

Mikrobiologische Experimente mit Säurekonzentrat –

ist Säurekonzentrat »autosteril«?

Angesichts einer angespannteren Finanzsituation im Gesundheitswesen müssen Betreiber von Dialysezentren ihre Betriebskosten schärfer kalkulieren. **Konzentrat-Systeme mit Zentralversorgung im Dialysezentrum** könnten eine Alternative zu dezentraler Versorgung einzelner Dialysegeräte über Kanister sein. Wie steht es aber um die Hygiene dieser »zentralen« Konzentrat-Versorgungen? Dieser wichtigen Frage wird in diesem Beitrag nachgegangen.

Konzentrat-Systeme mit Zentralversorgung arbeiten zwar nicht wesentlich kostengünstiger, sind aber umweltfreundlicher und einfacher zu handhaben als eine dezentrale Versorgung der einzelnen Dialysegeräte über Kanister. Nicht ohne Grund wurden zentrale Konzentrat-Versorgungssysteme bereits in den 90' er Jahren gerne von den Betreibern der Dialysezentren akzeptiert.

Als unter Umständen problematisch erwiesen sich jedoch schon bald »zentrale« Bikarbonatversorgungen aufgrund hygienischer Bedenken. Bikarbonat-Konzentrat ist bekanntermaßen recht anfällig gegenüber einer Verkeimung (Grassmann et al. 2000) und in relativ kurzer Zeit bilden sich Biofilme auf allen medienberührten Oberflächen (Man et al. 1998, eigene Beobachtungen), wenn keine geeigneten Gegenmaßnahmen getroffen werden (Abb. 1). Ein solcher Biofilm kann bei neueren Bikarbonat-Zentralversorgungssystemen mit speziell entwickelter Verfahrenstechnik verhindert werden, die allerdings bei »klassischen« Anlagen nicht eingesetzt wird. Bei der Bikarbonat-Versorgung kommen immer häufiger Kartuschen zum Einsatz, die mittlerweile als ausgereiftes Produkt – als Einmalartikel sowie in wiederbefüllbarer Form – an fast jedem Dialysegerät genutzt werden können. Damit dürfte hier das Problem »Verkeimung« gelöst sein.

Dass solche Bedenken für das saure Konzentrat, wenn diese denn gelegentlich bestehen, ungerechtfertigt sind, soll in der Folge ausgearbeitet werden.

Will ein Dialysezentrum aufgrund größer werdenden Kostendrucks nennenswert sparen, bleibt als eine der wenigen Möglichkeiten die Selbstherstellung des sauren Konzentrats. In der Regel fällen diese Entscheidung Zentren, die bereits über ein zentrales Versorgungssystem verfügen, da solche Überlegungen in dieser Verbindung am meisten Sinn machen. Wir haben uns deshalb die Frage gestellt, ob die Gefahr einer Verkeimung in der Kombination Selbstherstellung/Zentralversorgung größer ist als bei einer industriellen Versorgung.

Stand des Wissens

Es gibt keine uns bekannte Veröffentlichung oder Beobachtung, dass ein sachgerecht betriebenes Zentralversorgungssystem für Säurekonzentrat auch älterer Bauart jemals verkeimt wäre. In der neueren Übersichtsliteratur findet sich hierzu die Aus-

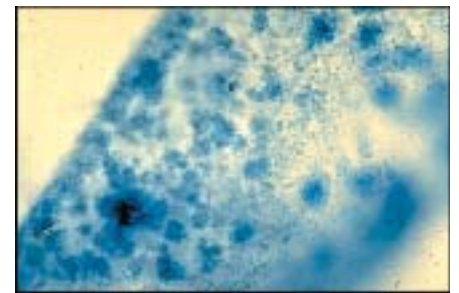


Abb. 1: Biofilm auf der inneren, medienberührenden Oberfläche eines Schlauches (Schlauchmaterial unbekannt) aus einer Bikarbonat-Zentralversorgung. Färbung: Lactophenolblau; Objektiv. 100 x, Ölimmersion.

sage, die hohe Salzkonzentration und der niedrige pH-Wert verhindere ein Mikroorganismenwachstum, Säurekonzentrat sei »autosteril« (etwa: Bonnie-Schorn et al. 1998, Grassmann et al. 2000). Arbeiten, die solches belegen, werden nicht zitiert. Uns ist lediglich die Veröffentlichung von Mergeryan et al. (1994) bekannt, in der dies durch Untersuchungsergebnisse untermauert wird.

Was den kritischen Geist in diesem Zusammenhang jedoch etwas unsicher in der Beurteilung werden lässt, ist die Tatsache, dass selbst hochprozentige Salzlösungen von Mikroorganismen besiedelt werden können. Viele dieser Spezialisten können extreme Elektrolyt-Verhältnisse ertragen oder setzen diese sogar voraus. Zu ihnen gehören Vertreter der halophilen Eubakterien, Cyanobakterien (Galinski 1995, Wagner 1995) oder bestimmte Mikroalgen (Kirst 1995).

Gibt es folglich Organismen, die in der Lage sind, sich in Säurekonzentrat-Systemen zu etablieren?

Die Herstellung von Säurekonzentrat erfolgt nicht unter Reinstraumbedingungen. In einem sauberen Raum werden idealerweise von einer entsprechend mit Laborkittel, Kopfhaut, Einmalhandschuhen und Mund-Naseschutz ausgerüsteten Person manuell einem mit Umkehrosmosewasser gefüllten Mischtank definierte Salz- und Essigsäuremengen (Eisessig) im richtigen

Verhältnis zudosiert (zirka-Angaben der Firma CK-Medizintechnik: 23 % verschiedene Salze, 3 % Glucose, 0.6 % Eisessig, pH zwischen 3 und <4). Bereits diese Vorgehensweise schließt eine, wenn auch geringe Kontaminationsgefahr der Lösung mit Umweltkeimen nicht aus. Die entstandene Lösung wird über ein mehr oder weniger langes Leitungsnetz an die Orte des Verbrauchs transportiert. Dort wiederum besteht die Möglichkeit eines Keimeintrages über die Entnahmekupplungen für Säurekonzentrat am Dialyseplatz. Hygienisch bedenklich wäre es, wenn ein Teil der so ins System gelangten Mikroorganismen fähig wäre, sich dort zu vermehren und in Form von Biofilmen zu etablieren. Um Hinweise darüber zu erhalten, ob Keime der menschlichen Haut und Schleimhäute sowie möglicherweise zu einer besonderen Anpassung befähigte Mikroorganismen aus der Umwelt im Säurekonzentrat wachsen und Biofilme bilden können, haben wir einfache, orientierende Experimente durchgeführt.

Erstes Experiment

Wie eine früher gemachte, unveröffentlichte Beobachtung gezeigt hatte, war auf der inneren Oberfläche eines lange benutzten Schlauchsegments aus der Wandleitung einer Säurekonzentrat-Versorgungsanlage mikroskopisch keinerlei Anzeichen eines Biofilms zu erkennen. Im aktuellen Fall hatten wir die Gelegenheit, ein derartiges Schlauchsegment (PU = Polyurethan) aus einem Dialysezentrum erneut mikroskopisch zu untersuchen. Es handelte sich um Material, mit dem seit ungefähr acht Jahren Säurekonzentrat zu den Dialyseplätzen geleitet wurde.

Von der inneren, medienberührenden Oberfläche des Schlauchstücks wurden mit einer Rasierklinge Flächenschnitte angefertigt, diese in Lactophenolblau auf einem Objektträger eingedeckt und anschließend lichtmikroskopisch untersucht. Das Ergebnis war eindeutig: Es war keine



Abb. 2: Innere Oberfläche eines Schlauchs (PU) aus einem Säurekonzentrat-Versorgungssystem, etwa 8 Jahre in Betrieb. Keine Mikroorganismen feststellbar. Lediglich einige dunkle, anorganische Partikel sind erkennbar. Kleine, runde, seifenblasenartige Gebilde im Hintergrund sind material-spezifische Strukturen des Schlauches. Färbung: Lactophenolblau; Objektiv 100x, Olimmission.

Besiedlung durch Mikroorganismen erkennbar. Lediglich einige locker verstreute, anorganische Partikel, eventuell Ausfällungen aus der Lösung, waren zu erkennen (Abb. 2).

Zweites Experiment

Zunächst sollte untersucht werden, wie sich ubiquitäre Umweltmikroorganismen, die einen Teil der natürlichen menschlichen Haut- beziehungsweise Schleimhautflora (das Bakterium *Staphylococcus aureus*, der Hefepilz *Candida albicans*) bilden beziehungsweise etwa auch aus Staub (das anaerob wachsende Bakterium *Clostridium sporogenes*) isoliert werden können (Brandis und Pulverer 1988), in Säurekonzentrat verhalten. Während *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* vegetative Zellen entwickeln, die gegen chemisch/physikalische Stressfaktoren relativ empfindlich reagieren, vermag *Clostridium sporogenes* sehr resistente Endosporen als Überdauerungsstadien zu bilden.

Nach DAB 10 wurden je 10 ml einer fertigen Säurekonzentratlösung mit 10^6 KBE *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sporogenes* beziehungsweise *Candida albicans* beimpft und 48 Stunden bei 37 °C inkubiert. Die beimpften Proben wurden abfiltriert, die Filter mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend auf entsprechend geeigneten Nährmedien bebrütet. Nach einer Bebrütungs-dauer von 48 h bei 37 °C konnten die Keime nicht mehr nachgewiesen werden. Offenbar waren alle lebensfähigen Zellen im Säurekonzentrat abgestorben oder so geschädigt worden, dass sie nicht mehr fähig waren, sichtbare, auszählbare Kolonien auf den angebotenen Nährmedien zu bilden. Bezüglich *S. aureus* und *C. albicans* decken sich diese Ergebnisse mit den Beobachtungen von Mergeryan et al. (1994), die jedoch *Clostridium sporogenes* nicht untersucht hatten, dafür aber bei den hier nicht berücksichtigten Bakterienarten *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli* eine vergleichbare letale Wirkung von Säurekonzentrat ermittelt hatten.

Drittes Experiment

Garten- oder Komposterde enthält eine Vielzahl von Bakterien und Pilze. Das darin anzutreffende Artenspektrum stellt eine potentielle Quelle der Kontamination u.a. auch für Dialyseflüssigkeiten aufgrund des Eintrags von keimhaltigen Staub aus der Umgebung dar. Insbesondere seien hier Eubakterien, darunter viele Sporenbildner, und saprophytische Deuteromyceten (viele »Schimmelpilze«) mit ihren Konidien erwähnt.

Schimmelpilze gedeihen im Gegensatz zu den meisten Bakterien oftmals auch noch bei sehr niedrigen pH-Werten unter pH 3. Viele von ihnen begnügen sich darüber hinaus mit extrem geringen Nährstoffgehalten und bilden sogar auf reinem Wassereragar noch Myzel aus. Verschiedene, häufig nachweisbare Pilzarten sind zumindest halotolerant, können also auch höhere Elektrolytkonzentrationen vertragen und Biomasse bilden.

Ein Jahre zurückliegendes Experiment mit Blumenerde und einem Säurekonzentrat aus einem handelsüblichen Kanister hatte gezeigt, dass in unverdünntem Säurekonzentrat kein Myzelwachstum sichtbar war, sich dagegen in mit Aqua demin. auf etwa 30 Prozent verdünntem Konzentrat ein nicht näher bestimmter Pilz sichtbar entwickeln konnte und submers Myzel gebildet hatte. Gerade diese Beobachtung regte uns zu folgendem Experiment an: Je drei Reagenzglasröhrchen mit Schraubkappenverschluss wurden mit 5 ml Säurekonzentrat (unverdünnt) oder einem mit Aqua demin. verdünnten Säurekonzentrat (80 %, 50 % und 20 % Säurekonzentrat) unsteril beschickt und mit je einer mais-korngroßen Menge unbehandelter Komposterde versehen. Die Ansätze wurden bei Raumtemperatur vier Wochen inkubiert und wöchentlich auf Myzelwachstum und Trübung kontrolliert. Nach Abschluss der vierwöchigen Inkubation wurden die Ansätze aufgeschüttelt und Flüssigkeit mit suspendierten Komposterdeparkeln entnommen. Hiervon wurden Ausstrichpräparate angefertigt und nach Eindeckelung in Lactophenolblau lichtmikroskopisch auf Mikroorganismen-Wachstum (Bakterien, Pilzhyphen, Hefen) untersucht.

In unverdünntem und in den auf 80 Prozent und 50 Prozent mit Aqua demin. verdünnten Ansätzen konnte mikro- und makroskopisch keinerlei Hinweis auf ein Wachstum gefunden werden (Abb. 3).

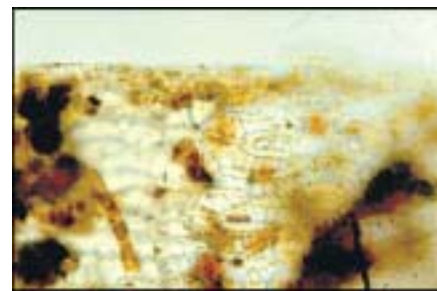


Abb. 3: Komposterdeparkel (Pflanzenfragment) aus einem Ansatz mit unverdünntem Säurekonzentrat, Ausstrichpräparat. Kein Mikroorganismenwachstum erkennbar. Färbung: Lactophenolblau; Trockenobjektiv 40x.

Tab. 1: Makroskopische Auswertung auf Anzeichen von Mikroorganismenwachstum der Ansätze von Säurekonzentrat und den davon mit Aqua demin. hergestellten Verdünnungen nach Beimpfung mit Komposterde. Inkubation bei Raumtemperatur, Inkubationsdauer: 4 Wochen (0=kein sichtbares Mycelwachstum, keine Trübung; +=sichtbares Mycelwachstum, ++ Trübung)

Kulturröhrchen Nr.	Säurekonzentrat-Verdünnung	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
1	unverdünnt	0	0	0	0
2	unverdünnt	0	0	0	0
3	unverdünnt	0	0	0	0
4	80%	0	0	0	0
5	80%	0	0	0	0
6	80%	0	0	0	0
7	50%	0	0	0	0
8	50%	0	0	0	0
9	50%	0	0	0	0
10	20 %	0	0	+	+
11	20 %	0	0	+	+
12	20%	0	0	+	+

Lediglich in dem auf 20 Prozent der Ausgangskonzentration verdünnten Säurekonzentrat wurde ein heller Flaum von Myzel sichtbar, der die im Ansatz sedimentierten Komposterdepartikel bedeckte (Tab. 1). Die lichtmikroskopische Analyse von Ausstrichpräparaten (Tab. 2) bestätigte diese Beobachtungen. Neben fädigem Myzel von Hyphenpilzen (Abb. 4) konnten in dem am stärksten verdünnten Ansatz auch noch vereinzelt Hefezellen nachgewiesen werden (Abb. 5). Bakterien waren im mikroskopischen Ausstrich nicht zu finden.



Abb. 5: Knospende Hefezelle (Bildmitte) aus einem Ansatz mit Komposterde in 20 %igem Säurekonzentrat, Ausstrichpräparat. Färbung: Lactophenolblau; Objektiv 100 x, Ölimmersion.

Tab. 2: Mikroskopische Auswertung der Ansätze (vgl. Tab. 1) auf Anzeichen von Mikroorganismenwachstum (0 = keine Bakterien, Hefen oder Hyphenpilze nachweisbar; += Pilzhypen, ++ = Hefen, +++ = Bakterien nachweisbar)

Kulturröhrchen Nr.	Säurekonzentrat-Verdünnung	Woche 4
1	unverdünnt	0
2	unverdünnt	0
3	unverdünnt	0
4	80%	0
5	80%	0
6	80%	0
7	50%	0
8	50%	0
9	50%	0
10	20 %	+ / ++
11	20 %	+ / ++
12	20%	+ / ++

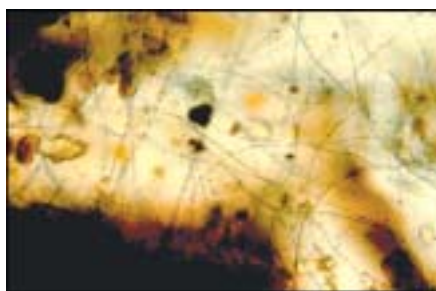


Abb. 4: Komposterdepartikel (Pflanzenfragment) aus einem Ansatz mit 20 %igem Säurekonzentrat, Ausstrichpräparat. Das Fragment ist mit Pilzhypen bewachsen. Lactophenolblau; Trockenobjektiv 40x.

Diskussion der Ergebnisse

Die Experimente haben gezeigt, dass vegetative Zellen von ausgewählten Testorganismen im Säurekonzentrat vollständig inaktiviert wurden. Die Ergebnisse einer anderen Autorengruppe (Mergeryan et al.) wurden hierbei für die gemeinsam verwendeten Testorganismen bestätigt. Auch bei extrem hoher Kontamination von unverdünntem und verdünntem Säurekonzentrat durch Beimpfen mit unbehandelter Komposterde wurde weder makro- noch mikroskopisch ein Wachstum beziehungsweise die Vermehrung von Mikroorganismen festgestellt. Nur bei einem, mit Aqua demin auf 20-prozentiges Säurekonzentrat verdünnten Ansatz, wurden sichtbare Hyphen auf den Komposterdepartikeln am Boden der Kulturröhrchen gebildet. Mikroskopisch konnten darüber hinaus auch vereinzelt knospende Hefezellen beobachtet werden.

Schließlich konnte lichtmikroskopisch an Schlauchmaterial, welches nahezu acht Jahre in einer Säurekonzentrat-Versorgungsanlage eines Dialysezentrums eingesetzt war, belegt werden, dass sich während der langen Betriebsdauer keine Mikroorganismen auf den medienberührenden Schlauchflächen etabliert hatten. Eigene, früher gemachte, Beobachtungen wurden hierdurch bestätigt.

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass aufgrund der chemischen Zusammensetzung des Säurekonzentrats ein Mikroorganismenwachstum beziehungsweise eine Vermehrung unterbunden wurde. Die Ableitung hieraus, Säurekonzentrat sei »autosteril«, wäre allerdings unzulässig. Zum einen wurden lediglich einige orientierenden Experimente durchgeführt. Eine statistische Absicherung der Aussagen kann in diesem Rahmen naturgemäß nicht durchgeführt werden. Andererseits geben sie keinen Anhaltspunkt darüber, ob insbesondere Dauerstadien von Mikroorganismen zur Gänze abgetötet oder »nur« in ihren Lebensaktivitäten auf nahezu Null reduziert wurden. Dieser Frage wird in weiteren Experimenten nachgegangen und zu gegebener Zeit hierüber berichtet werden.

Auf Grundlage der bisher vorliegenden Resultate ist davon auszugehen, dass in sachgerecht hergestelltem Säurekonzentrat keine Vermehrung von Mikroorganismen und keine Biofilmbildung auf medienberührenden Materialien stattfinden kann.

Literatur

Grassmann, A.; Uhlenbusch-Körwer, I.; Bonnie-Schorn, E.; Vienken, J.: *Composition and management of hemodialysis fluids*. Pabst Verlag, Lengerich, Berlin, Riga, Rom, Zagreb 2000.

Bonnie-Schorn, E.; Grassmann, A.; Uhlenbusch-Körwer, I.; Weber, C.; Vienken, J.: *Water quality in hemodialysis*. Fresenius Medical Care, Bad Homburg/Oberursel 1998)

Galinski, E.A.: *Halophile und halotolerante Eubakterien*. In: Hausmann, K. und Kremer, B.P.: *Extremophile: Mikroorganismen in ausgefallenen Lebensräumen*. 2. Auflage. VCH Verlag, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo 1995, S. 89-112.

Wagner, G.: *Halobakterien – Leben im biotischen Grenzbereich*. In: Hausmann, K. und Kremer, B.P.: *Extremophile: Mikroorganismen in ausgefallenen Lebensräumen*. 2. Auflage. VCH Verlag, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo 1995, S.141-157.

Kirst, G.O.: *Halophile Mikroalgen*. In: Hausmann, K. und Kremer, B.P.: *Extremophile: Mikroorganismen in ausgefallenen Lebensräumen*. 2. Auflage. VCH Verlag, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo 1995, S.159-176.

Mergeryan, H.; Bode, U.; Schwartz, P.; Hildebrand, U.: *Wachstumsverhalten unterschiedlicher Keime in verschiedenen in der Dialyse genutzten Flüssigkeiten*. In: Referate zum 5. Seminar der Dr. med. Curt Möller-Gedächtnisstiftung. Kassel 1994, S. 87-97

Brandis, H. und Pulverer, G.: *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*. G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1988

Autoren:

Dr. rer. nat. Arnd Goppelsröder
Mikrobiologe

Dr. rer. nat. Wolfgang Weber
Apotheker

Dipl.-Ing. Wolfgang Kahn

Mikrobiologische Experimente mit Säurekonzentrat –

ist Säurekonzentrat »autosteril«? (Teil 2)

Angesichts einer angespannteren Finanzsituation im Gesundheitswesen müssen Betreiber von Dialysezentren ihre Betriebskosten schärfer kalkulieren. Konzentrat-Systeme mit Zentralversorgung im Dialysezentrum könnten eine Alternative zu dezentraler Versorgung einzelner Dialysegeräte über Kanister sein. **Aber ist dieses Säurekonzentrat auch »autosteril«?** Mikrobiologische Experimente sollen zeigen, ob sich Mikroorganismen in unverdünntem Säurekonzentrat vermehren können oder sogar gänzlich inaktiviert werden.

Im vorangegangenen Beitrag (*Dialyse aktuell* 4/2003, S. 72 ff) wurde gezeigt, dass Mikroorganismen in unverdünntem Säurekonzentrat nicht wachsen können. Verschiedene Testorganismen wurden sogar inaktiviert. Der Schluss liegt nahe, dass Säurekonzentrat eine Vermehrung vegetativer Zellen nicht zulässt, diese sogar abtötet und bei *Clostridium sporogenes* auch Endosporen zu inaktivieren vermag. Hiermit ist aber noch nicht belegt, dass dieses Medium generell »autosterile« Eigenschaften besitzt.

Es ist uns bisher nicht gelungen, eine Definition des Begriffes »autosteril« zu finden. Sie lässt sich nach unserem Verständnis als die Fähigkeit eines Mediums umschreiben, aufgrund seiner Inhaltsstoffe jede darin suspendierte lebende Zelle oder jedes biologisch aktive Agens (z.B. Viren, Prionen) nach einer gewissen Einwirkzeit dauerhaft zu inaktivieren. Ob dieses für Säurekonzentrat gilt, ist noch nicht genau genug erforscht.

Um der Klärung dieser Frage ein weiteres Stück näher zu kommen, wurden von uns zwei weitere Experimente durchgeführt, die mit minimaler Laborausstattung nachvollziehbar sind und Aufschluss über das Überlebensverhalten von »Schimmelpilzsporen« (eigentlich: »Konidien«) in Säurekonzentrat geben sollen.

Orientierende Experimente

Experiment 1:

Mais Korn große Stücke unbehandelter Komposterde wurden in je einem Röhrchen mit 10 ml unverdünntem Säurekonzentrat für 24 Stunden, drei Tage und drei Wochen bei Raumtemperatur inkubiert. Jeweils drei Kulturröhrchen mit 5 ml einprozentiger, steriler Malzextrakt-Lösung (MEL) wurden mit einem Tropfen Suspension aus den unterschiedlichen Ansätzen beimpft, eine Woche lang bei Raumtemperatur bebrütet und hierbei regelmäßig auf Trübung respektive Myzelwachstum unter dem Stereomikroskop kontrolliert. Als Gegenkontrolle wurde die gleiche Komposterde unbehandelt in MEL bebrütet.

Experiment 2:

Von einer mit einem Schimmelpilz bewachsenen Wandfläche in einer Küche wurden Abrisspräparate hergestellt. Hierzu wurden Streifen klaren Tesafilms mit den Klebseiten auf die bewachsene Wandfläche gedrückt und anschließend wieder abgezogen. Hyphen/Myzel, Konidien und Konidiophoren blieben daran haften und konnten lichtmikroskopisch beurteilt werden. Der Pilzbelag wurde mikroskopisch als *Cladosporium* sp. be-

stimmt, ein Deuteromycet, der häufig im Boden, aber auch auf feuchten Tapeten oder Wandanstrichen zu finden ist und dessen Konidien regelmäßig in Umgebungs- und Raumluft nachgewiesen werden können.

Die mit *Cladosporium* bestückten Klebestreifen wurden in Röhrchen mit unverdünntem Säurekonzentrat gegeben und in jeweils drei Parallelansätzen 24 Stunden, drei Tage sowie drei Wochen lang darin gelagert. Als Kontrolle dienten Abrisspräparate, die drei Wochen lang in 75-prozentigem Alkohol gelagert oder in leeren Röhrchen unbehandelt und trocken aufbewahrt wurden. Zur Auswertung wurden die Streifen in sterile physiologische Kochsalzlösung getaucht und anschließend in steriler einprozentiger Malzextraktlösung eine Woche bei Raumtemperatur bebrütet. Die Kulturansätze wurden regelmäßig auf Myzelwachstum unter dem Stereomikroskop überprüft.

Ergebnisse und Diskussion

Unbehandelte Komposterde wird unter anderem auch von vielen Schimmelpilzen besiedelt. Es ist seit langem bekannt, dass deren Dauer- und Verbreitungsformen, die Konidien, außerordentlich widerstandsfähig gegenüber bestimmten Chemikalien, Austrocknung und unterschiedlichen Strahlungsarten (insbesondere UV) sein können. Dies gilt auch für die Konidien der Gattung *Cladosporium*. Wie in *Tabelle 1* dargestellt, konnten die in Blumenerde enthaltenen Pilze durch Säurekonzentrat innerhalb von drei Wochen nicht vollständig inaktiviert werden. In allen Ansätzen, ausgenommen der unbeimpften Kontrollansätze, entstand ein zartes submerses Myzel.

Ganz anders sah es bei den mit *Cladosporium* bestückten Klebestreifen aus. Hier wurden die anhaftenden Konidien und Pilzhypen nach einem Aufenthalt von mehr als 24 Stunden in Säurekonzentrat vollständig abgetötet. Auf den Klebestreifen des 24-Stunden-Ansatzes in MEL konnte sich dagegen noch an einzelnen Stellen Myzel bilden, während

Tab. 1: Wachstum von Pilzmyzel in einer 1%-Malzextrakt-Lösung (MEL) nach Beimpfung mit unbehandelter Komposterde beziehungsweise mit 1 Tropfen Suspension aus »Erde in Säurekonzentrat-Ansätzen« (n.a. = nicht zutreffend)

Kultur-Röhrchen Nr.	Ansatz (Impfmateriale)	Inkubationsdauer des Impfmateriale in Säurekonzentrat	Wachstum nach 1 Woche Bebrütung in MEL: ja/nein
1-3	Unbehandelte Komposterde (Kontrolle)	0 h	Ja (submers)
4-6	Unbeimpfte MEL-Kontrolle	n.a.	Nein
7-9	Komposterde in Säurekonzentrat	24 h	Ja (submers)
10-12	Komposterde in Säurekonzentrat	3 Tage	Ja (submers)
13-15	Komposterde in Säurekonzentrat	3 Wochen	Ja (submers)

Tab. 2: Wachstum von *Cladosporium* sp. auf Klebestreifen in einer 1%-Malzextrakt-Lösung (MEL) nach trockener Lagerung, Lagerung in 70 %-Alkohol und nach Lagerung in Säurekonzentrat

Kultur-Röhrchen Nr.	Ansatz (Impfmateriale)	Myzelwachstum auf Klebestreifen nach 1 Woche Bebrütung in MEL: ja/nein
1-3	Klebestreifen mit <i>Cladosporium</i> sp. (Kontrolle, trocken gelagert für 3 Wochen)	Ja
4-6	Klebestreifen mit <i>Cladosporium</i> sp. (3 Wochen in 70 % Alkohol)	Nein
7-9	Klebestreifen mit <i>Cladosporium</i> sp. (24 h in Säurekonzentrat)	Ja (schwach, vereinzelte Spots)
10-12	Klebestreifen mit <i>Cladosporium</i> sp. (3 Tage in Säurekonzentrat)	Nein
13-15	Klebestreifen mit <i>Cladosporium</i> sp. (3 Wochen in Säurekonzentrat)	Nein
16-18	Unbeimpfte MEL-Kontrolle	nein

jeder trocken gelagerte Kontrollansatz unter gleichen Bedingungen erwartungsgemäß über die gesamte Fläche zugewachsen war (Tab. 2).

Ein Auskeimen von Konidien mit nachfolgendem Pilzwachstum trotz vorangegangener Säurekonzentrateinwirkung lässt verschiedene Erklärungsansätze zu:

Erklärungsversuch 1:

Konidien wie auch lebensfähige Hyphen könnten nach Einbringen der Proben in das Säurekonzentrat in kleinen Luftbläschen eingeschlossen worden sein, da auf eine Entlüftung unter Teilvakuum verzichtet wurde, um die Eisessigkonzentration in der

Säurekonzentratlösung nicht unkontrolliert zu vermindern. Der direkte Kontakt einiger vermehrungsfähiger Einheiten mit dem fungiziden respektive fungistatischen Säurekonzentrat wurde so kurz- oder langfristig verhindert. Erst als die Luftbläschen nach einer gewissen Zeit ausgeperlt waren, wurden auch noch diese letzten lebensfähigen Zellen erfasst. Der Vorgang dürfte bei Experiment 2 wesentlich schneller erfolgt sein, als bei Experiment 1. Schützende Luftblasen, die in noch nicht verrotteten pflanzlichen Gewebefragmenten der Komposterde zusammen mit Konidien eingeschlossen wurden, waren hier möglicherweise noch bis zum Ende der Behandlung mit Säurekonzentrat erhalten geblieben.

Erklärungsversuch 2:

Ein Pilz, der bei Experiment 1 nach Lagerung in Säurekonzentrat und anschließender Bebrütung in MEL Myzel entwickelte, könnte in der Lage sein, Strukturen auszubilden (möglicherweise Konidien), die einer derartigen Behandlung widerstehen und wesentlich resistenter sind, als die Konidien von *Cladosporium*. Nachweislich ist dieser Pilz aber nicht fähig, direkt in unverdünntem Säurekonzentrat zu wachsen!

Schlussfolgerung

Die in den beiden Beiträgen beschriebenen Versuche haben gezeigt, dass ausgewählte Mikroorganismen in Säurekonzentrat inaktiviert, sowie Bakterien- Hefe- und Schimmelpilzwachstum generell verhindert werden. Aufgrund der in Experiment 1 erhaltenen Resultate bestehen aber noch Zweifel, ob dem Säurekonzentrat grundsätzlich »autosterile« Eigenschaften zugesprochen werden können. Wissenschaftlich betrachtet ist dieses Thema noch nicht erschöpfend bearbeitet. So fehlen weiterhin umfassendere Untersuchungen zum Überlebensverhalten einer breiten Palette typischer Umwelkeime in Säurekonzentrat. Vielleicht wird dieses zukünftig einmal Thema einer Studien- oder Diplomarbeit?

Gleichwohl ist Säurekonzentrat, nach mikrobiologisch-hygienischen Gesichtspunkten, die mit Abstand unproblematischste Dialyseflüssigkeit.

Für die Eigenherstellung von Säurekonzentrat im Dialysezentrum empfiehlt sich als Konsequenz hieraus nach wie vor, peinliche Sauberkeit walten zu lassen. Der als Standort für die Mischanlage oder als Lager für die Salzgebände genutzte Raum sollte trocken, fensterlos und staubfrei, aber dennoch ausreichend belüftbar sein. Alle Oberflächen sollten für Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gut geeignet und zugänglich sein. Boden und Wände sollten im Idealfall gefliest sein. Die am Mischtank arbeitenden Personen müssen bestimmte Hygieneregeln einhalten. Hierzu gehört das Tragen von Einmalhandschuhen, Mundschutz und Kopfhülle sowie eines sauberen Laborkittels, der nur in diesem Raum benutzt wird und auch dort nach Gebrauch wieder abgelegt wird.

Autoren:

Dr. A. Goppelsröder
W. Kahn, Dipl.-Ing.