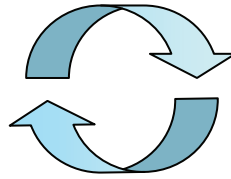


Durchführen mikrobiologischer Arbeiten I

Betrieb

[Ausbildungsrahmenplan Nr. 7](#)



Berufsschule

[Rahmenlehrplan Lernfeld 5](#)

7 b) Methoden der Desinfektion und Sterilisation anwenden

Grundlagen

Mikroorganismen, besonders Bakterien sind allgegenwärtig, es gibt nahezu keinen Standort, den sie nicht besiedeln. Deshalb müssen Kulturgefäße, Nährböden und sonstige Geräte, die zur Kultivierung eines bestimmten Mikroorganismus verwendet werden sollen, steril sein und anschließend vor erneuter Kontamination geschützt werden.

Begriffsbestimmungen

Reinigung	mechanische Beseitigung von Kontaminationen, Verschmutzungen und Keimen
Desinfektion	Reduzieren der Keimzahl, sodass von dem Gegenstand keine Infektionsgefahr mehr ausgehen kann
Sterilisation	Keimfreiheit, Abtöten aller Mikroorganismen

Es gibt kein universelles Sterilisationsverfahren. Die Auswahl des Verfahrens hängt ab von den Eigenschaften des zu sterilisierenden Gutes, vor allem von seiner Beständigkeit gegenüber dem wirksamen Agens, sowie von der Art und dem Umfang der Kontamination. Die einzelnen Verfahren sind nicht gleich wirksam.

Versuch 1: Keimabtötung durch Hitze

Aufgabenstellung

Desinfizieren und sterilisieren Sie alle Geräte, die Sie für die nächsten Tage benötigen. Machen Sie sich mit verschiedenen Desinfektions- und Sterilisationsmethoden in der Praxis vertraut.

Hinweise zum Arbeitsschutz

- Entsprechend allgemeiner Belehrung -

Geräte und Materialien

- Autoklav (Laborautoklav GVA 460)
- Trockenschrank Memmert
- Desinfektionslösung
- Glasgeräte, die für die folgenden Tage benötigt werden
- Alufolie
- Watte

Versuch 1.1: Feuchte Hitze

Sterilisation im Laborautoklav



Durchführung

1. Vorbereitung des Sterilgutes
 - Geräte, besonders solche aus Kunststoff, gründlich reinigen und anschließend mit demineralisiertem Wasser spülen.
 - Gefäße mit Flüssigkeiten (z.B. Beispiel Nährlösungen) nur halbvoll füllen und in Schutzgefäße füllen.
 - Dampfundurchlässige Verschlüsse nur lose aufsetzen, Schraubverschlüsse mit einer viertel bis halben Drehung leicht öffnen.
 - Watte- und Zellstoffverschlüsse mit einem Stück Aluminiumfolie abdecken.
 - Sterilisiergut in Einsatzbehälter stellen oder legen. Sterilisiergut möglichst in senkrechter Schichtung anordnen und nicht zu dick packen. Leere Gefäße so lagern, dass die Luft herausfließen kann.
 - Nur Gefäße etwa gleichen Volumens zusammen sterilisieren.
2. Autoklavieren
 - Arbeiten Sie die Gebrauchsanweisung des Laborautoklav GVA 460 durch!
 - Wasserstandsanzeiger Wasserfüllung kontrollieren und gegebenenfalls Wasser nachfüllen; nur destilliertes Wasser verwenden.
 - Am Temperaturregler gewünschte Sterilisationstemperatur einstellen bzw. überprüfen.
 - Körbe mit Sterilgut in den Autoklav einsetzen.
 - Autoklavdeckel schließen; Verschlüsse über Kreuz festziehen.
 - Heizung einschalten, Zeitschaltuhr aufziehen.
 - Wenn die Sterilisationstemperatur und der entsprechende Druck erreicht sind, wird die eingestellte Sterilisationszeit abgearbeitet.
3. Vorgehen nach Ablauf der Sterilisierzeit bei festem Sterilgut
 - **Öffnen des Gerätes erst, wenn der Kammerdruck 0 bar ist**
 - Sterilgut sofort aus dem Autoklav nehmen und an einem staubfreien, keimarmen Ort durch seine Eigenwärme trocknen lassen.
 - Sterilgut trocknen und an einem staubfreien Ort aufbewahren und möglichst bald verwenden.
4. Vorgehen nach Ablauf der Sterilzeit bei Flüssigkeiten
 - Nährböden und andere Lösungen mit hitzeempfindlichen Bestandteilen sofort entnehmen und rasch abkühlen lassen.
 - Nur lose aufgesetzte Verschlüsse nach dem Abkühlen andrücken oder fest zuschrauben.

Versuch 1.2: Trockene Hitze

Sterilisation im Trockensterilisator



Durchföhung:

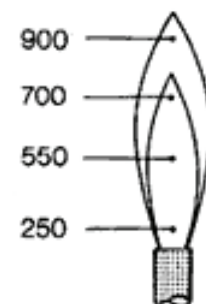
1. Glasstäbe, Drigalskispatel und Mikrospatel werden einzeln so in Aluminiumfolie verpackt (glänzende Seite nach innen), dass ca. 3 cm des Griffes herausschauen.
2. Erlenmeyerkolben mit einer Kappe aus Aluminiumfolie verschließen.
3. Kulturröhren mit einer Kapsenberg-Kappe verschließen.
4. Petrischalen verschließen.
5. Die Geräte werden nun in einem Trockensterilisator für 2 Stunden auf 180° C gehalten.
6. Pipetten mit einem Wattestopfen versehen, in die Pipettenhülsen legen und in einem Trockensterilisator für 3 Stunden auf 150° C halten.
7. Das Abkühlen der Geräte erfolgt bei geschlossener Tür.
8. Die so sterilisierten Geräte können ungeöffnet an einem staubsicheren Ort einige Zeit verwahrt werden.

Abflammen

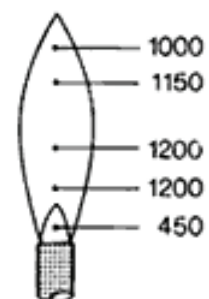
- Metall und Glasgeräte können durch kurzes Erhitzen in einer Brennerflamme oberflächlich sterilisiert werden.

Ausglühen

- Durch Ausglühen im äußeren Teil des Außenkegels der Brennerflamme werden Impfösen und -nadeln schnell und zuverlässig sterilisiert. Die dabei erreichten Temperaturen von über 1000°C töten die Mikroorganismen in Sekundenbruchteilen ab.

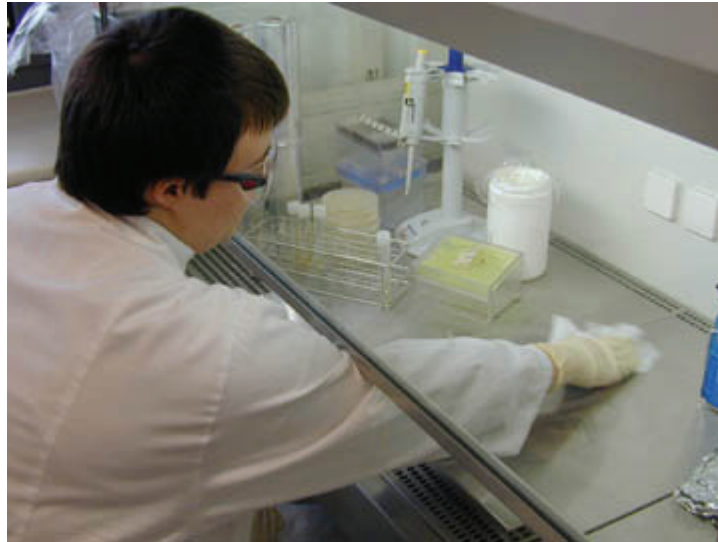


Nichtrauchende Flamme



Rauschende Flamme

Versuch 2: Keimabtötung durch chemische Sterilisation und Desinfektion



Grundlagen

Zahlreiche antimikrobiell wirkende Stoffe werden zur Keimreduzierung an Oberflächen oder als Dämpfe oder Aerosole zur Keimzahlverminderung in der Raumluft eingesetzt. Ziel dieses Einsatzes ist die Desinfektion, deshalb nennt man solche Mittel auch Desinfektionsmittel. Es ist zu berücksichtigen, dass sich mit Desinfektionsmitteln niemals eine Sterilisation erreichen lässt, sondern immer nur eine **Keimreduzierung**.

Aufgabenstellung

Desinfizieren Sie Ihre Hände, die Oberflächen, an denen Sie arbeiten und führen Sie eine Gerätedesinfektion durch.

Hinweise zum Arbeitsschutz

Entsprechend allgemeiner Belehrung

Geräte und Chemikalien

- Glasgeräte
- Desinfektionslösung

Durchführung

Gerätedesinfektion

- Geräte, besonders Glasgeräte, die (möglicherweise) mit pathogenen Keimen kontaminiert sind, legt man sofort nach Gebrauch für mindestens eine Stunde in ein Desinfektionsbad
- Setzen Sie das Desinfektionsbad frisch an und beachten Sie die Hinweise des Herstellers.

Flächendesinfektion

- Wischen Sie Ihre Arbeitsfläche vor und nach jedem Arbeiten mit Hilfe eines Papiertuches und 70% Ethanol ab
- Dasselbe gilt, wenn die Mikroorganismensuspension verschüttet worden ist.

Händedesinfektion

- Vor Arbeitsbeginn die Hände mit Seife gründlich reinigen und mit reichlich Wasser nachspülen, an einem Papiertuch abtrocknen
- 2 mal ca. 5ml Desinfektionsmittel jeweils 1 min in die Hände einreiben
- Bei Arbeitsende bzw. nach Kontaminationen zuerst die Hände desinfizieren, dann reinigen
- Beachten Sie den Anhang!

**Anhang:
Desinfektion der Hände nach Standardmethode CEN EN 1500**



1. Handfläche auf Handfläche



2. Rechte Handfläche über linkem Handrücken und umgekehrt



3. Handfläche auf Handfläche mit verschränkten Fingern



4. Außenseite der Finger auf gegenüberliegende Handfläche mit verschränkten Fingern



5. Kreisende Bewegung des rechten Daumens in der geschlossenen linken Handfläche und umgekehrt.



6. Kreisende Bewegung mit geschlossenen Fingerkuppen der rechten Hand in der linken Handflächen und umgekehrt.