

	<b>Technische Information</b>	<b>730-127-DE</b>		<b>V05</b>
	<b>Population, D-Wert, F<sub>Bio</sub>-Wert und z-Wert bei Bioindikatoren</b>	Erstellt	28.07.2014	HeK
		Änderung	07.03.2023	Hek
		Prüfung	07.03.2023	UK
		Freigabe	07.03.2023	UK
<b>Ablage-Nr.: 3.0</b>				

## **Grundsätzliche Informationen über biologische Indikatoren (BI)**

Die Population, der D-Wert, der F<sub>Bio</sub>-Wert und der z-Wert sind wichtige Kenngrößen für BI.

Die Population gibt die Anzahl der Mikroorganismen des BI an.

Der D-Wert ist ein Maß für die Resistenz des Organismus, nicht des BI und wird in einer Zeiteinheit, wie z.B. Minuten angegeben. Dieser Wert gilt aber nur für einen bestimmten Sterilisationsprozess bei einer genau angegebenen Temperatur und nur für die angegebene Charge.

Der F<sub>Bio</sub>-Wert berechnet sich aus dem D-Wert zusammen mit der Population und wird ebenfalls in einer Zeiteinheit, wie z.B. Minuten angegeben. Er spiegelt die „Gesamtstärke“ des Bioindikators wider.

Der z-Wert gibt die Veränderung des D-Werts für andere Temperaturbereiche des gleichen Sterilisationsprozesses an und wird in Kelvin (K) oder anderen Temperaturskalen angegeben.

### **Population:**

Die Population gibt die Anzahl der lebensfähigen „Sporen“ eines Bioindikators an. Sie wird in der Regel in der Einheit KBE (Kolonie bildende Einheit) oder CFU (colony forming units) angegeben und in exponentieller Notation von 10 und einem Korrekturfaktor ausgedrückt. Die Einheit hat diesen Namen, da jede lebensfähige Spore, sobald sie auf eine Nährbodenplatte kommt und bei richtiger Temperatur bebrütet wird, anfängt sich zu teilen, bis die große Menge Bakterien mit bloßem Auge als „Kolonie“ auf einer Petrischale erkennbar ist.

### **Dezimale Reduktionszeit = D-Wert:**

#### 1.) Logarithmische Abtötungskinetik

Setzt man Mikroorganismen, wie z.B. Bakterien, einem Sterilisationsprozess aus, sterben diese nicht linear ab, sondern die Absterbekinetik entspricht einer logarithmischen Zerfallskurve.

Es ist auch in dem in der Tabelle dargestellten Beispiel ersichtlich:

Unter der Annahme ein Bioindikator hat 100.000 Bakteriensporen, also in Exponentialschreibweise  $10^5$  Sporen, die einen D-Wert von 2 min bei 121°C besitzen. Nach 2 min Sterilisation bei vorgegebener Temperatur (121°C) sind nur noch 10 % der Ursprungsbakterienmenge vorhanden, also 10.000 Keime. Nach einer weiteren Minute sind nicht etwa die restlichen 10 % abgetötet worden, sondern es sind immer noch 1000 Keime lebendig, d.h. wieder sind noch 10% der vorherigen Ursprungsmenge noch lebendig. Da bei jeder weiteren Sterilisationszeit, die einer D-Wert-Dauer entspricht, die Population auf genau 1/10 (lat.: dezi-) oder auf 10 % der Ursprungsmenge reduziert wird, spricht man von der „dezimalen Reduktionszeit“. D.h. bei jeder D-Wert-Einheit wird folglich in unserem Dezimalsystem das Komma bei der Population einfach eine Stelle weiter nach links verschoben.

Siehe dazu auch Tabelle 1.

	<b>Technische Information</b>	<b>730-127-DE</b>		<b>V05</b>
	<b>Population, D-Wert, F<sub>Bio</sub>-Wert und z-Wert bei Bioindikatoren</b>	Erstellt	28.07.2014	HeK
		Änderung	07.03.2023	Hek
		Prüfung	07.03.2023	UK
		Freigabe	07.03.2023	UK
<b>Ablage-Nr.: 3.0</b>				

Tabelle 1: das Beispiel mit 100.000 Keimen mit einem vorgegebenen D-Wert von 2 Minuten bei 121°C (Dampfsterilisation):

min	Anzahl der Sporen nach der Sterilisationszeit	Sterilisationszeit	Sterility Assurance Level (SAL)	Definitionen
2,0	100.000	Start		neuer Bioindikator
2,0	10.000	1 D = 2 min		
2,0	1.000	2 D = 4 min		
2,0	100	3 D = 6 min		(F <sub>Bio</sub> - 2) = Wachstum des BI
2,0	10	4 D = 8 min		
2,0	1	5 D = 10 min	F <sub>Bio</sub> -Wert = log Pop x D = Gesamtresistenz des BI	
	1 von x Packs = unsteril			
2,0	x = 10	6 D = 12	1/10 = 10 <sup>-1</sup>	
2,0	x = 100	7 D = 14	1/100 = 10 <sup>-2</sup>	
2,0	x = 1.000	8 D = 16	1/1.000 = 10 <sup>-3</sup>	
2,0	x = 10.000	9 D = 18	1/10.000 = 10 <sup>-4</sup>	F <sub>Bio</sub> + 4 = Abtötung von BI
2,0	x = 100.000	10 D = 20	1/100.000 = 10 <sup>-5</sup>	
2,0	x = 1.000.000	11 D = 22	1/1.000.000 = 10 <sup>-6</sup>	= steril gemäß EN 556-1

2.) Sporen in Bioindikatoren sind schwerer zu inaktivieren als pathogene Mikroorganismen und eignen sich daher, um den schwierigsten Sterilisationszustand („worst-case“) der pathogenen Keiminaktivierung zu simulieren:

Nach jeder D-Wert Einheit sind nur noch 10 % der Ursprungsmenge Mikroorganismen vorhanden. Der D-Wert ist übrigens sehr unterschiedlich, je nachdem um welchen Keim es sich handelt und selbst bei der gleichen Spezies unterscheiden sich die Resistenzwerte oft erheblich. Die Krankheitserreger mit den höchsten Resistenzen gegenüber Sterilisationsprozessen sind Bakteriensporen, weshalb man sie auch als Bioindikatoren als „worst-case“ Modell einsetzt. Die Keime, die als Indikator eingesetzt werden, sind wesentlich resistenter als Krankheitserreger und nicht pathogen.

3.) Abtötungswahrscheinlichkeit:

Die Tabelle zeigt, dass nach 10 Minuten rein rechnerisch nur noch ein Keim vorhanden ist. Sterilisiert man nun eine weitere Minute, verschiebt man das Komma wieder um eine Stelle nach links und man erhält rein rechnerisch 1/10 Bakterium. Das bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, dort noch eine lebensfähige Bakterienspore zu finden, 1 zu 10 ist [ohne Berücksichtigung der Gauß-Verteilung]. Würde man das Experiment also 10 mal wiederholen oder 10 Pakete mit je 100.000 Sporen zusammen für 10 Minuten sterilisieren, würde man der Wahrscheinlichkeit nach im Durchschnitt noch ein lebendes Bakterium in einem der Pakete finden, da ja in allen Paketen zusammen 10<sup>6</sup> Sporen wären.

Das Problem bei der logarithmischen Abtötungskinetik ist somit, dass man rechnerisch niemals Null erreichen kann, egal wie lange man sterilisiert. In Europa wird ein Produkt nach

	<b>Technische Information</b>	<b>730-127-DE</b>		<b>V05</b>
	<b>Population, D-Wert, F<sub>Bio</sub>-Wert und z-Wert bei Bioindikatoren</b>	Erstellt	28.07.2014	HeK
		Änderung	07.03.2023	Hek
		Prüfung	07.03.2023	UK
		Freigabe	07.03.2023	UK
<b>Ablage-Nr.: 3.0</b>				

DIN EN 556 als „steril“ bezeichnet, bei dem die Wahrscheinlichkeit einen noch lebenden Keim zu finden, bei 1 zu 1 Million liegt. Man spricht auch von einer Sterilisationswahrscheinlichkeit SAL (Sterility Assurance Level) von  $10^{-6}$ . In der Tabelle wird die in der Norm beschriebene Wahrscheinlichkeit von 1 zu 1 Million nach 22 Minuten Sterilisationszeit erreicht. Die Zeit, die benötigt wird um diesen Wert zu erreichen, hängt natürlich von der Ausgangspopulation („Bioburden“) und dem D-Wert der Kontamination ab.

### **F<sub>Bio</sub>-Wert: die Gesamtstärke eines Bioindikators**

Der F<sub>Bio</sub>-Wert bezieht sowohl die Population, als auch die Resistenz eines BI ein und ist ein Maß für die Gesamtstärke eines Bioindikators.

Der F<sub>Bio</sub>-Wert ist die Zeit, die benötigt wird, um einen beliebigen Bioindikator von der Ausgangspopulation auf nur einen einzigen Keim zu reduzieren, also  $10^0$  Keime=1 Keim im Mittel.

Im Beispiel der Tabelle 1 müsste man also 5 „Dezimalen“ nach unten gehen, um von ursprünglich 100.000 Keimen nur noch einen zurückzubehalten.

Da die Abnahme jeder Dezimalstufe die Zeit eines D-Werts benötigt, ist die Berechnung des F<sub>Bio</sub>-Wertes ganz einfach:

$$F_{\text{Bio}}\text{-Wert} = \log \text{Population} \times \text{D-value}$$

In unserem Beispiel aus der ersten Tabelle:

$$F_{\text{Bio}}\text{-Wert} = \log 10^5 \times 2 \text{ min} = 5 \times 2 \text{ min} = 10 \text{ min}$$

Dabei fällt auf, dass die Resistenz direkt in die Gleichung eingeht, während bei der Population nur die Anzahl der Zehnerpotenzen, also der dekadische Logarithmus der Population mit eingeht.

Eine geringe Änderung der Population fällt also sehr viel geringer ins Gewicht, als eine Änderung des D-Werts. Bioindikatoren mit höherer Population besitzen nicht unbedingt eine höhere Gesamtstärke, obwohl sie durch höhere Produktionskosten immer teurer sind.

Dazu folgendes Beispiel anhand zweier Tabellen:

	<b>Technische Information</b>	<b>730-127-DE</b>		<b>V05</b>
	<b>Population, D-Wert, F<sub>Bio</sub>-Wert und z-Wert bei Bioindikatoren</b>	Erstellt	28.07.2014	HeK
		Änderung	07.03.2023	Hek
		Prüfung	07.03.2023	UK
		Freigabe	07.03.2023	UK
<b>Ablage-Nr.: 3.0</b>				

Tabelle 2. und 3.: zwei Beispiele für Bioindikatoren mit unterschiedlichem F<sub>Bio</sub>-Wert:

Beispiel 1: Bioindikator mit <u>10<sup>6</sup> KBE</u> Und einem D-Wert von D-Wert 121°C: <u>1,5 min</u>		
Zeit im Autoklaven bei 121°C	Population: Anzahl der Sporen des Bioindikators	
0 min	10 <sup>6</sup>	1.000.000
1,5 min	10 <sup>5</sup>	100.000
3 min	10 <sup>4</sup>	10.000
4,5 min	10 <sup>3</sup>	1.000
6 min	10 <sup>2</sup>	100
7,5 min	10 <sup>1</sup>	10
9 min	10 <sup>0</sup>	1
F <sub>Bio</sub> = 6 x 1,5 = 9 min		

Beispiel 2: Bioindikator mit nur <u>10<sup>5</sup> KBE</u> Aber einem höheren D-Wert D-Wert 121°C: <u>2,0 min</u>		
Zeit im Autoklaven bei 121°C	Population: Anzahl der Sporen des Bioindikators	
0 min	10 <sup>5</sup>	100.000
2,0 min	10 <sup>4</sup>	10.000
4 min	10 <sup>3</sup>	1.000
6 min	10 <sup>2</sup>	100
8 min	10 <sup>1</sup>	10
10 min	10 <sup>0</sup>	1
F <sub>Bio</sub> = 5 x 2 = 10 min		

Fazit: Obwohl die Population im linken Beispiel 10-mal so hoch ist, wie im rechten Beispiel und die D-Werte sich nur um 30 Sekunden unterscheiden, hat der preiswertere 10<sup>5</sup>er Bioindikator eine höhere Gesamtstärke, also einen höheren F<sub>Bio</sub>-Wert, oder es dauert länger bis er abgetötet wird.

### **z-Wert:**

Mit Hilfe des z-Wertes kann man die Resistenz eines Bioindikators, also den D-Wert auch für andere Temperaturen als den angegebenen. Der Prozess selbst bleibt dabei der gleiche, nur die Temperatur ändert sich.

Der z-Wert Wert wird in K angegeben und wird für jede Charge Sporen experimentell ermittelt. Erhöht man die Temperatur um den Betrag des z-Wertes, funktioniert die Abtötung 10-mal so schnell. Wird die Temperatur um den z-Wert Betrag abgesenkt, erhöht sich der D-Wert um den Faktor 10. Es dauert dann also 10-mal so lange um die gleiche Abtötungsrate zu erreichen.

Bei Dampfsterilisationsprozessen liegt der D-Wert der gängigen Indikatorensporen meist um die 10 K und darf laut Norm EN ISO 11138-3 nicht weniger als 6 K betragen.

	<b>Technische Information</b>	<b>730-127-DE</b>		<b>V05</b>
	<b>Population, D-Wert, F<sub>Bio</sub>-Wert und z-Wert bei Bioindikatoren</b>	Erstellt	28.07.2014	HeK
		Änderung	07.03.2023	Hek
		Prüfung	07.03.2023	UK
		Freigabe	07.03.2023	UK
<b>Ablage-Nr.: 3.0</b>				

Beispiel:

Der D-Wert einer Bakterienspore sei 2 min bei 121°C (Dampf).

Der gemessene z-Wert beträgt 8 K.

D.h. bei 129°C wäre der neue berechnete D-Wert gerade einmal 0,2 min d.h. 24 Sekunden.

Bei 113°C betrüge der neue D-Wert 20 min. Die Temperatur hat einen sehr großen Einfluss auf die Sterilisationsgeschwindigkeit. Je höher die Temperatur, desto kürzer ist die Sterilisationszeit.

Für andere Temperaturen ist die Berechnung nicht schwierig:

$$D\text{-Wert}_{\text{neu}} = \frac{D\text{-Wert}_{\text{alt}}}{10^{\left(\frac{T_{\text{neu}} - T_{\text{alt}}}{z\text{-Wert}}\right)}}$$

D-Wert<sub>neu</sub>: berechneter D-Wert für die „neue“ Temperatur

D-Wert<sub>alt</sub>: der alte, bekannte D-Wert und z-Wert des Zertifikats

T= Temperatur in °C

Beispiele: BI mit z = +/-8 K, D<sub>121</sub>-Wert = 2 min

Temperaturerhöhung + 8 K

Neuer D-Wert bei 129°C:

$$D_{129} = \frac{2 \text{ min}}{10^{\left(\frac{129^\circ\text{C} - 121^\circ\text{C}}{8^\circ\text{C}}\right)}} = \frac{2 \text{ min}}{10^{\left(\frac{8^\circ\text{C}}{8^\circ\text{C}}\right)}} = \frac{2 \text{ min}}{10^1} = 0.2 \text{ min}$$

Temperatursenkung -8 K

Neuer D-Wert bei 113°C:

$$D_{113} = \frac{2 \text{ min}}{10^{\left(\frac{113^\circ\text{C} - 121^\circ\text{C}}{8^\circ\text{C}}\right)}} = \frac{2 \text{ min}}{10^{\left(\frac{-8^\circ\text{C}}{8^\circ\text{C}}\right)}} = \frac{2 \text{ min}}{10^{-1}} = 20 \text{ min}$$