

Faktenblatt

Autoklaven – Dampfsterilisation

Autoren: Dr. Valentin Küng und Philipp Thalmann,

Küng – Biotech + Umwelt, Bern

Herausgeber und Copyright:

**Kontrollstelle für Chemie-
und Biosicherheit (KCB)
Kantonales Laboratorium
Basel-Stadt
Kannenfeldstrasse 2
Postfach
4012 Basel**

Tel. 061 385 25 00

Fax 061 385 25 09

www.kantonslabor-bs.ch

18.12.2000 /

Update Mai 2007 / August 2014

1. Prinzip	3
2. Anwendungsbereich	3
3. Definitionen	3
4. Anforderungen an den Inaktivierungsprozess	4
5. Richtwerte und Standardverfahren	4
6. Organisatorische Anforderungen an den Betrieb von Autoklaven	5
7. Apparatetypen	5
8. Abwassersterilisation	7
9. Ausgewählte Literatur.....	7

Faktenblatt Autoklaven – Dampfaktivierung

1. Prinzip

Sämtliche Teile des Inaktivierungsgutes werden bei einer bestimmten **Temperatur** eine bestimmte **Zeit** lang der Einwirkung von **gesättigtem, gespanntem Wasserdampf** ausgesetzt. Die in der Inaktivierungskammer und im Inaktivierungsgut befindliche Luft wird vor Beginn der Einwirkungsdauer durch Verdrängen oder Evakuieren entfernt.

Die Abnahme der Keime beim Inaktivierungsprozess folgt einer Reaktion 1. Ordnung (logarithmische Abnahme).

2. Anwendungsbereich

Abgesehen von der Methode des Verbrennens ist die Inaktivierung mit Dampf die effektivste Methode zur Inaktivierung von festen und flüssigen Abfällen bzw. von kontaminierten Materialien und Arbeitsgeräten. Die Vorzüge der Dampfaktivierung sind neben einer hohen und schnellen Wirksamkeit ein gutes Durchdringungsvermögen, die Umweltverträglichkeit sowie die einfache Überprüfbarkeit (Monitoring). Sie ist die Methode der Wahl, wenn die Inaktivierung vor Ort geschehen soll und Hitze und Feuchtigkeit kein Problem darstellen¹.

- ☞ **Ausnahmen**
- Tierkadaver²
 - Möbel, Hitze- und auf Feuchte empfindliche Geräte
 - Verschüttungen
 - Radioaktivität
 - Bestimmte Chemikalien

Bei diesen Ausnahmen sind chemische oder andere Inaktivierungsverfahren zu bevorzugen.

3. Definitionen

**Einwirkungs-
dauer/ Halte-
zeit** Während der Einwirkungsdauer haben sämtliche Teile des Inaktivierungsgutes die vorgeschriebene Temperatur angenommen und sind der Einwirkung von gesättigtem, gespanntem Wasserdampf ausgesetzt.

¹ Andere Verfahren als die Dampfaktivierung sollten nur gewählt werden, wenn diese undurchführbar oder ungeeignet ist, z.B. bei Geräten, Anlagen und Möbeln, deren Behandlung mit Dampf nicht möglich ist. In diesen Fällen kommt eine Begasung mit Ethylenoxid oder Formaldehyd in Frage (EN 12740). Neben der Inaktivierung mit Dampf spielt auch die chemische Inaktivierung bei der Behandlung von Abfällen eine Rolle. Dies ist besonders dann der Fall, wenn Mikroorganismen nach der Ernte und Inaktivierung weiterverarbeitet werden, um bestimmte hitzelabile Bestandteile zu isolieren. Es handelt sich hier also nicht um Abfall im engeren Sinn. Bei der Wahl der Inaktivierungsmethode spielt in diesem Fall neben der Inaktivierung der Mikroorganismen auch die geplante weitere Behandlung eine Rolle.

² Tierkadaver können vor dem Verbrennen autoklaviert werden. Autoklavieren als einziger Inaktivierungsschritt ist nicht zu empfehlen, da eine vollständige Dampfpenetration des Kadavers schwierig nachzuweisen und bei grösseren Tieren i. d. R. nicht praktikabel ist.

4. Anforderungen an den Inaktivierungsprozess

- Behälter** Behälter, in denen sich die Abfälle befinden, dürfen während der Behandlung in der Inaktivierungskammer **nicht luftdicht** verschlossen sein. Es sind nur Behälter mit ausreichend großen Öffnungen oder Säcke verwenden.
In dem zu desinfizierenden Gut dürfen sich **keine hermetisch verschlossenen Gefäße** befinden, ausser in besonderen Fällen (z.B. bei Flüssigkeiten; abhängig vom Autoklaventyp und gewähltem Verfahren).
Werden als Behälter **Säcke** verwendet, so müssen sie so beschaffen sein, daß sie vor dem Beschicken entweder geöffnet werden oder während der ersten Vakuumphase zerreißen (siehe ‚Vakuum-Verfahren‘). Es gibt auch Säcke, die aus dampfpermeablem Material bestehen.
- Ausgleichszeit** Die Ausgleichszeit und die Abkühlzeit sind auf die Abfallart abzustimmen. Dabei sind insbesondere die kompakten Bestandteile und die Flüssigkeitsmenge zu berücksichtigen.
- Wirksamkeit** Die Wirksamkeit muss durch eine Prüfung nachgewiesen werden. Zum Beispiel nach der deutschen Richtlinie »Prüfung von Abfalldesinfektionsverfahren auf Wirksamkeit«, Bundesgesundheitsblatt 36 (1993): 158–160 (Publikation des Robert Koch-Institutes).

☞ Häufigste Störungsursache bei Autoklaven stellt der Einschluss von Luft-„Inseln“ im Inaktivierungsgut dar. In diesen Einschlüssen werden die Sollwerte für eine Inaktivierung nicht erreicht!

5. Richtwerte und Standardverfahren

Für die Inaktivierung sind **Dampf, Temperatur** und **Einwirkungszeit** entscheidend. Als Standardprozedur gilt: 15 bis 20 Minuten, bei 121°C und 2 bar Druck. Unter diesen Bedingungen werden *Bacillus stearothermophilus*-Sporen, die zu den hitzeresistentesten Keimen gehören, abgetötet. Freie DNA wird unter diesen Bedingungen ebenfalls zerstört.

- Ausnahme** Prionen müssen während 1 Stunde bei 132°C autoklaviert werden (Strömungsverfahren), in einem Autoklaven mit Vorvakuumisierung dürften 18 Minuten bei 132°C genügen.

Aus ökologischen Gründen kann es sinnvoll sein, Abfälle mit von der Standardprozedur abweichenden Verfahren zu behandeln. Die Effektivität solcher abweichenden Verfahren muss allerdings gezeigt werden. Bei Gemischen von Organismen sind die Inaktivierungsbedingungen an die hitzeresistentesten Keime anzupassen (vgl. auch den letzten Abschnitt im Kapitel 6 zu Indikatoren).

6. Organisatorische Anforderungen an den Betrieb von Autoklaven

- Einen geeigneten **Standort** auswählen. Unter Berücksichtigung der Anforderungen der Ein-schliessungsverordnung (Anhang 4 ESV) bedeutet dies:
 - Sicherheitsstufe 1: keine Einschränkungen (nur verfügbar); bei nicht meldepflichtigen Tätigkeiten kann die Massnahme auch ohne Bewilligung des zuständigen Bundesamts geändert, ersetzt oder weggelassen werden.
 - Sicherheitsstufe 2: im selben Gebäude; kann mit Bewilligung des zuständigen Bundesamts geändert, ersetzt oder weggelassen werden.
 - Sicherheitsstufe 3: im Arbeitsbereich; kann mit Bewilligung des zuständigen Bundesamts geändert, ersetzt oder weggelassen werden.
 - Sicherheitsstufe 4: im Arbeitsbereich, Durchreicheautoklav (keine Ausnahmen)
- Regelung der **Verantwortlichkeit** (z.B. Liste der für den regelmässigen Betrieb Verantwortlichen, Ansprechpartner bei Störungen, Verantwortlicher zur Durchführung periodischer Funktionskontrollen und Wartungsarbeiten etc.)
- Ein **Sammelplatz** für die zu autoklavierenden Abfälle muss organisiert sein.
- **Betriebsanweisungen** müssen gut sichtbar beim Autoklaven zur Verfügung stehen und Angaben über die versch. Sterilisierungsprogramme mit Anwendungsbereich (z.B. Feststoffe, Flüssigkeiten) und den einzuhaltenden Parameter (Temperatur, Druck, Zeit) enthalten. Ebenfalls soll ein **Beladungsplan** (mit Angaben zum Inhalt, Anzahl, Volumen, Masse des Sterilisiergutes) vorhanden sein.
- Es empfiehlt sich für jeden Autoklaven ein **Logbuch** zu führen (Aufzeichnung der „runs“ und allfälliger Wartungsarbeiten oder Störungen).
- **Indikator** muss am ungünstigsten Ort für die Dampfpenetration (z. B. grösstes Volumen) platziert sein. Für die alltägliche Temperaturkontrolle des Sterilisationsprozesses werden sogenannte **Autoklaven-Tapes** mit Farbindikator verwendet. Etwas präzisere Kontrollen auch bezüglich der Einwirkungsdauer erlauben **Indikatorröhrchen** oder **Indikatorsticks**. Für eine zuverlässige Validierung der Inaktivierung sind empfindlichere Methoden wie **Kontrollorganismen** (Bacillus-Sporen, auch in gebrauchsfertigen Inkubationsröhrchen erhältlich) oder elektronische Aufzeichnungsmodule (sog. **Logger**) zu verwenden. Solche Kontrollen sind bei der erstmaligen Verwendung eines best. Programms, bei jeder relevanten Änderung des Programms resp. des Sterilisiergutes sowie zur periodischen Überprüfung durchzuführen.

7. Apparatetypen

Es gibt verschiedene **Modelle** von Autoklaven. Zu unterscheiden ist zwischen kleineren Tischautoklaven, mittleren bis grösseren Standautoklaven und fest eingebauten Durchreicheautoklaven. Letztere sind insbesondere ab Sicherheitsstufe 3 oder für strikt kontrollierte Tierhaltungs- oder Produktionsanlagen geeignet, da das Beschicken und Entladen von voneinander abgetrennten Bereichen möglich ist (,schmutzige' resp. ,saubere' Seite) und so eine (äusserliche) Rekontamination von inaktiviertem Abfall bei der Entnahme verhindern.

Eine Liste mit geprüften und anerkannten Apparatetypen wird vom Robert Koch-Institut in Deutschland herausgegeben³. Zu beachten ist, dass die Temperaturen und Einwirkungszeiten in der Liste für einen beschränkten Wirkungsbereich gelten und daher vom Standardverfahren abweichen.

Generell gilt, dass zur Überprüfung der Funktionsabläufe eine **automatische Aufzeichnung der Betriebsparameter** (Haltezeit, Temperatur, evtl. Druck) erforderlich ist. Stand der Technik ist die elektronische Erfassung mit der Möglichkeit zum Ausdrucken. Ältere Modelle sind mit einer sogenannten Aufzeichnungsscheibe ausgestattet. Für höhere Anforderungen (ab Sicherheitsstufe 3) gilt eine voneinander unabhängige Temperaturerfassung zur Steuerung und Prozesskontrolle als Stand der Technik.

Bei abluft- und kondensatbildenden Verfahren – was die Regel ist – sind **Sterilfilter** ab Sicherheitsstufe 2 Stand der Technik, ab Sicherheitsstufe 3 zwingend notwendig. Sie verhindern das Entweichen von pathogenen Mikroorganismen in der verdrängten Luft während der Aufheizphase. Dabei haben sich Sterilfilter mit einer Porengrösse von 0,2 µm als Standard etabliert. Je nach Modell und Anwendungsweise des Autoklaven sind periodisch auszuwechselnde Filter (z.B. in Kartuschen) oder permanent im Gerät integrierte Filter erhältlich.

Untenstehend sind die zwei Haupttypen von Autoklavierverfahren kurz vorgestellt. Zu beachten ist, dass diese Verfahren je nach techn. Ausführung des Autoklaven noch weiter differenziert werden können, was hier nicht näher behandelt werden soll:

Vakuum-Verfahren

Merkmale

- Entfernung der Luft aus Autoklav durch mehrmaliges Evakuieren im Wechsel mit Einströmenlassen von Dampf.
- Wirksamkeit ist abhängig vom erreichten Unterdruck und der Betriebsweise (einmaliges oder mehrmaliges Evakuieren nach jeweiliger Dampfzugabe).
- Abluft- und kondensatbildendes Verfahren.
- Inaktivierungskammer und mit ihr unmittelbar in Verbindung stehende Rohrleitungen und Ventile sind vakuumdicht.
- Verfahren für Sicherheitsstufe 1-4 verwendbar, Stand der Technik ab Stufe 3, absolut notwendig für Stufe 4.

Ausrüstung

- Entlüftung des Autoklaven über Sterilfilter ab Sicherheitsstufe 3 der ESV absolut notwendig; für Sicherheitsstufe 2 Stand der Technik.
- Kontrolliertes Autoklavieren des Kondensats während des Inaktivierungsvorgangs (ab Sicherheitsstufe 3 absolut notwendig). Separate Inaktivierung des Kondensats ist zu vermeiden.

³ Eine vergleichbare Liste mit geprüften oder anerkannten Apparatetypen für die Inaktivierung gibt es in der Schweiz nicht.

Strömungs- oder Gravitationsverfahren

- | | |
|-------------------|---|
| Merkmale | <ul style="list-style-type: none">• Luft wird durch Sattedampf verdrängt (Prinzip des Dampfkochtopfs).• Problematisch bei porösen Materialien (Luftinseln!)• Dampf wird intern oder extern erzeugt.• Entlüftungsventil wird nach einigen Minuten geschlossen (evtl. manuell).• Abluft- und kondensatbildendes Verfahren.• Verwendung für Sicherheitsstufe 1 bis 2. |
| Ausrüstung | <ul style="list-style-type: none">• Für Sicherheitsstufe 2 gilt ein Sterilfilter als Stand der Technik.• Kondensatablass so gering wie möglich halten. |

8. Abwassersterilisation

Flüssige Abfälle und Abwässer aus Labor und Produktion können über kontinuierliche oder Batch-Verfahren (diskontinuierlich) sterilisiert werden. Die Zuverlässigkeit und Betriebssicherheit ist bei Batchverfahren wesentlich höher als bei kontinuierlichen Verfahren (Inaktivierung im Durchflussverfahren).

Aus Sicherheitsgründen ist bei der Konstruktion von Anlagen darauf zu achten, dass Totvolumina so klein als möglich (Stutzenlänge für das Ablassventil unter ca. 5 cm) gehalten werden. Die Auslegung der Inaktivierungsanlagen verlangt die Einhaltung des Prinzips der doppelten Barriere: Dabei stellt der Autoklav die erste, ein nachfolgender nicht-kontaminierter Rückhalte-Tank die zweite Schranke dar. Der dem Autoklaven nachgeschaltete Tank dient nur als Containment bei Notfällen. Bei allfälligen Kontaminationen ist er zu desinfizieren.

Kontinuierliche Verfahren sind nur dann sinnvoll, wenn das Abwasser in grossen Mengen und ebenfalls fortlaufend anfällt. Sie verlangen eine aufwändige Prozesskontrolle und sind in jedem Fall zu validieren. Die Konstruktion einer solchen Anlage erfordert ebenfalls die Einhaltung des oben genannten Prinzips der doppelten Barriere durch einen nachgeschalteten Stapeltank. Der Ablass aus dem Stapeltank in die Kanalisation darf nur erfolgen, wenn der Inaktivierungsprozess störungsfrei läuft.

9. Ausgewählte Literatur

Für Dampf-Autoklaven sind die derzeit gültigen Deutschen Industrie Normen (DIN) und Europäischen Normen (EN) zu beachten:

- DIN 58946 Teil 5 Dampfsterilisatoren, Sterilisation, Klein-Sterilisatoren, Anforderungen
- EN 285 Sterilisation – Dampfsterilisatoren – Grosssterilisatoren

Für technische Ausführungen betreffend Ausrüstungen sind die folgenden Merkblätter empfehlenswert:

- Internationale Vereinigung für soziale Sicherheit IVSS (2000) Sicherer Umgang mit biologischen Agenzien, Teil 2 Arbeiten im Laboratorium (ISBN 92-843-7138-4)
Online Bezugsquelle: <http://www.suva.ch>
- Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und –verfahren Stand vom 31.8.2013
Online Bezugsadresse: <http://www.rki.de>
- Merkblatt B 002 (2010): Laboratorien: Ausstattung und organisatorische Massnahmen, Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie
Online Bezugsquelle: <http://www.bgchemie.de>
- Merkblatt B 003 (1992): Ausstattung und organisatorische Massnahmen: Betrieb Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie
Online Bezugsquelle: <http://www.bgchemie.de>

Fachbücher oder Studien mit umfassenden Zusammenstellungen

- Steuer, W.; Schubert, F. (2010) Leitfaden der Desinfektion, Sterilisation und Entwesung, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Wallhäuser, K. H. (2008) Wallhäussers Praxis der Sterilisation, Antiseptik und Konservierung Georg Thieme Verlag, Stuttgart