

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 <i>Coxiella burnetii</i>	2
2.1.1 Q-Fieber und Coxiellose.....	2
2.1.2 Erregereigenschaften und -taxonomie.....	3
2.1.3 Tenazität von Coxiellen	3
2.1.3.1 Tenazität gegenüber physikalischen Einflüssen	4
2.1.3.2 Tenazität gegenüber chemischen Einflüssen	11
2.1.3.3 Unterschiede in der Tenazität der verschiedenen Zellformen von <i>C. burnetii</i>	14
2.1.3.4 Einfluss von Proteinen auf die Tenazität von <i>C. burnetii</i>	16
2.1.4 Empfehlungen zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> -kontaminierten Matrices	18
2.2 Bodendesinfektion.....	20
2.3 Wirksamkeitsprüfungen von Desinfektionsmitteln.....	25
3 MATERIAL UND METHODEN.....	31
3.1 Material	31
3.1.1 Nährmedien, Puffer, Lösungen, Verbrauchsmaterialien und Geräte.....	31
3.1.2 <i>Coxiella burnetii</i> -Stamm	31
3.1.3 BGM-Zellen	31
3.1.4 Desinfektionsmittel	31
3.1.5 Bodenproben	32
3.1.6 Reaktionsgefäß für die Arbeiten mit Bodenproben	32
3.2 Methoden	33
3.2.1 Kulturell-mikrobiologische Untersuchung und Autoklavieren von Bodenproben.....	33
3.2.2 Anzucht und Zählung von BGM-Zellen	34
3.2.3 Färbermethoden	34
3.2.3.1 Trypanblaufärbung	35
3.2.3.2 Giménez-Färbung	35
3.2.3.3 Färbung mit Lysotracker® Red	35
3.2.3.4 Immunfluoreszenzfärbung	35
3.2.4 Mikroskopische Untersuchung von Zellkulturen.....	36
3.2.5 Herstellung von <i>C. burnetii</i> -Suspensionen.....	37
3.2.6 Zellkulturtests zur Bestimmung zytotoxischer Effekte	38
3.2.6.1 Vorbereitung und Durchführung	38
3.2.6.2 Auswertung mittels Hellfeldmikroskopie	40
3.2.6.3 Auswertung der Desinfektionsmittel-bedingten Zellschäden mittels MTT-Test	40
3.2.7 Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Keimzahl in wässrigen Suspensionen	41
3.2.7.1 Bestimmung <i>C. burnetii</i> -Partikelzahl.....	41
3.2.7.2 Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Lebendkeimzahl	41

3.2.8	Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel an <i>C. burnetii</i> -Prüfsuspensionen	43
3.2.8.1	Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> mit und ohne Proteinbelastung.....	43
3.2.8.2	Quantitativer Keimträgerversuch	46
4	ERGEBNISSE.....	49
4.1	Zytotoxische Wirkung der Desinfektionsmittel auf die BGM-Zellen.....	49
4.1.1	Lichtmikroskopische Auswertung	49
4.1.2	Auswertung mittels MTT-Test.....	55
4.1.3	Evaluierung von L-Histidin als Inaktivierungsmittel zur Reduktion der zytotoxischen Wirkung von Formalin	57
4.1.3.1	Lichtmikroskopische Auswertung	58
4.1.3.2	Auswertung mittels MTT-Test.....	59
4.2	Vergleichende Untersuchungen zur Erkennung von <i>C. burnetii</i>-infizierten BGM-Zellkulturen	60
4.3	Bestimmung der Keimzahl der <i>C. burnetii</i>-Prüfsuspension.....	66
4.4	Einfluß von Desinfektionsmitteln in zellverträglichen Konzentrationen auf die Bestimmung der <i>C. burnetii</i>-Lebendkeimzahl	67
4.5	Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> ohne und mit Eiweißbelastung.....	68
4.6	Quantitative Keimträgerversuche an Bodenproben zur Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel gegenüber <i>C. burnetii</i>.....	78
4.6.1	Zytotoxische Wirkung der Bodenbestandteile auf die BGM-Zellen	78
4.6.2	Kulturell-mikrobiologische Untersuchung und Autoklavieren der Bodenproben	80
4.6.3	Rückgewinnung der Coxiellen aus den Bodenproben	81
4.6.4	Quantitative Keimträgerversuche zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> unter Proteinbelastung	83
5	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE.....	88
5.1	Zytotoxizität der Desinfektionsmittel auf BGM-Zellen	88
5.2	Abstoppen der Desinfektionsmittelwirkung.....	90
5.3	Reduktion der Zytotoxizität von Formalin durch L-Histidin	91
5.4	Verfahren zum Nachweis von Coxiellen-infizierten BGM-Zellen.....	91
5.4.1	Lebendkeimzahl der wässrigen <i>C. burnetii</i> -Prüfsuspension und Präzision der Methodik zur Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Lebendkeimzahl	93
5.5	Beeinflussung der Lebendkeimzahlbestimmung durch Desinfektionsmittel in zellverträglichen Konzentrationen	94
5.6	Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i>	95
5.7	Voraussetzungen für die Verwendung von Bodenproben als Keimträger	96
5.7.1	Methodik der Keimträgerversuche an Bodenmatrices	96
5.7.2	Reisolierung der Coxiellen aus den Bodenproben	97
5.8	Quantitativer Keimträgerversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i>.....	99
5.9	Schlussfolgerung und Ausblick.....	101
6	ZUSAMMENFASSUNG	103
7	SUMMARY	105

Inhaltsverzeichnis

III

8	LITERATURVERZEICHNIS.....	107
ANHANG		116
DANKSAGUNG		124