

HyWa-CHECK BIOINDIKATOREN⁺

Bioindikatoren der Risikoklasse 1 zur Hygiene-Überprüfung von textilen Waschverfahren



**HyWa-Check Bioindikatoren
mit *Staphylococcus arlettae* 10⁵ Art. Nr. 503**

**HyWa-Check Bioindikatoren
mit *Enterococcus faecium* 10⁵ Art. Nr. 504**

**HyWa-Check Bioindikatoren
mit *Pseudomonas fluorescens* 10⁵ Art. Nr. 505**

**HyWa-Check Bioinfikatoren
mit *Saccharomyces cerevisiae* 10⁴ Art. Nr. 506**



Einleitung:

Durch die veränderten Waschgewohnheiten in der Haushaltswäsche (vermehrte Verwendung von Flüssigwaschmittel anstelle von Vollwaschmittel, den sinkenden Waschttemperaturen und dem tieferen Wasserverbrauch) erwarten wir in Zukunft eine schlechtere Hygienesituation in der Haushaltswäsche. Dies ist in der Regel für den gesunden Menschen kein Problem, bei kranken, älteren und schwangeren Personen, sowie Menschen mit einer Immunschwäche kann dies aber eine Gesundheitsgefährdung darstellen. Ein weiteres Risiko für eine ungenügende Waschhygiene können kranke Familienmitglieder sein (z.B. Grippe, Durchfallerkrankungen, Fusspilz). Mit den HyWa-Check Bioindikatoren bieten wir ein Werkzeug zur Überwachung, Beurteilung der Prozesshygiene und zur Entwicklung neuer Haushaltswaschprozessen an.

Die Verwendung von Risikoklasse 1-Keimen stellt eine unbedenkliche Testdurchführung sicher.

Beschreibung:

HyWa-Check Bioindikatoren dienen zur quantitativen Überprüfung von textilen Waschverfahren. Eine Mindestkeimzahl von 1×10^5 (Bakterien) und 1×10^4 (Hefe) Keimen befindet sich auf einem runden Baumwollträger. Die 2 Keime der Risikoklasse 1 wurden mit den, in den gängigen Richtlinien (RKI / DGHM / NSF P172) verwendeten Risikoklasse 2-Keimen abgeglichen und erreichen vergleichbare Keimreduktionswerte.

Auswertung:

Die Auswertung der Keimträger ist variabel. Die Bioindikatoren können quantitativ durch Ausschütteln in einer Pufferlösung, Erstellen einer Verdünnungsreihe und Ausplattieren der einzelnen Verdünnungen, analysiert werden.

Die Bioindikatoren können zur Auswertung auch an ein mikrobiologisches Labor geschickt werden.

Vorteile:

Die Verwendung von Risikoklasse 1-Keimen bringt viele Vorteile. So ist das Verschicken der Keime grenzüberschreitend problemlos möglich. Das Handling wird vereinfacht und die Anwendung der Keimträger ist auch in nicht-mikrobiologischen Labors ohne Biosicherheitsrisiko für den Anwender möglich. Durch die Anwendung der HyWa-Check Bioindikatoren werden keine potentiell gefährlichen Keime in Waschmaschinen eingebracht. Die variable Auswertung erlaubt dem Anwender Genauigkeit und Kosten des Tests zu optimieren.

Validierung:

In Zusammenarbeit mit NSF International konnte gezeigt werden, dass die HyWa-Check Bioindikatoren vergleichbare Resultate mit dem NSF Protocol P172, Sanitization Performance of Residential and Commercial, Family-Sized clothes washers erreichen (Testreport Nr. 201020102 NSF/EMPA).

Durchführung Waschgangkontrolle und Bestimmung der Keimzahlen mit dem Spatelplattenverfahren:

1. Pro Keim werden 5 Bioindikatoren für eine Waschgangkontrolle benötigt.
2. Pro Keim und Waschprozess-Überprüfung werden 5 Keimträger in ein blaues Baumwollsäckchen transferiert. Dies wird mit einer sterilen Pinzette durchgeführt.



Abb. 1: Je Keim werden 5 Keimträger in ein blaues Baumwollsäckchen überführt. Das Baumwollsäckchen wird verschlossen

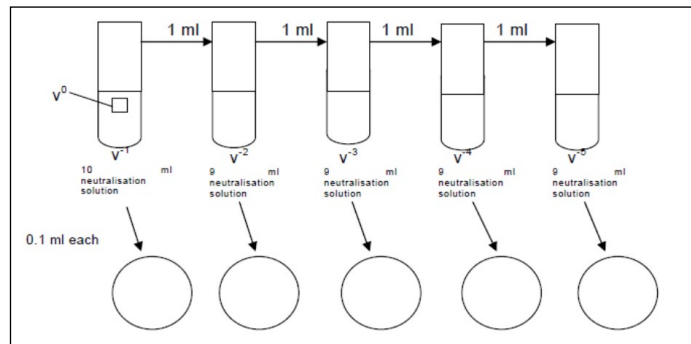
3. Das blaue Baumwollsäckchen wird in der Mitte der Beladung platziert und der Waschprozess wird vollständig ausgeführt.



Abb. 2: Die Baumwollsäckchen werden in der Mitte der Ladung platziert, ohne dass sie sich gegenseitig berühren

4. Nach dem Waschprozess wird das blaue Säckchen auf einer sauberen Oberfläche (z.B. sterilisierte Oberfläche, Gefäss, Folie) geöffnet. Die Keimträger werden mit einer sterilen Pinzette entnommen, einzeln in ein 10 ml Pufferröhrchen (Phosphatpuffer mit 1 % Tween und 0.2 % Natriumthiosulfat pentahydrat) gegeben und dieses beschriftet. Die Beschriftung muss die Angabe zum Prüfkeim enthalten und ob der Bioindikator vor oder nach der Wäsche entnommen wurde.
5. Drei Bioindikatoren werden ungewaschen in je ein beigelegtes Pufferröhrchen gegeben und die Röhrchen beschriftet. Die Beschriftung muss die Angabe zum Prüfkeim enthalten und ob der Bioindikator vor oder nach der Wäsche entnommen wurde.

6. Jeder Keimträger wird 1 Minute auf dem Vortex ausgeschüttelt, danach 60 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und danach wieder 1 Minute auf dem Vortex ausgeschüttelt.
7. Von der Keimträger-Suspension wird nun eine Verdünnungsreihe erstellt. Dazu wird mit sterilen Pipetten 1 ml der Suspension in ein 9 ml PBS-Pufferröhrchen gegeben. Dieses kurz auf dem Vortex geschüttelt. Dann davon wiederum 1 ml in ein neues 9 ml PBS-Pufferröhrchen transferiert bis zu einer Verdünnung v^5 .



8. 0.1 ml wird mit einer sterilen Pipette von jeder Verdünnung ausplattiert und mit dem Drigalski-Spatel gleichmässig auf der Agaroberfläche verteilt. Für die Bakterienstämme wird Tryptic soy agar (TSA) und für den *Saccharomyces cerevisiae* Sabouraud dextrose Agar (SDA) verwendet. Für jede Platte muss ein steriler Drigalski-Spatel verwendet werden.
9. Die Agarplatten werden bei 30 °C (*Saccharomyces cerevisiae*) und 36 °C (*Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus arlettae*, *Enterococcus faecium*) für 1 bis 5 Tage inkubiert.
10. Agarplatten mit 15 bis 300 Kolonien werden ausgezählt und für die Berechnung der Keimreduktion verwendet.
11. Berechnung der Keimbelastung von N^0 und N . Die Keimzahlen pro Biomonitor werden wie folgt berechnet:

Keimzahl auf Platte 1 = (Keimzahl auf Platte 1 / 10^{Verdünnungsschritt}) * 10

Falls zwei Platten zur Berechnung der Keimzahlen verwendet werden können:

Keimzahl = (Keimzahl Platte 1 + Keimzahl Platte 2) / 2

Berechnung der Mittelwerte für N^0 (3 Biomonitore vor dem Waschen) und N (5 Biomonitore nach dem Waschen)

Berechnung der Standardabweichungen für N^0 (3 Biomonitore vor dem Waschen) und N (5 Biomonitore nach dem Waschen)
12. Berechnung der Keimreduktion = $\log(N^0) - \log(N)$

Durchführung Waschgangkontrolle mit Auswertung im Labor:

1. Pro Keim werden 5 Bioindikatoren für eine Waschgangkontrolle benötigt.
2. Pro Keim und Waschprozess-Überprüfung werden 5 Keimträger in ein blaues Baumwollsäckchen transferiert. Dies wird mit einer sterilen Pinzette durchgeführt.



Abb. 1: Je Keim werden 5 Keimträger in ein blaues Baumwollsäckchen überführt. Das Baumwollsäckchen wird verschlossen

3. Das blaue Baumwollsäckchen wird in der Mitte der Beladung platziert und der Waschprozess wird vollständig ausgeführt.



Abb. 2: Die Baumwollsäckchen werden in der Mitte der Ladung platziert, ohne dass sie sich gegenseitig berühren

4. Nach dem Waschprozess wird das blaue Säckchen auf einer sauberen Oberfläche (z.B. sterilisierte Oberfläche, Gefäss, Folie) geöffnet. Die Keimträger werden mit einer sterilen Pinzette entnommen, einzeln in ein beigelegtes Pufferröhrchen gegeben und dieses beschriftet. Die Beschriftung muss die Angabe zum Prüfkeim enthalten und ob der Bioindikator vor oder nach der Wäsche entnommen wurde.
5. Drei Bioindikatoren werden ungewaschen in je ein beigelegtes Pufferröhrchen gegeben und die Röhrchen beschriftet. Die Beschriftung muss die Angabe zum Prüfkeim enthalten und ob der Bioindikator vor oder nach der Wäsche entnommen wurde.

6. Die Bioindikatoren werden an die Swissatest Testmaterialien AG, (Lerchenfeldstrasse 5, CH-9014 St. Gallen) oder ein anderes Labor geschickt. Das Paket muss express versandt werden, damit es innerhalb von 24 h im Labor eintrifft. Im Sommer sollte die Sendung idealerweise gekühlt werden.
7. Angaben der Keimreduktion: Die Keimreduktion wird je Bioindikator angegeben sowie eine Reduktionsrate je Keim aus den Mittelwerten der Bioindikatoren berechnet.

Qualität:

Jeder Bioindikatoren-Charge ist ein QS-Zertifikat mit Angabe der Leistungsdaten beigelegt: Gemessene Keimzahl und Resistenz im Waschversuch, ATCC-Stämme, Verfalldatum und Chargennummer.

Transport:

Innerhalb 2–3 Arbeitstagen, in Isolierbox, ungekühlt oder leicht gekühlt.

Lagerung:

Im Röhrchen verschlossen bei 4–7°C.

Haltbarkeit:

6 Wochen ab Herstellungsdatum.

Preise:

Die aktuelle Preisliste finden Sie auf unserer website (swissatest.ch).

Publikationen:

Amberg, C., Faeh, D. and Frey, F (2010). Novel Method to Assess the Sanitization Efficacy of Laundry Processes (HyWa-Check). Poster Presentation AOCS Montreux 2010.

Amberg, C. (2011). HyWa-Check – Novel Screening tool to assess the process hygiene of household washing cycles. Presentation at IDC Conference in Düsseldorf, Mai 2011.

Amberg, C. (2011). Hygiene performance of household washing machines – New protocols to assess process hygiene and biofilm removal. Presentation at Sepawa Austria in Salzburg, Mai 2011.

Kontakt:

Swissatest Testmaterialien AG
Mövenstrasse 12
CH-9015 St.Gallen
Switzerland
Mail: info@swissatest.ch
Phone: +41 71 311 80 55