

Aus dem
Institut für Tier- und Umwelthygiene
des Fachbereichs Veterinärmedizin

**Vergleich von Aufgießverfahren und Nasstupferverfahren
zur Beurteilung der Desinfizierbarkeit von Oberflächenmaterialien in einem
Zoologischen Garten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kirstin Oberhäuser
Tierärztin aus Neunkirchen

Berlin 2004
Journal-Nr. 2840

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: _____ Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: _____ Prof. Dr. W. Müller
Zweiter Gutachter: _____ Prof. Dr. H. M. Hafez
Dritter Prüfer: _____ Prof. Dr. G. Schlenker

Deskriptoren nach CAB Thesaurus: _____ disinfection, building materials, culture media,
bacterial counting

Tag der Promotion: _____ 27. August 2004

Meinen Eltern
Meiner Oma
und der Familie Benjamin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Grundlagen	9
1.2	Abkürzungen und Termini	10
2	Literaturübersicht	12
2.1	Methoden zur Oberflächenkeimzahlbestimmung	12
2.1.1	Nicht-destruktive Verfahren	12
2.1.1.1	Abwischverfahren	12
2.1.1.2	Abdruckverfahren oder Abklatschverfahren	14
2.1.1.3	Indirekte Abklatschmethoden	17
2.1.1.4	Abspül- und Absprühverfahren	17
2.1.2	Destruktive Verfahren	18
2.1.3	Indirekte Methoden	18
2.2	Reinigung und Desinfektion	21
2.2.1	Begriffsbestimmung	21
2.2.2	Reinigung	22
2.2.3	Chemische Reinigungsmittel	22
2.2.4	Einflussfaktoren auf die Reinigung (DIN 10516)	23
2.2.5	Anwendungsweise der Reinigung	24
2.2.6	Wirkungsmechanismen der chemischen Desinfektion	25
2.2.7	Chemische Desinfektionsmittel	26
2.2.8	Einflussfaktoren auf die Wirkung der chemischen Desinfektion	28
2.2.9	Fehlerquellen bei der Desinfektion	29
2.3	Desinfektionsmittelprüfung	30
2.3.1	Anforderungen an ein Desinfektionsmittel	31
2.3.2	Desinfektionsmittelprüfung nach den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft	31
2.3.2.1	Bakteriostatische, tuberkulostatische und fungistatische Wirkung	31
2.3.2.2	Bakterizide, tuberkulozide und fungizide Wirkung	32
2.3.2.3	Bestimmung der bakteriziden, tuberkuloziden und fungiziden Wirkung im Keimträgertest	32
2.3.3	Prüfkriterien zur Erlangung des DLG-Gütezeichens für chemische Stalldesinfektionsmittel	33
3	Material/Methoden	34
3.1	Material	34
3.1.1	Geräte und Verbrauchsmaterialien	34
3.1.2	Nährmedien und Reagenzien	34
3.1.3	Baumaterialien	34

3.1.4	Keimspezies _____	35
3.1.5	Keim des Hauptversuches _____	36
3.1.6	Verwendete Reinigungs- und Desinfektionsmittel _____	36
3.1.7	Methoden zur Oberflächenkeimzahlbestimmung _____	37
3.2	Methoden _____	39
3.2.1	Herstellung der Bakteriensuspension _____	39
3.2.2	Behandlung der Baumaterialien _____	39
3.2.3	Herstellung der Agarwurst _____	39
3.2.4	Herstellung der Rahmen für das DSAP-Verfahren _____	39
3.2.5	Vorversuch zur Ermittlung der geeigneten Verfahren für die Keimrückgewinnung _____	40
3.2.6	Vorversuch zur Festlegung des geeigneten Keimes _____	40
3.2.7	Hauptversuch: Überprüfung von Baumaterialien auf ihre Reinigungs- und Desinfektionsfähigkeit im Vergleich: Nasstupferverfahren mit DSAP- Verfahren _____	41
3.2.8	Auswertung _____	43
3.2.8.1	Bestimmung der Keimzahl _____	43
3.2.8.2	Wiederfindungsrate der einzelnen Verfahren auf den verschiedenen Baumaterialien _____	43
4	Ergebnisse _____	44
4.1	Ergebnisse der Vorversuche zur Ermittlung der geeigneten Verfahren zur Oberflächenkeimzahlbestimmung _____	44
4.1.1	Wiederfindungsraten und Eigenschaften der verschiedenen Methoden _____	44
4.1.1.1	Wiederfindungsraten _____	44
4.1.1.2	Überlegungen zur Einsatzfähigkeit der verschiedenen Methoden der Oberflächenkeimzahlbestimmung für den Hauptversuch _____	45
4.2	Ergebnisse der Vorversuche zur Ermittlung des geeigneten Testkeimes _____	46
4.2.1	Vergleich der Stämme _____	46
4.2.2	Einfluss des Lösungsmediums auf die Wiederfindungsraten _____	51
4.3	Vergleich der Verdünnungsstufen _____	54
4.4	Ergebnisse der Überprüfung von Baumaterialien auf ihre Reinigungs- und Desinfektionsfähigkeit _____	56
4.4.1	Wiederfindungsraten von <i>Serratia marcescens</i> des Nasstupferverfahrens und des DSAP-Verfahrens auf den verschiedenen Baumaterialoberflächen _____	56
4.4.1.1	Vergleich der Verfahren _____	56
4.4.1.2	Vergleich der Baumaterialien _____	60
4.4.2	Ergebnisse der Reinigung mit Wasser ohne Reinigungsmittel _____	63
4.4.3	Ergebnisse der Wasserreinigung mit Reinigungsmittel _____	63
4.4.4	Ergebnisse der Desinfektion _____	64
5	Diskussion der Ergebnisse _____	66
5.1	Methodenvergleich in Vorversuchen _____	66
5.1.1	Vorversuch zur Dip-Slide-Technik _____	66
5.1.2	Vorversuch zum Agarwurstverfahren _____	67
5.1.3	Vorversuch zum DSAP-Verfahren _____	67

5.1.4	Vorversuch zum Trockentupfverfahren _____	68
5.1.5	Vorversuch zum Nasstupfverfahren _____	68
5.1.6	Vorversuch zum RODAC-Abklatschverfahren _____	69
5.1.7	Auswahl des Verfahrens _____	70
5.2	Auswahl des Testkeimes _____	71
5.3	Einfluss der Keimdichte auf die Wiederfindungsrate _____	73
5.4	Wie derfindungsraten auf den verschiedenen Baumaterialien mit dem DSAP-Verfahren und dem Nasstupfverfahren _____	74
5.5	Effekt der Reinigung _____	76
5.6	Ergebnis der Desinfektion _____	78
5.7	Vergleich des Nasstupfverfahrens mit den DSAP-Verfahren im Hauptversuch _____	81
5.8	Festlegung der Nährmedien _____	83
5.9	Eignung der Baumaterialien bezüglich ihrer Reinigungs- und Desinfektionsfähigkeit _____	84
6	Zusammenfassung _____	87
7	Summary _____	89
8	Anhang _____	91
8.1	Geräte und Verbrauchsmaterialien _____	91
8.2	Nährmedien und Reagenzien _____	92
9	Literaturliste _____	95

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Wirkungsspektrum und ph-Abhängigkeit der wichtigsten Desinfektionsmittel	29
Abbildung 2	Wiederfindungsrate von <i>Serratia marcescens</i> nach fünf und nach dreißig Minuten	50
Abbildung 3	Wiederfindungsrate von <i>Staphylococcus aureus</i> nach fünf und nach dreißig Minuten	50
Abbildung 4	Einfluss des Lösungsmediums auf die Wiederfindungsrate von <i>Escherichia coli</i>	51
Abbildung 5	Einfluss des Lösungsmediums auf die Wiederfindungsrate von <i>Serratia Marcescens</i>	51
Abbildung 6	Einfluss des Lösungsmediums auf die Wiederfindungsrate von <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Abbildung 7	Einfluss des Lösungsmediums auf die Wiederfindungsrate von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
Abbildung 8	Rückgewinnungsraten von <i>Serratia marcescens</i> Keimen in den drei Bestimmungen des DSAP-Verfahrens	56
Abbildung 9	Rückgewinnungsraten von <i>Serratia marcescens</i> Keimen in den drei Bestimmungen des Nasstupfverfahrens	57
Abbildung 10	Vergleich der arithmetischen Mittel der Wiederfindungsraten des Nasstupfverfahrens und des DSAP-Verfahrens auf den Verschiedenen Baumaterialien	57
Abbildung 11	Vergleich der maximalen Wiederfindungsraten des Nasstupfverfahrens und des DSAP-Verfahrens	58
Abbildung 12	Vergleich der minimalen Wiederfindungsraten des Nasstupfverfahrens und des DSAP-Verfahrens	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Vergleich der Wiederfindungsraten der verschiedenen Verfahren	43
Tabelle 2	Vergleich der arithmetischen Mittel der Wiederfindungsraten der Verfahren und Bestimmung der Faktoren zwischen den Verdünnungsstufen	44
Tabelle 3	Die maximalen Wiederfindungsraten der verschiedenen Keime in den Verdünnungsstufen 1×10^3 KE/ml und 1×10^4 KE/ml	47
Tabelle 4	Vergleich der Wiederfindungsraten verschiedener <i>Escherichia coli</i> Spezies nach fünf und nach dreißig Minuten	48
Tabelle 5	Vergleich verschiedener Versuchsdurchläufe von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 zur Festlegung der Wiederfindungsraten nach fünf und nach dreißig Minuten	48
Tabelle 6	Vergleich der Wiederfindungsraten von verschiedenen Keimen nach Eintrocknung in der 1×10^4 KE/ml Suspension	49
Tabelle 7	Die maximalen Wiederfindungsraten der einzelnen Keime in der 1×10^4 KE/ml Verdünnung	54
Tabelle 8	Rückgewinnungsrate von <i>Serratia marcescens</i> Keimen mit dem Nasstupfverfahren und dem DSAP-Verfahren auf den verschiedenen Baumaterialien	55
Tabelle 9	Maximale und minimale Wiederfindungsraten von <i>Serratia marcescens</i> des Nasstupfverfahrens und des DSAP-Verfahrens auf den verschiedenen Baumaterialien	60
Tabelle 10	Einteilung der Wiederfindungsraten auf den Baumaterialien in Gruppen nach Anzahl der wiedergewonnenen Keime	61

Tabelle 11	Anzahl der Kolonien, die nach einer Wasserreinigung von den Oberflächen der Baumaterialien mit den DSAP-Verfahren und dem Nasstupferverfahren wiedergewonnen wurden _____	62
Tabelle 12	Anzahl der Kolonien, die nach einer Reinigung mit Ideal [®] -Reiniger von den Oberflächen der Baumaterialien mit den DSAP-Verfahren und dem Nasstupferverfahren wiedergewonnen wurden _____	63
Tabelle 13	Anzahl der Kolonien, die nach einer Desinfektion mit Lysovet [®] von den Oberflächen der Baumaterialien mit den DSAP-Verfahren und dem Nasstupferverfahren wiedergewonnen wurden _____	64