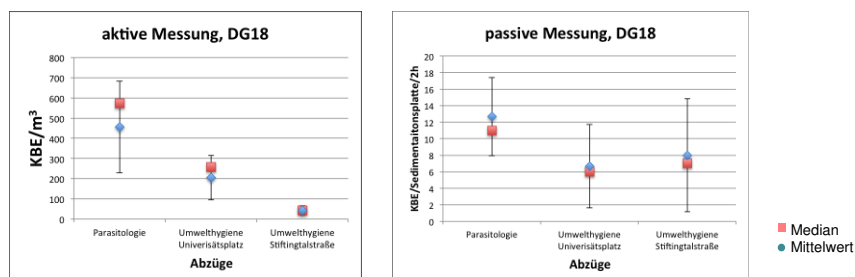
Ergebnisse



Medizinische Universität Graz

Laborabzüge, quantitativ

(aktive/passive Probennahme, KBE/m³ - KBE/2h, DG18 Agar)



- Pilzsporenkonzentrationen: 15 bis $8,4 \times 10^2$ KBE/m³
Mittelwerte "Para" 574 KBE/m³, "Umwelt1" 258 KBE/m³, "Umwelt2" 43 KBE/m³
- Sedimentation: 1 bis 18 KBE/2h
Mittelwerte "Para" 13 KBE/2h, "Umwelt1" 7 KBE/2h, "Umwelt2" 8 KBE/2h

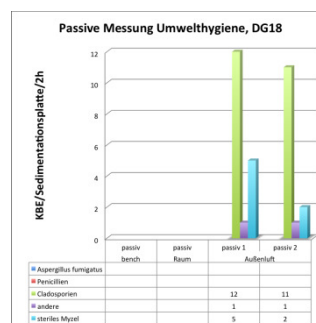
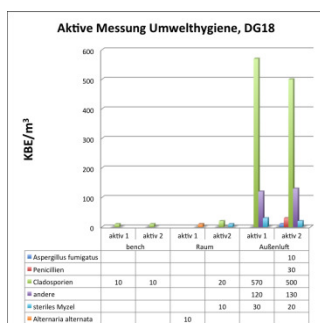
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

Ergebnisse



Medizinische Universität Graz

Sicherheitswerkbank, quantitativ/qualitativ (aktive/passive Probennahme, KBE/m³ - KBE/2h, DG18 Agar)



Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin



Medizinische Universität Graz

Zusammenfassung:

- Aktive Methode im Vergleich zur passiven Methode
 - Impaktion zeigte quantitativ aussagekräftigere Ergebnisse für die Qualitätssicherung (94%, n=345)
 - mit der aktiven Methode war eine höhere Artenvielfalt nachweisbar

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin



Medizinische Universität Graz

Danke!



Team: Herbert Galler, Doris Haas,
Weiters: Anna-Maria Gutschi, Susanne Lesch, Juliana Habib, Fritz Carola, Christina Hasler, Martin Stonitsch

Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin