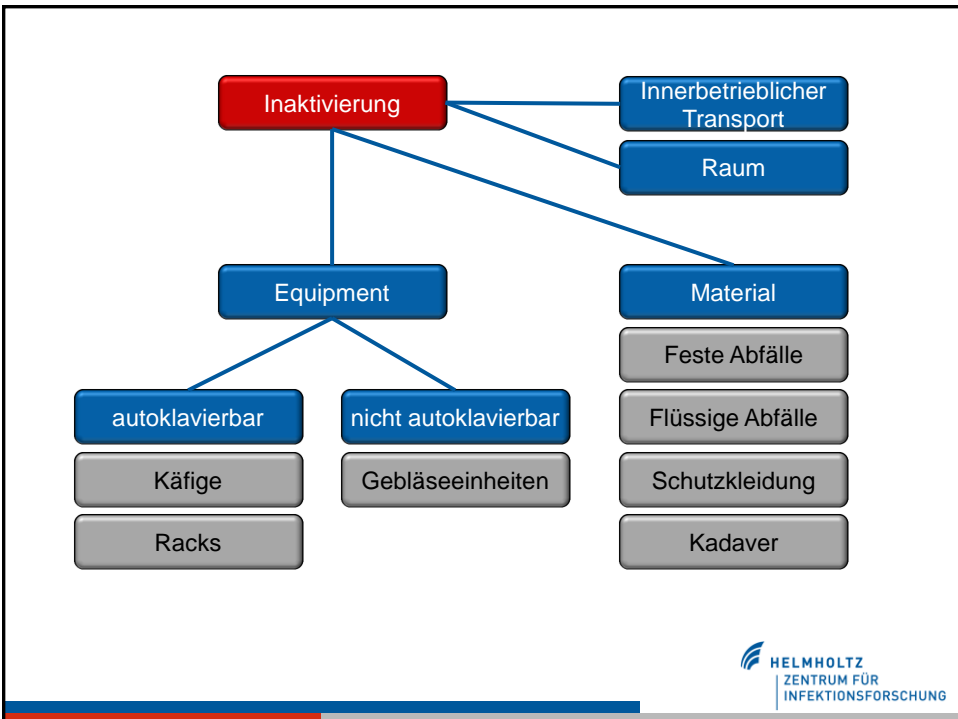


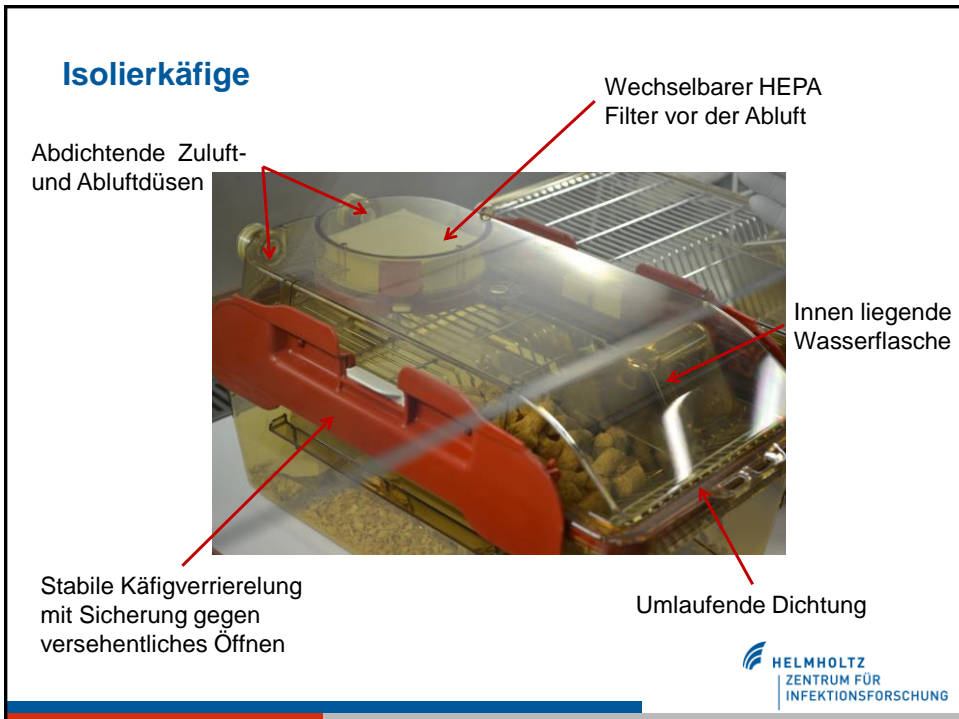
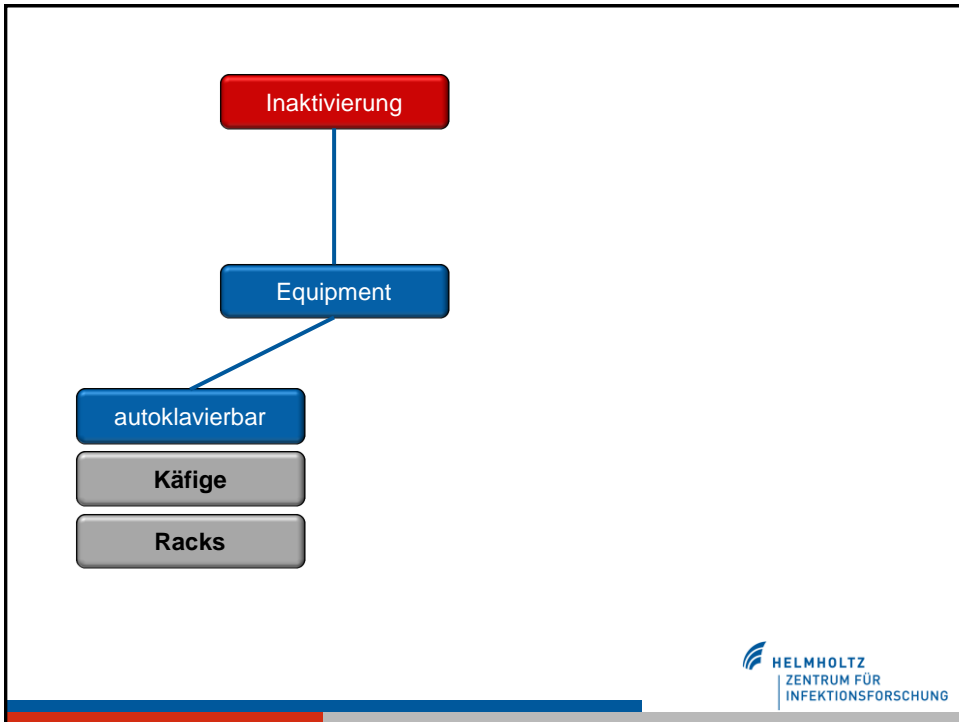


## Inaktivierung, Sterilisation und Abfallsorgung im S3-Tierhaus des HZI Braunschweig

Bastian Pasche

BSL-3-Workshop „Fachkundige Person“ 23.02.2016





## Isolierkäfige



- Käfige im permanenten Unterdruck (-100 Pa)
- Optische Überwachung durch Manometer
- Technische Überwachung über Gebläseeinheit und GLT

## Autoklavieren von Isolierkäfigen

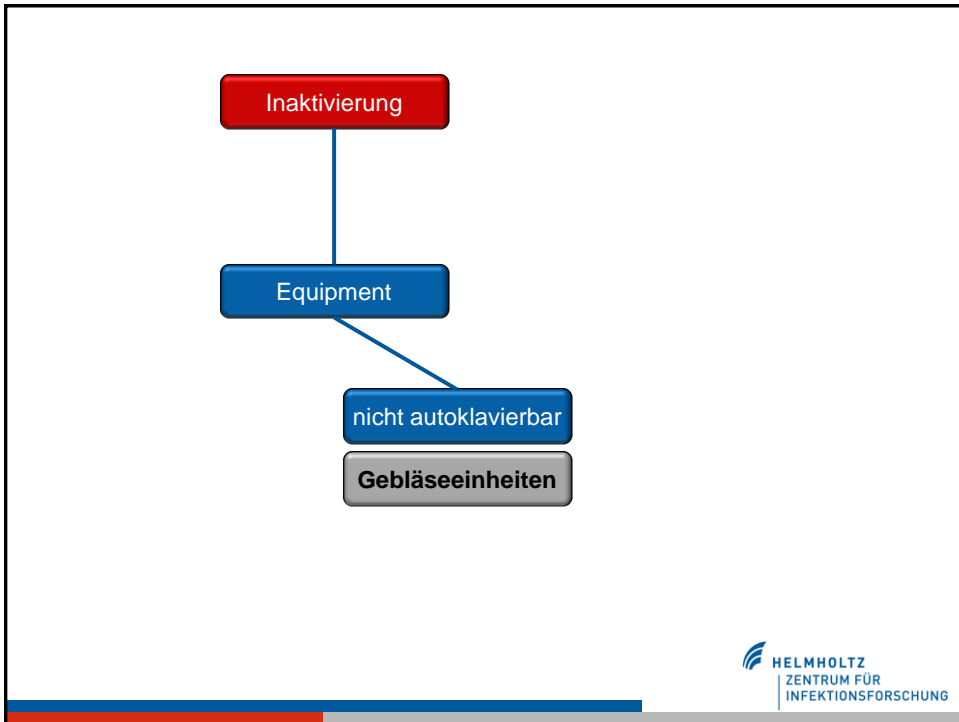


spezifisches Equipment notwendig:

- Düsen müssen zur Ermöglichung des Dampfeintritts geöffnet sein
- Käfigdeckel darf nicht verriegelt sein

*Verbesserungen des Equipments durch den Hersteller:*

- Nur die Abluftdüse (HEPA-Filter) wird geöffnet
- Andruckfedern verhindern versehentliches Öffnen der unverriegelten Käfige



### Dekontamination mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- **SOP des Herstellers:**
- „Sterilization of the air handling unit with [...] Hydrogen Peroxide to ensure the microbiological efficiency of the equipment during standard operations“

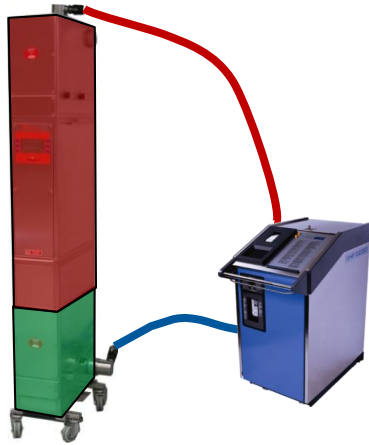
The photograph shows two pieces of equipment. On the left is a tall, grey, vertical air handling unit with a control panel and a red emergency stop button. On the right is a smaller, blue, rectangular unit. A red hose connects the top of the grey unit to the top of the blue unit. A blue hose connects the bottom of the grey unit to the bottom of the blue unit.

Dauer der Prozedur:  
ca. 1 Stunde plus  
12 Stunden Belüftungszeit  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) Volumen: 30ml

Bilder mit freundlicher Genehmigung von Tecniplast Deutschland GmbH und Steris Deutschland GmbH

HELMHOLTZ  
ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG

## PROBLEM

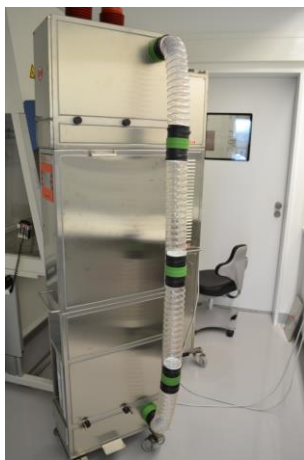


- SOP des Herstellers:
- „Sterilization of the air handling unit with [...] Hydrogen Peroxide to ensure the microbiological efficiency of the equipment during standard operations“

Mit dieser SOP werden nur die Abluftfilter dekontaminiert

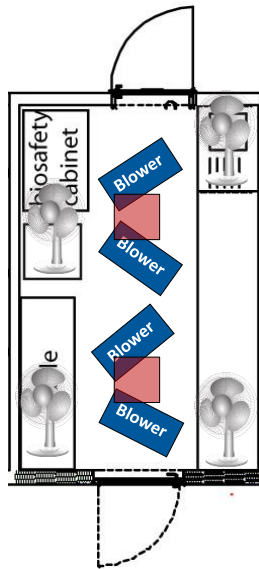
Bilder mit freundlicher Genehmigung von Tecniplast Deutschland GmbH und Steris Deutschland GmbH

## LÖSUNG: Dekontamination während der Raumbegasung



Um die Dekontamination von Zuluft- und Abluftfilter zu gewährleisten, wird die Gebläseeinheit mit einem Lüftungsschlauch „kurzgeschlossen“

## LÖSUNG: Dekontamination während der Raumbegasung



4 Gebläseeinheiten (Blower)

Platzierung unterhalb der Raum-Zuluft-Auslässe (rot)

4 mobile Ventilatoren sorgen für die Luftbewegung innerhalb des Raums

## Überprüfung durch chemische und biologische Indikatoren



Um die Anwesenheit von  $H_2O_2$  und eine  $\log_6$  Reduktion von Mikroorganismen zu zeigen, wurden chemische und biologische Indikatoren an verschiedenen Positionen innerhalb der Gebläseeinheit angebracht.

(*Geobacillus stearotherophilus*  
 $3 \times 10^6$  Sporen/Indikator)

## Prozessvalidierung durch 3 unabhängige Begasungen



- alle Begasungen mit reproduzierbaren Ergebnissen
- log<sub>6</sub> Reduktion erfolgreich
- Zeitsparende Methoden (Dekontamination von vier Gebläse-einheiten parallel)
- Prozess von der Genehmigungsbehörde (nach Vorlage bei ZKBS) anerkannt

Inaktivierung

Material

Feste Abfälle

**Flüssige Abfälle**

Schutzkleidung

Kadaver

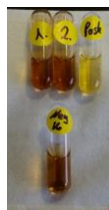
## Flüssige Abfälle



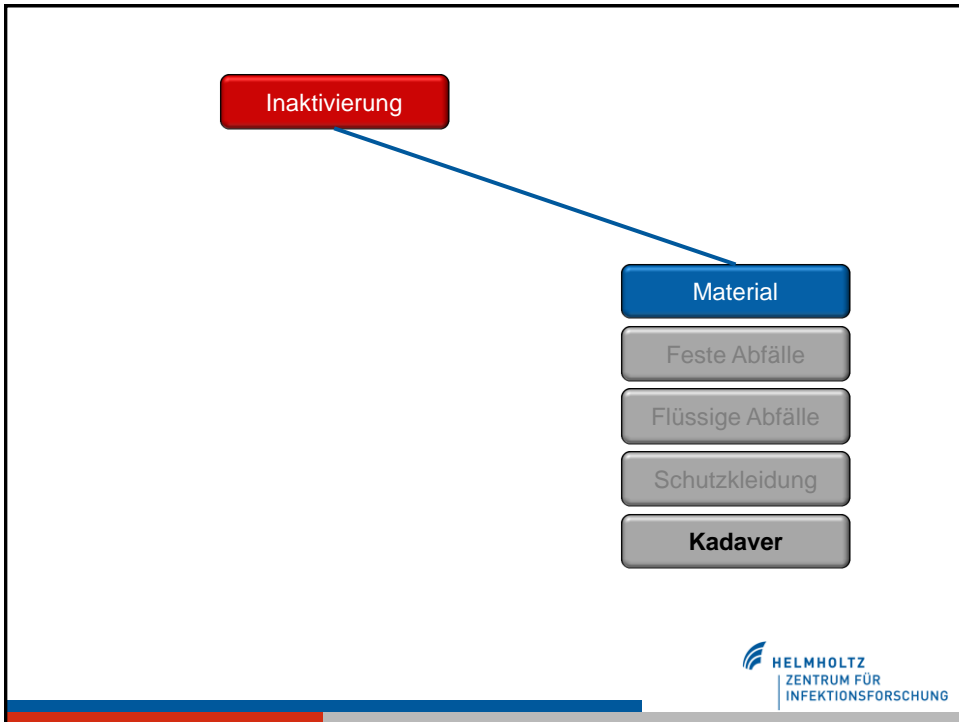
## Flüssige Abfälle



Einwirkzeit: 5 min  
Einwirktemperatur: 134°C







## Inaktivierung von Mausekadavern

Beschluss 19/2014 des ABAS vom 11.12.2014 Seite 1  
Expertenkreis Labortechnik (ELATEC)

Technische Stellungnahme  
zum Thema

„Thermische Inaktivierung von Tierischen Nebenprodukten  
(hier: Mausekadaver aus der Versuchstierhaltung)  
im Autoklaven aus den Bereichen  
der Schutz- und Sicherheitsstufe 2 – 4“

HELMHOLTZ  
ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG

## Inaktivierung von Mausekadavern

Beschluss 19/2014 des ABAS vom 11.12.2014

Seite 5

Expertenkreis Labortechnik (ELATEC)



Nicht praktikabel bei großen Mengen!

Beispiel: Positionierung der Mausekadaver

Bild: Autoklavenvalidierung am HZI, März 2010

## Inaktivierung von Mausekadavern



Ca. 10 kg Tierkadaver in 1-2  
offenen Autklavensäcken und  
in einem Aesculab-Container  
(Edelstahl oder Aluminium, mit  
Filterdeckel, Größe 60 x 28 x 28  
cm)

## Inaktivierung von Mausekadavern



Autoklavieren im Flüssigkeitenprogramm  
Sterilisierprogramm nach dem Vorvakuumverfahren  
mit nachfolgender Kühlung des Gutes auf weniger  
als 80°C mit Kaltwasser-Mantelkühlung bei  
gleichzeitigem Druckluft-Stützdruck

Programmablaufzeit: ca. 6 Stunden

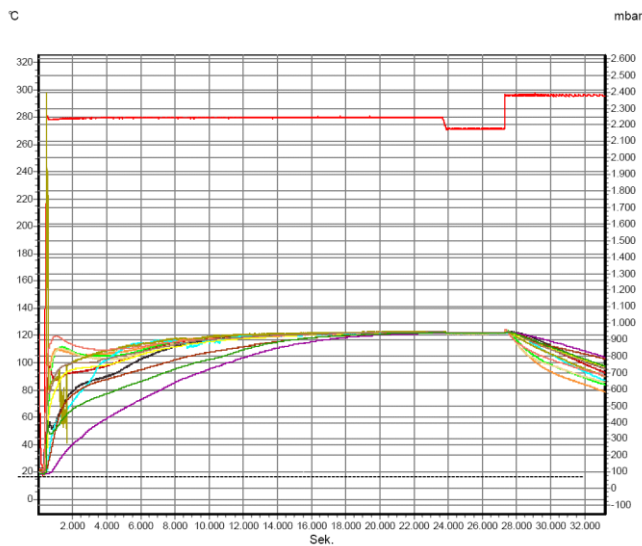
Einwirkzeit: 60 min

Einwirktemperatur: 121°C

Referenzgefäß: Nalgene-Flasche mit 5 l Wasser



## Inaktivierung von Mausekadavern



## Inaktivierung von Mausekadavern

### 4.3 Durchführung der Prozessvalidierung

Die thermoelektrische Prüfung kann mit Thermoelementen, Datenloggern oder geeigneten Temperaturfühlern durchgeführt werden. Bei Autoklaven mit einem Kammervolumen von < 800 Liter sind mindestens 6 Messstellen, bei Autoklaven mit einem Kammervolumen von > 800 Liter sind mindestens 10 Messstellen normativ gefordert (DIN EN 285). Die Thermofühler sind zentral im Mausekadaver zu platzieren (oral oder rektal). Mit der thermischen Messung ist der Nachweis der Inaktivierungstemperatur von mind. 121°C für mind. 20 min zu erbringen. Werden die Inaktivierungstemperatur und/oder die Haltezeit nicht erreicht, sind die Prozessparameter, wie die Anzahl der Fraktionierungen oder Druckgradienten anzupassen und die Messung zu wiederholen. Die Inaktivierungstemperatur muss reproduzierbar sein, indem der Prozess unter gleichen Voraussetzungen 3-mal wiederholt wird. Zusätzlich ist ein Temperaturfühler in der Autoklavenkammer und im Kammerkondensat zu platzieren und die Messwerte in die Dokumentation der Prozessparameter mit aufzunehmen.

physikalische Prüfung statt biologischer Prüfung

*„Ab S2 empfiehlt es sich, den Autoklaviererfolg mittels Bioindikatoren zweimal jährlich nachzuweisen.“*

**Gentechnische Anlagen – Technische Anforderungen**  
(Fachkoordinierungsstelle Umwelttechnik des Landes Niedersachsen), S. 71

## Inaktivierung von Mausekadavern



Platzierung biologischer Indikatoren  
(BAG-ProAMP, 10<sup>6</sup>)



## Inaktivierung von Mausekadavern



Erfolgreiche Abtötung in  
allen Proben  
(K = Positiv-Kontrolle)

Fragen?



## TIEREXPERIMENTELLE EINHEIT

Katrin Kränzler  
Vanessa Rummel  
Bastian Pasche

## ABTEILUNG SICHERHEIT UND UMWELT

Susanne Talay

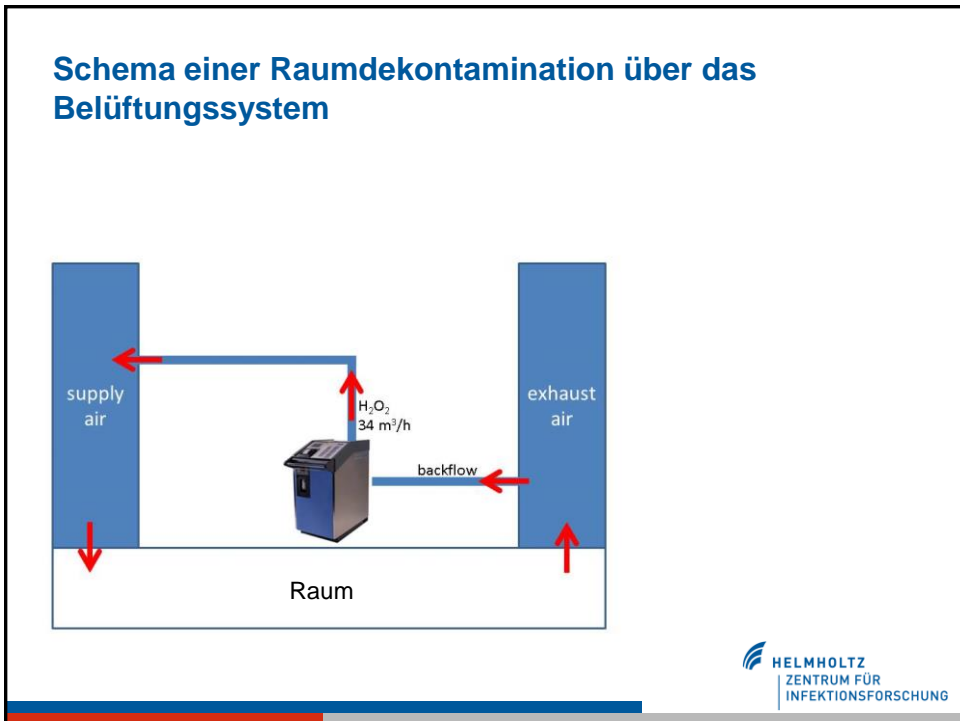
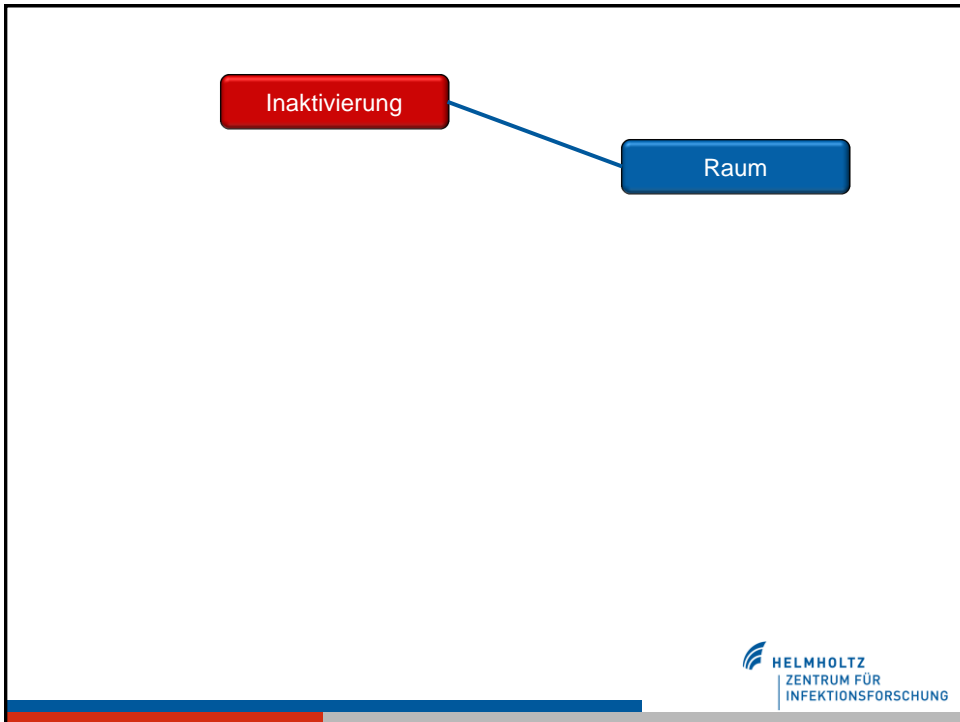
## Kontaktdaten

Dr. Bastian Pasche

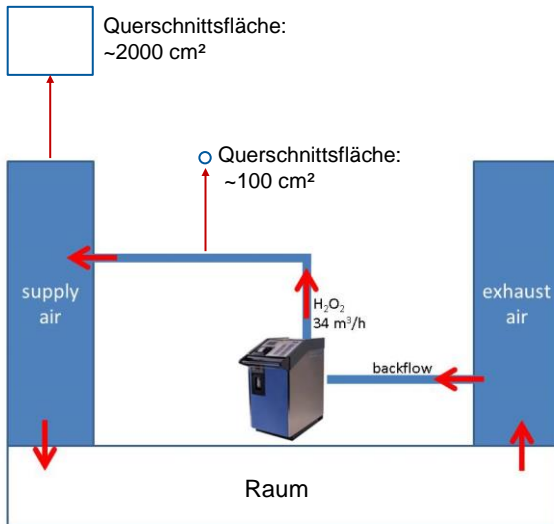
Leiter Tierexperimentelle Einheit  
Helmholtzzentrum für Infektionsforschung  
Inhoffenstr. 7  
38124 Braunschweig

Telefon (0531) 6181-3800  
E-Mail [bastian.pasche@helmholtz-hzi.de](mailto:bastian.pasche@helmholtz-hzi.de)

<https://de.linkedin.com/in/bastian-pasche-561475102>



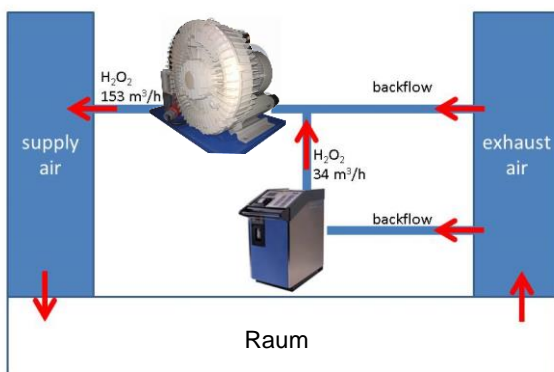
## PROBLEM



### Mögliche Lösungen

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Generator in den Raum stellen
- Installation von Begasungsstutzen
- Luftwechselrate erhöhen

## LÖSUNG: Erhöhung der Luftwechselrate





## Technische Konfiguration



- Dauer der Prozedur:  
ca. 2,5 Stunden plus  
12 Stunden Belüftung  
(über HVAC System)
- Raum Volumen: 60 m<sup>3</sup>
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Volumen: 1800 ml  
Entfeuchtung: 10 min  
Konditionierung: -  
Dekontamination: 150 min / 12 g  
Belüftung: 12 h

Inaktivierung

Innerbetrieblicher  
Transport

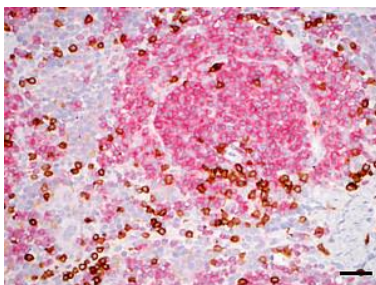
## Innerbetrieblicher Transport

Probenmaterial zur weiteren Verwendung → S3-Laborgebäude



## Innerbetrieblicher Transport

Probenmaterial zur weiteren Verwendung → S3-Laborgebäude  
Fixiertes Gewebe → Pathologie



SOP Fixierung von Mäusen und Organen

HELMHOLTZ  
ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG

SOP erstellt von	Dr. Susanne Taley
Version	1
Datum	20.02.2014

**1. Abschnitten des Tieres (siehe Abb. 2009)**

- Tier gut merken in Rückenlage fixieren
- Nach warmer Befuchtung des Fells wird ein Hautschnitt vom Beckenrand bis zum Hals geführt und die Haut stumpf zur Seite hin weggespart.

## Innerbetrieblicher Transport

- Probenmaterial zur weiteren Verwendung → S3-Laborgebäude
- Fixiertes Gewebe → Pathologie
- Defektes Equipment → Technischer Betrieb
- Werkzeug → Technischer Betrieb

