

Labor | LS

Swiss Cleanroom Community Event

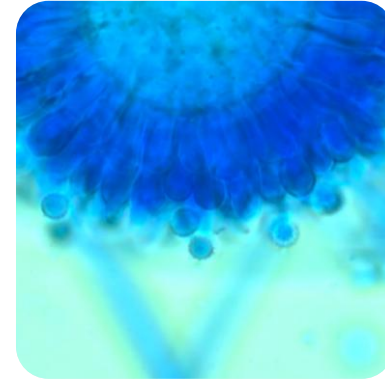
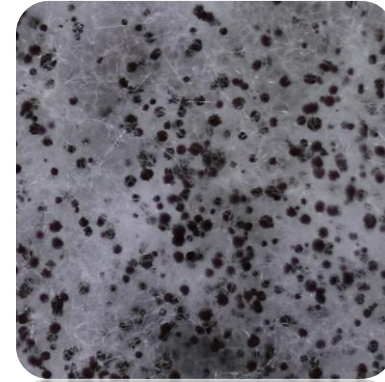
# LS-pedia

**Die Enzyklopädie für Mikroorganismen - Ein wertvolles Tool im Pharmabereich**

Melanie Braun

Leitung mikrobiologische Dienstleistungen

Labor LS SE & Co.KG





- Eines der größten unabhängigen Auftragsinstitute für die **Prüfung von Pharma- und Medizinprodukte** im DACH-Raum mit höchstem GMP-Standard
- Familienbetrieb **seit 1987** mit inzwischen mehr als **600** Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern
- **Ca. 250.000** Proben und **1 Mio.** Analysen pro Jahr

# Referentin: Melanie Braun



- Seit der Ausbildung 1993 bei Labor LS beschäftigt
- Leitung Mikrobiologische Dienstleistungen:
  - Keimidentifizierung
  - Betriebshygiene
  - Stammhaltung von Referenzkeimen, Feld- und Hauskeimen
  - Nährmedienprüfung und -freigabe
- Seit 2001 Schulungen, Vorträge und Praxiskurse zu den Themen Betriebshygiene und Keimidentifizierung
- Lektorin von LS-pedia

= Bestimmung von Mikroorganismen wie Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen

## Challenge:

- **Wozu?**

- Nachweis von Kontaminationen
- Erstellen Risikobewertungen
- Ergreifen geeigneter Maßnahmen
- Rückschluss auf Kontaminationsursache (Root cause analysis)
- ...

- **Plausibilitätsprüfung und Interpretation von Ergebnissen bedarf eines großen Know-How's**
- **Nicht immer ist gute Literatur frei verfügbar**
- **Recherchen sind oft komplex und sehr zeitaufwändig**

- **Am Anfang stand der Wunsch eines Nachschlagewerks zu Mikroorganismen, das**
  - bei der **Interpretation von Identifizierungsergebnissen** unterstützen kann.
  - **wissenschaftliche Fakten** zu Mikroorganismen übersichtlich zusammengefasst.
  - **Fotos** zur Mikro- und Makromorphologie enthält.
  - den **Erfahrungsschatz** aus über 35 Jahren Laborpraxis erweitert (Stichwort Wissenstransfer).

- **Beginn mit analogem Lexikon**

- Informationen und Bilder zu Mikroorganismen wurden am PC mittels simpler Maske zusammengetragen.
- Papierversionen wurden ausgedruckt, laminiert und zur Ansicht in Ordnern aufbewahrt. Es sind 8 Ordner gefüllt worden!
- Infos über Besonderheiten/Absurditäten, die bei Identifizierungen auftraten, wurden integriert.



### • Digitale Zusammenfassung sämtlicher relevanter Informationen zu Mikroorganismen

- aus mikrobiologischer Erfahrung (**Praxis**)
- aus aktuellen, wissenschaftlich-fundierte Erkenntnissen (**Theorie**)
- mit hochauflösenden **Fotos** zur Mikro- und Makromorphologie
- mit komfortablen Features, wie **interaktivem Glossar** und **Suchfunktion**
- in zwei Sprachen abrufbar (**Deutsch, Englisch**)
- Zugriff auf gesamte Datenbank flexibel als 3-Monats- oder 1-Jahres-**Abonnement** erhältlich

**Acinetobacter seifertii**

**Morphologie:**

- Gram-negative Stäbchen
- Gram-Verhalten manchmal schwer zu deuten, da die Zellen während des Prozesses nicht gut anfärben
- Stäbchen können kokkoid erscheinen und in Paaren oder Ketten vorliegen
- Unbeweglich, aber zukunfts Bewegung durch Typ IV-Pili möglich
- Ungefächelt
- Glasig, hellgrau bis beige Kolonien, rund
- γ-Hämolysen

**Zellgröße:** 0,9-1,6 µm x 1,5-2,5 µm

Grampräparat: 1000-fache Vergrößerung

Nahaufnahme

**Oxidase:** negativ

**Abteilung:** Proteobacteria

**Klasse:** Gammaproteobacteria

**Ordnung:** Proteobacteria

**Familie:** Moraxellaceae

**Gattung:** Acinetobacter

**Vorkommen:**

- Ubiquitär, z. B. Wasser
- Klinisches Untersuchungsobjekt
- Häufig aus dem menschlichen
- Krankenhausbereich

**Übertragungswege:**

- Direkt durch Kontaktübertragung
- Indirekt über kontaminierte Gegenstände und Oberflächen
- Schnur- und Tröpfcheninfektion

**Bekannte Risiken:**

- MORO
- Nosokomiale Infektion möglich
- Opportunistischer Krankheitserreger
- Vertreter der Gattung Acinetobacter zeigen eine hohe Resistenz gegenüber Antibiotika und antimikrobiellen Substanzen. So ist es ihnen möglich, sich in Krankenhausumgebungen zu vermehren und nosokomiale Ausbrüche zu verursachen.

**Wachstumsbedingungen:**

- Wachstum von 20°C bis 41°C
- Temperatur optimum zwischen 33°C und 35°C
- Mesophil
- Obligate aerob
- Oxidativer Stoffwechsel

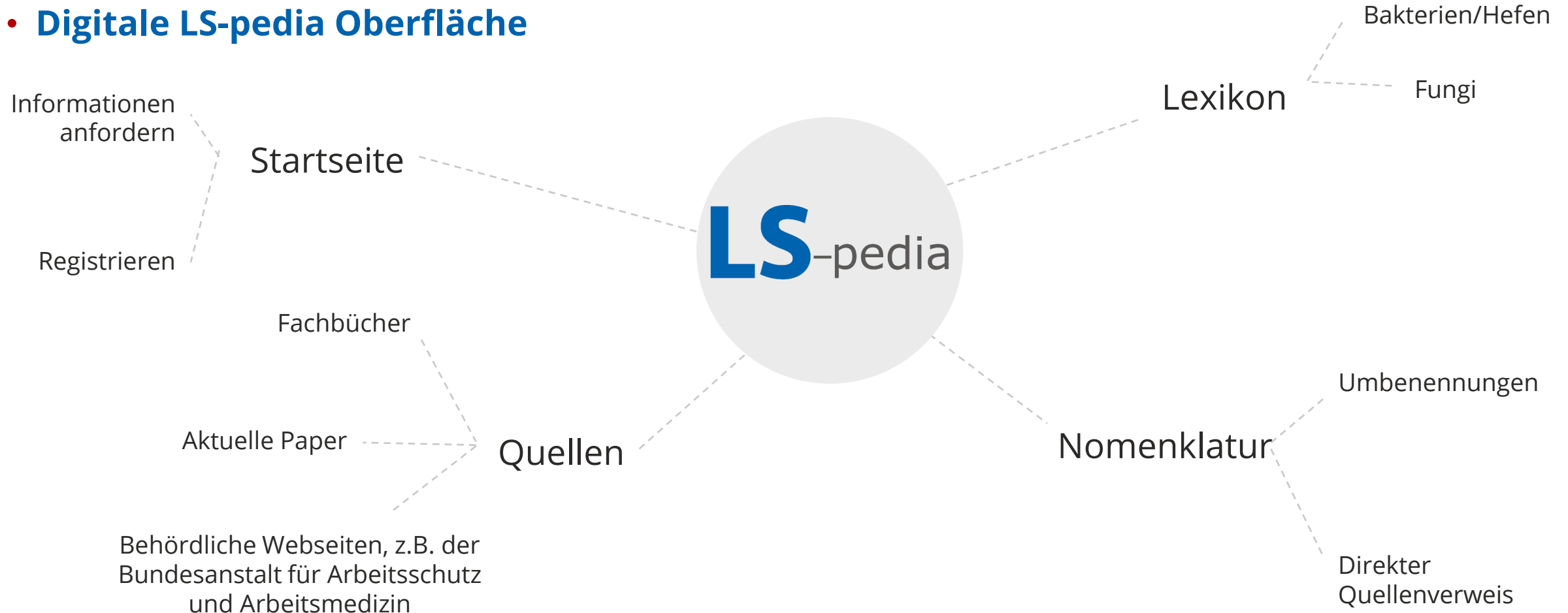
Columbia-Blood-Agar 24h

MacConkey-Agar 24h

Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar 24h

**Bereits Einträge zu über 310 Mikroorganismen**

- **Digitale LS-pedia Oberfläche**



- **Kompakte Darstellung aller verfügbaren, relevanten Informationen, wie z. B.**

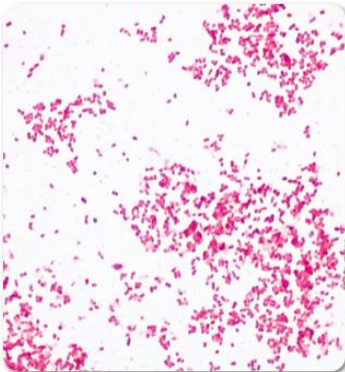
- Morphologie
- Vorkommen
- Inaktivierung
- Prävention
- Toleranzen
- Risikobewertung
- Vieles mehr

### Escherichia coli

**Morphologie:**

- Gram-negative Stäbchen
- Beweglich
- **Peritrich** begeißelt
- Graue, flache Kolonien, unregelmäßiger Rand
- $\gamma$ -Hämolyse bis  $\beta$ -Hämolyse möglich

**Zellgröße:** 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0-6,0  $\mu\text{m}$



Gränppräparat 1000-fache Vergrößerung



Nahaufnahme

**Oxidase:** Negativ

**Indol:** Positiv

**Abteilung:** Pseudomonadota

**Klasse:** Gammaproteobacteria

**Ordnung:** Enterobacterales

**Familie:** Enterobacteriaceae

**Gattung:** Escherichia

**Katalase:** Positiv

**Übertragungswege:**

- Direkt durch Kontaktübertragung
- Indirekt über kontaminierte Gegenstände und Oberflächen
- Schmier- und Tröpfcheninfektion

**Bekannte Risiken:**

- Kontamination von Lebensmitteln und Trinkwasser
- **Nosokomiale** Infektion möglich, z. B. Harnwegsinfektionen, Septikämien
- **Opportunistischer** Krankheitserreger

**Wachstumsbedingungen:**

- Wachstum von 15°C bis 45°C möglich
- Temperaturoptimum zwischen 21°C und 37°C
- **Mesophil**
- pH-Bereich zwischen pH 5,0 und pH 9,0
- **Fakultativ anaerob**

**Inaktivierung:**

- Chemische Desinfektion
  - **bakterizide** Desinfektionsmittel
  - Raumdeshinfektion
    - Begasung mit Wasserstoffperoxid
    - Begasung mit Formaldehyd-Lösungen
- Physikalische Desinfektion
  - autoklavieren (121°C, 15 min)
  - Dampf-Sterilisation
    - Dampfströmungsverfahren
    - mit gesättigtem Wasserdampf (100°C, 5 min)
  - erhitzen (80°C, 30 min)
  - kochen in Wasser (100°C, 3 min)
  - verbrennen von kontaminiertem Material

**Pathogenität:**

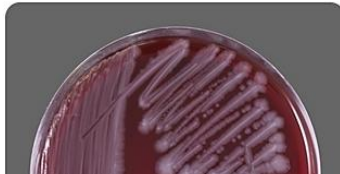
- Humanpathogen, tierpathogen
- Pathogenitätsfaktoren
  - Biofilmbildung möglich
  - Adhäsine
  - **LPS**
  - Eisenfangsysteme
  - Begeißelung



MacConkey-Agar 24h

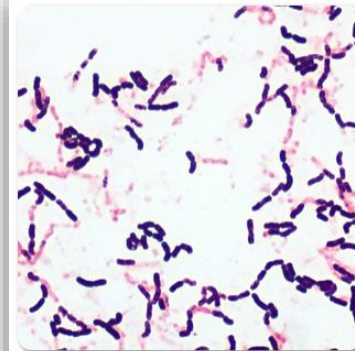


Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar 24h



- **Abgleich der Mikro- und Makromorphologie**

- z. B. zur Plausibilitätsprüfung von Identifizierungsergebnissen



Grämpräparat 1000-fache Vergrößerung



Nahaufnahme

**Morphologie:**

- Gram-positive bis gram-labile Stäbchen
- Stäbchen können in Ketten vorliegen
- Unbeweglich
- Aerober **Sporenbildner** mit zentralen bis subterminalen Sporen
- Sporenform elliptisch
- Graue, wurzelförmige Kolonien, flach
- $\beta$ -Hämolyse

- **Überprüfen von Wachstumsbedingungen/Toleranzen**

- Hilfreich bei Fragestellungen wie
  - Warum wächst ein Keim nicht an?
  - Warum überlebt ein Keim bestimmte Prozesse?

**Wachstumsbedingungen:**

- Wachstum von über 7°C bis unter 40°C
- **Mesophil**
- Es existieren psychrotolerante Stämme
- pH-Bereich zwischen pH 5,7 und pH 7,0
- **Fakultativ anaerob**

**Toleranzen:**

- Wachstum bis 10% NaCl; je nach Stamm sogar bis 20% NaCl möglich
- Unempfindlich gegenüber
  - erhöhter Salzkonzentration, z. B. 40% Gallensalze
  - antimikrobieller Wirkung mancher Schwermetalle
  - Säuren bis teilweise pH <4,5
  - Lebensmittel-Konservierungsmittel, z. B.
    - Natriumchlorid
    - Natriumnitrat

## • Abschätzen von Gefährdung/Risiko

– z. B. durch

- aktuelle Einordnung in Risikogruppe (gemäß TRBA 466/460)
- Pathogenität
- bekannte Risiken
- Infektion und Symptome

**Risikogruppe:** 2

### **Sicherheitsbewertung:**

Gemäß TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen“, Stand August 2015, zuletzt geändert am 20. März 2023 (10. Änderung: GMBI Nr. 16-24, S. 330)

- Risikogruppe 2 beschreibt (gemäß §3 BioStoffV) Stämme, die eine Krankheit beim Menschen hervorrufen können und eine Gefahr für Beschäftigte darstellen könnten; eine Verbreitung in der Bevölkerung ist unwahrscheinlich; eine wirksame Vorbeugung oder Behandlung ist normalerweise möglich.
- Bewährte Stämme, die langjährig sicher in der technischen Anwendung gehandhabt wurden, können nach den Einstufungskriterien in die Risikogruppe 1 fallen.
- Toxinproduktion: Prokaryonten, die zur Bildung von Exotoxinen befähigt sind.

### **Infektion und Symptome:**

- **Meningitis, Pneumonie**, Harnwegsinfekte
- Ab einer Keimzahl von  $\geq 10^5$  Keimen pro Gramm aus kontaminierten Lebensmitteln kann von einer Gefahr für den Menschen ausgegangen werden. Parallel dient eine Stuhlprobe als Nachweis. Folgende Erkrankungen können durch den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln ausgelöst werden
  - **emetische Erkrankung**
    - Symptome: Erbrechen, teilweise Durchfall
    - Inkubationszeit: 1 bis 6 Stunden
    - Beschwerden klingen in der Regel innerhalb weniger Tage ab
  - **diarrhöische Erkrankung**
    - Symptome: Durchfall, Bauchkrämpfe, teilweise Erbrechen
    - Inkubationszeit: 6 bis 24 Stunden
    - Beschwerden klingen in der Regel innerhalb weniger Tage ab

### **Bekannte Risiken:**

- Lebensmittelvergiftung
- Verderb von Lebensmitteln
- **Opportunistischer** Krankheitserreger
- **Nosokomiale** Infektion möglich

### **Pathogenität:**

- Humanpathogen

## • Geeignete Korrektur- bzw. Präventivmaßnahmen

### Inaktivierung:

- Chemische Desinfektion
  - **bakterizide** Desinfektionsmittel
  - Raumdesinfektion
    - Begasung mit Wasserstoffperoxid
    - Begasung mit Formaldehyd-Lösungen
  - **sporizide** Desinfektionsmittel, z. B. Wasserstoffperoxid, Peressigsäure
- Physikalische Desinfektion
  - autoklavieren (121 °C, 15 min)
  - Dampf-Sterilisation
    - Dampfströmungsverfahren
    - mit gesättigtem Wasserdampf (100 °C, 5 min)
  - erhitzen (80 °C, 30 min)
  - kochen in Wasser (100 °C, 3 min)
  - verbrennen von kontaminiertem Material
  - Toxine
    - diarrhöische Toxine sind sensitiv gegenüber
      - Hitze
      - Säure
      - Proteasen
    - proteolytischen Enzymen wie z. B. Trypsin, Pepsin
  - **emetische** Toxine sind resistent gegenüber Hitze
- Achtung: Alle Angaben gelten für vegetative Zellen. Sporen besitzen eine höhere Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen, z. B. Hitze und Chemikalien.
  - Zur Inaktivierung von *Bacillus cereus*-Sporen gelten teilweise abweichende Werte, z. B. heißes Wasser muss mindestens 90 °C erreichen und ≥ 30 min Kontakt zu Sporen haben (alternativ 100 °C, 5 min).

### Prävention:

- Personalhygiene, z. B. hygienische Händedesinfektion, Wäschedesinfektion
- Kontamination durch Haut- und Schleimhautkontakt vermeiden, z. B. spezielle Schutzkleidung, Handschuhe
- Geeignete Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, z. B. Desinfektion von Instrumenten, Flächendesinfektion, Raumdesinfektion
- Dekontamination von Abfällen
- Vermeidung von Kontaminationen und frühzeitiger Nachweis von Mikroorganismen über ein regelmäßiges Monitoring mit Abklatschtests und Luftmessungen
- Einhaltung der Kühlkette beim Transport von Lebensmitteln
- Aufzuwärmende Speisen müssen für mindestens 2 Minuten eine Kerntemperatur von 70 °C erreichen und dürfen max. 3 Stunden bei 65 °C warmgehalten werden.
  - Achtung: Hitze bei emetischen Toxinen wirkungslos!

- **Ursprung einer Kontamination**

**Vorkommen:**

- **Ubiquitär**, z. B. Wasser, Boden, Luft
- Lebensmittel tierischen und pflanzlichen Ursprungs, z. B. Früchte, Getreide, Butter
- Feuchte Räume und Nasszellen
- Kühlschränke und -kammern

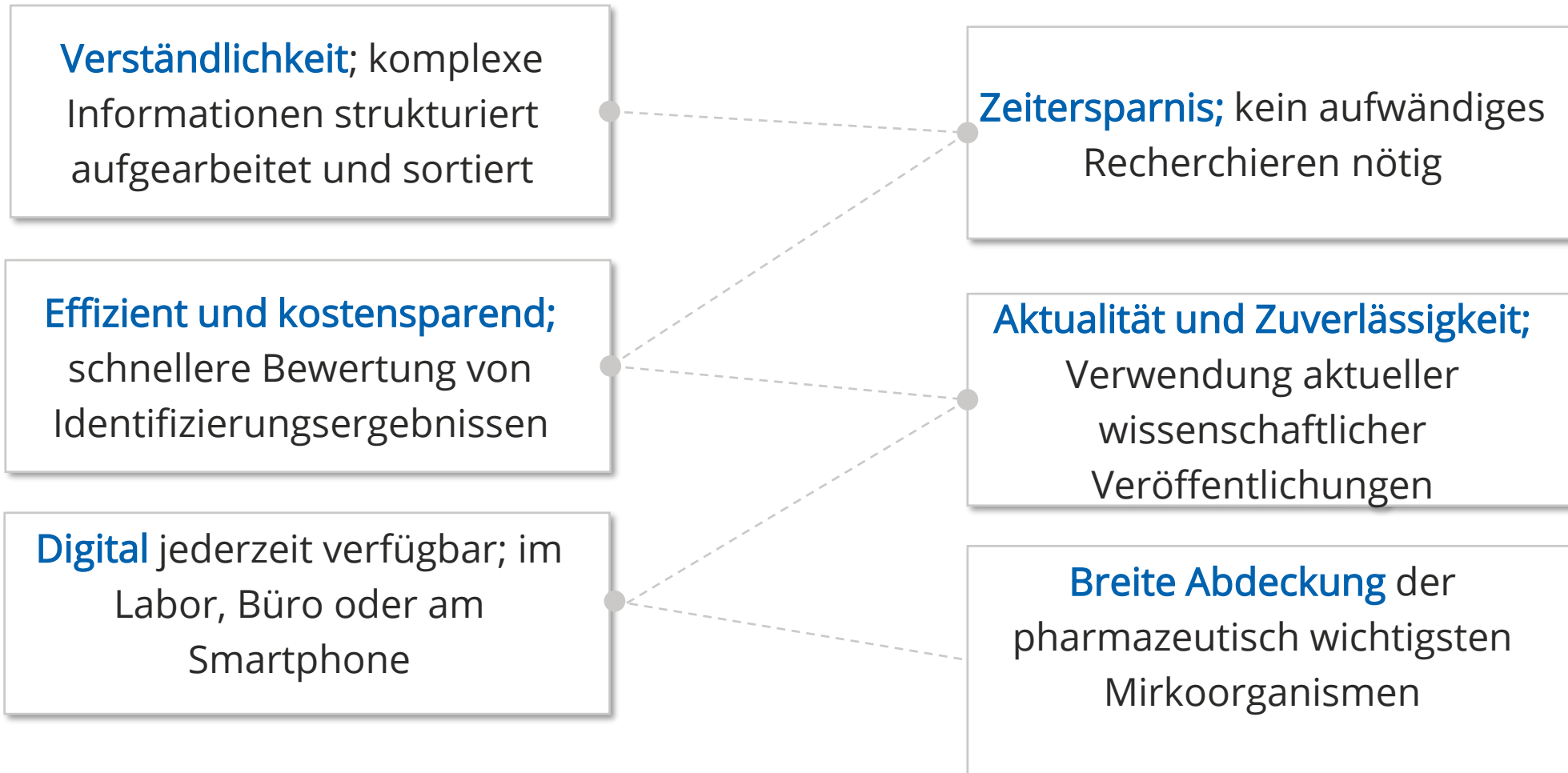
Bsp. *Cladosporium* sp.

**Vorkommen:**

- Kolonisation von Menschen, aber auch Wild- und Nutztieren
- Vorwiegendes Habitat beim Menschen ist Nasenschleimhaut. Darüber hinaus Besiedelung von z. B.
  - Haut
  - Rachen
  - Darm
- Klinisches Untersuchungsmaterial, z. B. Wundabstriche

Bsp. *Staphylococcus aureus*

# Vorteile



**Neugierig?  
Einfach scannen  
und  
ausprobieren:**



Kontaktieren Sie uns gerne:  
T +49 9708 9100-937  
ls-pedia@labor-ls.de

# Sie haben Fragen?

Ihr Referent / Ihre Referentin



Melanie Braun

Leitung mikrobiologische Dienstleistungen

Fon +49 9708 9100-940

[melanie.braun@labor-ls.de](mailto:melanie.braun@labor-ls.de)

[ls-pedia@labor-ls.de](mailto:ls-pedia@labor-ls.de)

Diese Präsentation dient zu Informationszwecken und stellt einen persönlichen Standpunkt des Referenten dar. Der/Die Autor/en haben alle Informationen und Bestandteile nach bestem Wissen zusammengestellt. Dennoch kann die Vollständigkeit, Richtigkeit und Aktualität, sowie die technisch Exaktheit der in dieser Präsentation bereitgestellten Informationen nicht garantiert werden. Jegliche Haftung wird ausgeschlossen.

Alle Inhalte dieser Präsentation sind streng vertraulich. Die Weitergabe an Dritte, die Kopie oder Vervielfältigung ist nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Labor LS SE & Co. KG gestattet. Sämtliche Inhalte der Präsentation, also Inhalte, Konzepte, Bilder, Visualisierungen und die Gesamtgestaltung sind urheberrechtlich geschützt. Eine Nutzung außerhalb des Kontexts des Vortrags, auch einzelner vorbezeichneter Aspekte und Inhalte, ist nur mit ausdrücklicher schriftlicher Zustimmung zulässig.



**Labor LS** • Mangelsfeld 4, 5, 6 • 97708 Bad Bocklet  
T +49 9708 9100-0 • [service@labor-ls.de](mailto:service@labor-ls.de) • [www.labor-ls.de](http://www.labor-ls.de)

Folgen Sie uns:

