

lie

luft

Es liegt was in der Luft

Probenahme für die Bewertung der Luftbelastung durch Mikroben: Vergleich zwischen aktiver und passiver Methode in Reinräumen

Marcella Barbieri Saraceno

Seit einigen Jahren wird der mikrobiologischen Qualität der Luft vermehrt Aufmerksamkeit geschenkt, und ohne zu übertreiben lässt sich sagen, dass die Luft ein Spiegelbild der Hygienebedingungen an jedem beliebigen Ort ist. Ganz besonders gilt dies für die Spitäler, in denen die Bekämpfung von Luftschadstoffen zu einem unverzichtbaren Präventionsinstrument geworden ist.

Die Diskussionen über die Methodik, die Interpretation der Ergebnisse und die zulässigen Belastungshöchstwerte sind jedoch noch nicht abgeschlossen.

Die Menge der in der Luft vorhandenen Mikroben zu bestimmen ist kein einfaches Unterfangen, und die heute angewandten Methoden können im Wesentlichen in vier Gruppen eingeteilt werden:

- Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten pro Kubikmeter Luft (KBE/m³)
- Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten auf Sedimentationsplatten (KBE/m²)
- Messung einer chemischen Komponente der Mikrobenzellen (DNA, Enzyme) pro Kubikmeter
- Zählung unter dem Mikroskop

Die Messung einer chemischen Komponente der Mikrobenzellen hat bisher wegen Problemen mit der Empfindlichkeit der eingesetzten Instrumente zu keinen verlässlichen Ergebnissen geführt. Die Zählung unter dem Mikroskop und die automatische Fluoreszenzzählung werden noch geprüft und stehen bisher in der Anwendung an Grenzen.

Die meistbenutzte Methode ist deshalb die Bestimmung der Anzahl KBE, mit der die reproduktionsfähigen lebenden Mikroorganismen tatsächlich gezählt werden können. Luftproben können zu diesem Zweck auf zwei Arten genommen werden:

- 1) mit « aktiven » Probensammlern, die die Anzahl KBE pro Kubikmeter Luft messen, indem sie eine bekannte Menge Luft ansaugen, durch ein Nährmedium leiten und anschliessend nach einer bestimmten Inkubationszeit das Wachstum messen.
- 2) mit « passiven » Probensammlern, bei denen über eine bestimmte Zeit offen gelassene Sedimentationsplatten mit festem Nährmedium verwendet werden.

Ein Vergleich der beiden Methoden soll zeigen, ob und gegebenenfalls in welchen Fällen eine Methode der anderen vorzuziehen ist.

Auf dem Markt sind viele aktive Probensammler erhältlich. Da sie rasch einsetzbar sind und in verschiedenen internationalen Normen die Messung der Mikrobenbelastung pro Kubikmeter Luft vorgesehen ist, sind sie mittlerweile stark verbreitet.

Diverse Studien haben jedoch gezeigt, dass verschiedene aktive Probensammler zu unterschiedlichen Ergebnissen führen, obwohl sie am gleichen Ort und zur gleichen Zeit aufgestellt wurden. Ferner können die mit unterschiedlichen Probensammlern erhobenen Daten nur schwer oder gar nicht miteinander verglichen werden, weil die Endauszählung von einem Gerät zum anderen variiert und nicht immer klar ist, nach welchem Kriterium der zu verwendende Probensammler ausgewählt werden soll. Ausserdem sind diese Probensammler schwierig zu sterilisieren, teuer und laut und müssen häufig neu geeicht werden.

Eine der grössten Einschränkungen bei Luftprobensammlern betrifft die Menge der zu sammelnden Luft: Einige Geräte besitzen ein Fassungsvermögen von 80 l/min. Wenn 1 Kubikmeter Luft untersucht werden soll, muss die Expositionszeit 15 Minuten betragen. Für eine repräsentative Luftprobe muss die Probeentnahmezeit jedoch möglicherweise um 15 Minuten verlängert werden. In kritischen Bereichen können Turbulenzen entstehen, die die normalen Luftströme stören und so die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination erhöhen. Ausserdem wird bei der Probensammlung eine erhebliche Menge an biologisch aktiven Partikeln durch den Kontakt mit dem Gerät und dem Nährmedium inaktiviert. Schliesslich basieren alle amtlichen Vorschriften über die Kontrolle von luftgetragenen Mikroorganismen im Grunde genommen auf der Bestimmung der Anzahl KBE pro Kubikmeter Luft ohne genaue Angabe, welcher Probensammler verwendet werden muss (Ausnahme: Grossbritannien). Dies ist sehr problematisch, weil die auf dem Markt erhältlichen Probensammler sehr unterschiedlich wirksam sind.

Die passive Luftprobensammlung erfolgt mithilfe von Sedimentationsplatten. Diese enthalten ein festes Nährmedium, das während einer bestimmten

Zeit offen gelassen wird. Die von inerten Partikeln transportierten Mikroben fallen auf die Oberfläche des Nährmediums und wachsen nach einer Inkubation bei 37° zahlenmässig im Verhältnis zur mikrobiellen Belastung der Luft.

Bei den Sedimentationsplatten wurde anfänglich bemängelt, es handle sich nicht um eine quantitative Methode, weil sie durch die Messung der Partikel und die Bewegung der Umgebungsluft beeinflusst werde. Ausserdem könne das Luftvolumen, aus dem die Partikel stammen, nicht gemessen werden, und schliesslich sei die Expositionszeit von 15 Minuten bis zu einer Stunde oder mehr unklar. Deshalb gelangten verschiedene Wissenschaftler zum Schluss, dass die Methode mit den Sedimentationsplatten als System für die mikrobiologische Luftüberwachung in Operationssälen nicht in Frage komme.

Später widersprachen einige dieser Autoren im Anschluss an spezifische Untersuchungen ihren eigenen Schlussfolgerungen. Sie betonten, dass Sedimentationsplatten doch eine Rolle bei der Überwachung der Luft in kritischen Bereichen spielen können, weil sie die Bakterienbelastung in nächster Nähe der chirurgischen Eingriffe aufzeigen. Sedimentationsplatten sind steril, kostengünstig und einfach auszuwerten. Die Ergebnisse sind ausserdem reproduzierbar und zuverlässig, viele Orte können gleichzeitig überwacht werden, und die von verschiedenen Personen mit verschiedenen Platten an verschiedenen Orten gesammelten Daten können verglichen und interpretiert werden. Die Platten ermöglichen eine Messung der gefährlichen Mikroben, die zu einem bestimmten Zeitpunkt auf kritische Oberflächen gelangen. Sie erlauben eine Bewertung der durch die Luft verursachten Oberflächenkontamination, eine im Vergleich zu aktiven Probensammlern bessere Reproduktion der Umstände der Belastung durch Partikel, die sich in Wunden ablagern, und zeigen als Indikatoren der tatsächlichen Kontamination von Wunden die Bakterienbelastung der Oberflächen auf praktischere und relevantere Weise auf.

Beide Methoden haben ihre Befürworter und Kritiker, und die Wissenschaft ist sich auch bei der Erarbeitung von Normen für Best Practices nicht einig.

Die einzige internationale Norm, in der beide Methoden ausdrücklich erwähnt werden, ist ISO 14698-1:2003. Sie enthält eine Beschreibung beider Methoden und eine lange Liste der bei der Wahl der Probesammelmethode zu berücksichtigenden Aspekte, ohne jedoch anzugeben, welche unter den verschiedenen Umständen vorzuziehen ist:

- Art und Größe der als Probe zu nehmenden lebensfähigen Partikel
- Empfindlichkeit der lebensfähigen Partikel gegenüber dem Probenahmeverfahren
- erwartete Konzentration lebensfähiger Partikel
- Möglichkeit, verlässlich hohe und niedrige Konzentrationen einer Biokontamination nachzuweisen
- geeignete Kulturmedien für die erwarteten Mikroorganismen
- Uhrzeit und Dauer der Probenahme
- Umgebungsbedingungen in dem Bereich, in dem die Probe genommen wird
- Störung der turbulenzarmen Verdrängungsströmung durch das Probenahmegerät
- Geräteeigenschaften (Geschwindigkeit des Luftstroms/Luftaufpralls, Zusatzausrüstung, Abhängigkeit von Vakuumpumpen, Wasser, Elektrizität usw.)
- leichte Reinigung, Desinfektion oder Sterilisierung
- mögliche geräteeigene, zusätzliche Abgabe lebensfähiger Partikel zu der zu messenden Biokontamination.

In verschiedenen Studien wurde versucht, die mit aktiven und passiven Systemen erhobene Mikrobenbelastung zu vergleichen, aber die Ergebnisse fielen uneinheitlich aus: Einige Studien legten eine Korrelation nahe, während andere nicht zum gleichen Schluss gelangten.

Da die Methode zur Entnahme von Luftproben nicht genormt ist, lassen sich die Ergebnisse der verschiedenen Studien nicht miteinander vergleichen. Ein Beispiel: Während Whyte mit dem «Active Casella Slit Sampler» eine Korrelation zwischen aktiver und passiver Methode feststellte, war dies bei Sayer mit dem «Andersen Active Sampler» nicht der Fall.

2012 führte eine Forschergruppe am Universitätsspital Bari eine interessante Studie durch, um die Mikrobenbelastung in Operationssälen mithilfe einer aktiven und passiven Probensammlung zu bewerten. Damit sollte festgestellt werden, ob die mit unterschiedlichen Methoden erzielten Ergebnisse korrelieren.

Über eine passive Probensammlung wurde der Index der mikrobiellen Luftbelastung (Index of Microbial Air Contamination, IMA) bestimmt. Dieser entspricht der Anzahl koloniebildender Einheiten in einer gemäss dem Schema 1/1/1 (1 Stunde im Abstand von 1 Meter zum Boden und 1 Meter zur Wand) aufgestellten Petrischale von 9 Zenti-

metern Durchmesser. Die IMA-Platten wurden im Operationssaal 1 Meter vom Operationstisch entfernt platziert und die Ergebnisse in KBE/m²/h ausgedrückt. Da es in den italienischen Richtlinien keine amtlichen Grenzwerte für IMA-Platten gibt, wurde der vom Schweizerischen Spitalverband für Operationssäle mit turbulenter Strömung vorgeschlagene Grenzwert als Bezugsgrösse genommen: ≤ 5 KBE/Platte mit $\varnothing 9$ cm/h *at rest* sowie ≤ 25 KBE/Platte mit $\varnothing 9$ cm/h *in operational*.

Als aktive Probensammler wurden neben den Sedimentationsplatten aufgestellte *Surface System Sampler* (SAS) mit einem Durchfluss von 180 l/min verwendet. Da es keine amtlichen Unterlagen für die Überwachung der Biokontamination in Operationssälen (zu filterndes Luftvolumen, Dauer der Probensammlung etc.) gibt, wurde eine Studie als Bezugsgrösse genommen. Anschliessend wurden 500 Liter Luft *at rest* in einer einzigen Probe gefiltert (ohne Aktivität widerspiegeln die Ergebnisse der Probe hauptsächlich die Leistung der Klima- und Lüftungsanlage). Unter diesen Umständen ist eine einzige kontinuierliche Probensammlung mit einer Stunde Exposition der Sedimentationsplatten vergleichbar. *In operational* zeigen die Ergebnisse der Probensammlung hingegen, ob die Verfahren bezüglich Hygiene und Verhalten beachtet werden. Deshalb wurde die aktive Probensammlung gleichzeitig mit der Plattenexposition, aber mit fünf getrennten Probenentnahmen von je 100 Litern im Abstand von 12 Minuten durchgeführt, weil gemäss anderen Studien *in operational* aktive Probensammlungen in regelmässigen Abständen besser sind. Es wurden 32 Proben *at rest*, jedoch nur 19 Proben *in operational* gesammelt, weil in 13 Operationssälen nach der Probensammlung *at rest* keine Operationen stattfanden.

Der zulässige Höchstwert für die aktive Probensammlung wurde den ISPEL-Richtlinien (2009) für Luftprobensammlungen in Operationssälen mit turbulenter Strömung entnommen: 180 KBE/m³.

Der lineare Rückgang (Abb. 1 und 2) zeigt bei beiden Methoden (IMA und SAS) einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von Personen und der Anzahl lebender Partikel auf.

Die mikrobiologische Luftqualität in Operationssälen ist ein wesentlicher Indikator für die Bekämpfung von Nosokomialinfektionen. Die mikrobiologische Luftbelastung kann mit einer aktiven oder passiven Methode überwacht werden. Obwohl Grenzwerte empfohlen werden, gibt es zurzeit keine genauen Richtlinien für die Messung dieser Werte.

Diese Studie hat gezeigt, dass die Ergebnisse der aktiven und passiven Probensammlung bei strikter Befolgung eines Protokolls sowohl *at rest* als auch *in operational* miteinander korrelieren. Die Wahl der Methode hängt davon ab, welche Informationen man erhalten will: Wenn das Risiko einer Wundkontamination überwacht werden soll, ist eine passive

Probensammlung vorzuziehen. Falls man hingegen Informationen über die Konzentration aller inhalierbaren aktiven Partikel braucht, sollte man eher auf die aktive Methode setzen.

BIBLIOGRAFIE

- Annals of Agricultural and Environmental Medicine, Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria.; 2015, Band 22, Nr. 4, 670-673.
- Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro. Linee guida per la definizione degli standard di sicurezza e di igiene ambientale dei reparti operatori, 2009.
- Napoli C., Marcotrigiano V., Montagna M., Air sampling procedure to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres. BMC Public Health, 2012; 12: 594
- Pasquarella C., Pitzurra O., Savino A.; The index of microbial air contamination. Journal of hospital infection (2000) 46: 241-256
- Pasquarella C, Veronesi L, Castiglia P, Liguori G, Montagna MT, Napoli C, Rizzetto R, Torre I, Masia MD, Di Onofrio V, Colucci ME, Tinteri C, Tanzi M: Italian multicentre study on microbial environmental contamination in dental clinics: a pilot study. Sc Total Environ. 2010, 408: 4045-4051. 10.1016/j.scitotenv.2010.05.010.
- Perdelli F, Sartini M, Orlando M, Secchi V, Cristina ML: Relationship between settling microbial load and suspended microbial load in operating rooms. Ann. Ig. 2000, 12: 373-380.
- Whyte W. Sterility Assurance and models for assessing bacterial contamination. Parenter Sc Tecnol 1995; 40: 188-197.

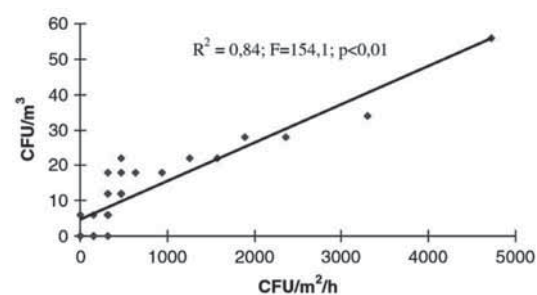


Abb. 1

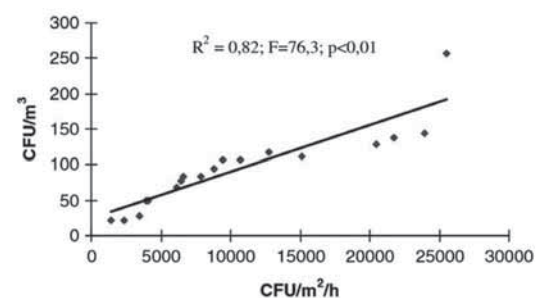


Abb. 2