



Bundesamt
für Bevölkerungsschutz
und Katastrophenhilfe

Untersuchung zur Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln

für den Einsatz in biologischen Gefahrenlagen



Forschung im
Bevölkerungsschutz

Band 24

Forschung im
Bevölkerungsschutz

Band 24



Bundesamt
für Bevölkerungsschutz
und Katastrophenhilfe

Untersuchung zur Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln

für den Einsatz in biologischen Gefahrenlagen

Robert Koch-Institut

BBK-Projekt-Nr. BBK III.1-413-20-10-412, November 2019

BBK-Projekt-Nr. BBK III.2-618-03-42

Forschung im Bevölkerungsschutz

Autoren:

Dr. rer. nat. Stefanie Papp, Katharina Kimmerl, Jacob Gatz,

Prof. Dr. med. Roland Grunow, Dr. rer. nat. Oliver Kaspari



BBK. Gemeinsam handeln. Sicher leben.

Herausgeber

Bundesamt für Bevölkerungsschutz
und Katastrophenhilfe
Postfach 18 67, 53008 Bonn
Tel. +49 (0)228 99 550-0
Fax +49 (0)228 99 550-1620
www.bbk.bund.de

Layout, Satz, Druck

Druck- und Verlagshaus Zarbock GmbH & Co. KG
60386 Frankfurt am Main

Bildnachweis

Andrea Schnartendorff: Titelseite
Carina Jahnke: Titelseite, Seite 36, Seite 51
Stefanie Papp: Seite 36

© 2020 Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe
ISBN-13: 978-3-939347-96-5

Dieser Bericht ist vom Forschungsnehmer im Rahmen des Projektes „Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittelgranulaten für die Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung unter Feldbedingungen – GranPSA“ (BBK-Projekt-Nr. BBK III.1-413-20-10-412) und „Auftrag zur Untersuchung von Desinfektionsmittelgranulaten im Tauchverfahren an Einsatzmaterialien der Feuerwehr und an ausgesuchten sporenbildenden Bakterien – GranuTa“ (BBK-Projekt-Nr. BBK III.2-618-03-42) erstellt worden. Die Verantwortung für den Inhalt liegt allein bei den Autorinnen und Autoren. Insbesondere gibt dieser Bericht die Meinung und Auffassung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung

des Bundesamtes für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe übereinstimmen.

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist nur in den Grenzen des geltenden Urheberrechtsgesetzes erlaubt. Zitate sind bei vollständigem Quellenverweis jedoch ausdrücklich erwünscht.

Dieses Werk darf ausschließlich kostenlos abgegeben werden. Weitere Exemplare dieses Buches oder anderer Publikationen des Bundesamtes für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe können Sie gerne beim Herausgeber kostenfrei anfordern.

Inhalt

| | |
|---|-----------|
| Zusammenfassung | 7 |
| Abstract | 11 |
| 1. Übergeordnete Zielsetzung | 15 |
| 1.1 Vorarbeiten des Robert Koch-Instituts | 18 |
| 1.2 Einzelzielsetzung | 19 |
| 1.2.1 Einzelzielsetzung GranPSA | 19 |
| 1.2.2 Einzelzielsetzung GranuTa | 20 |
| 1.2.3 Zusätzliche Einzelzielsetzung | 20 |
| 1.3 Nutzen des Vorhabens | 22 |
| 2. Versuchseinrichtung | 23 |
| 3. Durchgeführte Arbeiten | 25 |
| Verwendete Materialien | 26 |
| 3.1 Verwendete Methoden Projekt GranPSA | 33 |
| 3.1.1 Identifikation von auf PSA sporiziden Desinfektionsmitteln | 36 |
| 3.1.2 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen | 37 |
| 3.1.3 Wirksamkeitsanalyse bei Verschmutzung und unterschiedlichen Temperaturen | 38 |
| 3.2 Verwendete Methoden Projekt GranuTa | 41 |
| 3.2.1 Anpassung und Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“ | 41 |
| 3.2.2 Identifikation von im Tauchverfahren sporiziden Desinfektionsmitteln | 49 |
| 3.2.3 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen | 52 |
| 3.2.4 Wirksamkeitsanalysen bei unterschiedlichen Temperaturen | 52 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 3.3 | Zusätzliche Untersuchungen | 54 |
| 3.3.1 | <i>Bestimmung von Wirkstoffkonzentrationen und Haltbarkeit</i> | 54 |
| 3.3.2 | <i>Verträglichkeit der Desinfektionsmittel für Umwelt, Mensch und Material</i> | 55 |
| 4. | Ergebnisse und Bewertung | 57 |
| 4.1 | Ergebnisse und Bewertung Projekt GranPSA | 61 |
| 4.1.1 | <i>Identifikation von auf PSA sporiziden Desinfektionsmitteln</i> | 61 |
| 4.1.2 | <i>Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen</i> | 73 |
| 4.1.3 | <i>Wirksamkeitsanalyse bei Verschmutzung und unterschiedlichen Temperaturen</i> | 80 |
| 4.2 | Ergebnisse und Bewertung Projekt GranuTa | 91 |
| 4.2.1 | <i>Anpassung und Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“</i> | 91 |
| 4.2.2 | <i>Identifikation von im Tauchverfahren sporiziden Desinfektionsmitteln</i> | 98 |
| 4.2.3 | <i>Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen</i> | 104 |
| 4.2.4 | <i>Wirksamkeitsanalysen bei unterschiedlichen Temperaturen</i> | 106 |
| 4.3 | Zusätzliche Untersuchungen | 109 |
| 4.3.1 | <i>Bestimmung der Wirkstoffkonzentrationen und Haltbarkeit</i> | 109 |
| 4.3.2 | <i>Verträglichkeit der Desinfektionsmittel für Umwelt, Mensch und Material</i> | 111 |
| 5. | Abschließende Bewertung und Empfehlung | 117 |
| 6. | Danksagung | 123 |
| 7. | Anhang | 125 |
| | Literatur | 126 |
| | Abkürzungsverzeichnis | 131 |
| 8. | Bisherige Publikationen | 133 |

Zusammenfassung





Eine schnelle, effektive und sichere Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung (PSA) und Einsatzmaterialien ist für die Sicherheit von Einsatzkräften in biologischen Gefahren von entscheidender Bedeutung. Desinfektionsmittel, die hier zum Einsatz kommen, sollten hochpathogene Mikroorganismen und Toxine zuverlässig inaktivieren. Um eine erfolgreiche Desinfektion zu gewährleisten, muss ein Desinfektionsmittel folgende Anforderungen erfüllen: hohe Inaktivierungsrate, kurze Einwirkzeit sowie Material- und Umweltverträglichkeit. Derzeit wird das Desinfektionsmittel Wofasteril® (Kesla Hygiene AG) (2 % Peressigsäure, versetzt mit 0,2 % Tensid) von den Einsatzkräften in Deutschland zur Desinfektion in biologischen Gefahrenlagen eingesetzt. Obgleich dieses Produkt bei der Anwendung sehr wirksam gegenüber Mikroorganismen und auch bakteriellen Sporen ist, so hat seine Verwendung mehrere Nachteile, wie z. B. Reizungen der Atemwege, Lagerungs- und Transporteinschränkungen und Materialkorrosion.

Ziel der beiden hier vorgestellten Projekte war es daher, verschiedene Desinfektionsmittel praxisnah auf ihre Einsetzbarkeit zur Desinfektion in biologischen Gefahrenlagen zu überprüfen, um das aktuell in Deutschland eingesetzte Desinfektionsverfahren zu verbessern. Der Fokus lag hierbei auf der Überprüfung von Desinfektionsmittelgranulaten, da angenommen wurde, dass diese Vorteile in Bezug auf die Risiken für den Anwender, Lagerung, Transport und Materialverträglichkeit aufweisen könnten. Das Projekt GranPSA zielte dabei auf eine Überprüfung der Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittelgranulaten für die Desinfektion von PSA durch eine Scheuer-Wisch-Desinfektion ab. Im Projekt GranuTa sollten diese Desinfektionsmittel zusätzlich auf ihre Einsetzbarkeit für eine Tauchbaddesinfektion von Einsatzmaterialien (Asservat-Behälter) überprüft werden. Die hierfür ausgewählten Desinfektionsmittel lassen sich auf Basis ihrer Wirkstoffe in folgende drei Gruppen unterteilen: Chlor-basierte, Peressigsäure-basierte und Aktivsauerstoff-basierte Produkte. Eine Kontamination des PSA- bzw. des Asservat-Behälter-Materials wurde mit Sporen verschiedener *Bacillus*-Spezies der Risikogruppen 1, 2 und 3 simuliert. Ein Desinfektionsmittel galt als wirksam, wenn eine Reduktion lebensfähiger Sporen von mindesten 5 \log_{10} -Stufen nachgewiesen werden konnte. Da Temperaturschwankungen und auch Verschmutzungen der PSA bzw. Asservat-Behälter einen Einfluss auf die Desinfektionsmittelwirksamkeit haben können, wurden auch diese Parameter in den Untersuchungen berücksichtigt.

Projekt GranPSA

Die Untersuchungen im Projekt GranPSA erfolgten unter Verwendung des standardisierten Prüfverfahrens „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012). Insgesamt wurde die Wirksamkeit von neun Desinfektionsmittelgranulaten und einem flüssigen Peressigsäure-Präparat gegenüber *Bacillus*-Sporen überprüft. Die Untersuchung erfolgte auf den PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2 bei kurzen Desinfektionszeiten von 1 bis maximal 10 Minuten.

Im durchgeführten Projekt erwiesen sich zwei der zehn überprüften Desinfektionsmittel als vielversprechend wirksam gegenüber *Bacillus*-Sporen auf den untersuchten PSA-Materialien. Dazu zählte das Chlor abspaltende Granulat Hypochlorit-CA G (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH) sowie das flüssige Peressigsäure-basierte Wofasteril® SC super (Kesla Hygiene AG). So reduzierte eine Gebrauchslösung Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® mit einem Anteil von 1,5 % Chlor lebensfähige *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2 um $> 5 \log_{10}$ -Stufen innerhalb von 5 Minuten. Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Temperaturen auf die Wirksamkeit des Granulats ergab zudem eine Wirksamkeit auch bei -20 °C und $+35\text{ °C}$ gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Eine ausreichende Reduktion der Sporenzahl von mindestens $5 \log_{10}$ -Stufen konnte jedoch für die stabilen und hochpathogenen Risikogruppe-3-*B. anthracis*-Stämme auch mit 2,5 % Chlor nicht zuverlässig erreicht werden.

Wofasteril® SC super erwies sich ebenfalls als ein potenziell geeignetes Mittel zur Desinfektion von PSA. So konnten mit einer Anwendungslösung von Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® lebensfähige *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 bis 3 auch bei Verschmutzung (simuliert durch bovines Serumalbumin) der PSA um $> 5 \log_{10}$ -Stufen innerhalb von 5 Minuten reduziert werden. Um eine ausreichende Wirksamkeit auch bei geringen Temperaturen zu gewährleisten, war jedoch eine Erhöhung der Peressigsäure-Konzentration auf 2,75 % bei 4 °C und zusätzlich eine verlängerte Einwirkzeit von 10 Minuten bei -20 °C notwendig. Bei Temperaturen von 35 °C blieb die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten unverändert stabil.

Projekt GranuTa

Die Überprüfung ausgewählter Desinfektionsmittel im Projekt GranuTa erfolgte unter Verwendung eines standardisierten Prüfverfahrens, welches im Projekt in Anlehnung an das Prüfverfahren „Modell 1 Tauchverfahren“ (Lemmer et al., 2012)

entwickelt und etabliert wurde. Insgesamt wurde die Wirksamkeit von elf Desinfektionsmittelgranulaten und einem flüssigen Peressigsäure-Präparat gegenüber *Bacillus*-Sporen untersucht. Die Überprüfung erfolgte anhand einer simulierten Kontamination des Asservat-Behälter-Materials „DEBASAFE™ Medical Transportaschen“ (Anton Debatin GmbH) bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten.

In den in diesem Projekt durchgeführten Untersuchungen erwies sich eines der zwölf eingehender überprüften Desinfektionsmittel im Tauchbad als ausreichend wirksam gegenüber *Bacillus*-Sporen. Eine Gebrauchslösung des Chlor-basierten Produktes Mini Haz-Tabs (0,756 % bzw. 1,0 % Chlor)/0,5 % Alcapur® zeigte dabei die beste Wirkung. Die Wirksamkeit war darüber hinaus auch bei veränderten Bedingungen wie schwankender Umgebungstemperatur zwischen 4 °C und 35 °C sowie Verschmutzung des Asservat-Behälter-Materials stabil. Sowohl aus der Gruppe der Peressigsäure-basierten als auch der Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittel konnte keines der Produkte als ausreichend wirksam bei allen untersuchten Parametern eingestuft werden. So zeigten die Desinfektionsmittel Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active zwar ausreichende Wirksamkeit gegenüber hochpathogenen *B. anthracis*-11/38-Sporen, jedoch war die Wirksamkeit bei niedriger Temperatur von 4 °C nicht mehr gewährleistet.

In Rahmen der beiden hier vorgestellten Projekte erwiesen sich demnach drei Desinfektionsmittel als potenziell geeignet für die Desinfektion von PSA bzw. Asservat-Behältern bei Kontamination mit *Bacillus*-Sporen. Diese Desinfektionsmittel sind vielversprechende Alternativen zu dem aktuell eingesetzten Wofasteril® für die Desinfektion in biologischen Gefahrenlagen. Weiterführende Untersuchungen sind jedoch notwendig, um diese uneingeschränkt auch bei Freisetzung von zunächst unbekanntem Agenzien (Bakterien, Viren oder Toxinen) einsetzen zu können.



Abstract

Fast, effective and safe disinfection of personal protective equipment (PPE) and materials is of crucial importance for the safety of emergency personnel exposed in biological hazards. Disinfectants used in such incidents should reliably inactivate highly pathogenic microorganisms and toxins. In order to ensure successful disinfection, a disinfectant must meet the following requirements: high inactivation rate, short exposure time as well as material and environmental compatibility. The disinfectant Wofasteril® (Kesla Hygiene AG) (2 % peracetic acid in combination with 0.2 % surfactant) is currently used by emergency services in Germany for the disinfection in biological risk situations. Although this product is very effective against microorganisms and even bacterial spores, its application has several disadvantages, such as irritation of the respiratory tract, storage and transportation restriction and material corrosion.

The aims of the two projects presented here were to test different disinfectants for their suitability for disinfection in biological risk situations in order to improve the disinfection process currently used in Germany. The focus was on the testing of solid disinfectants (granulates), as it was assumed that these had advantages in terms of risks for the use, storage, transport and material compatibility. The project GranPSA aimed at investigating the applicability of disinfectant granulates for the disinfection of PPE by a surface disinfection procedure. In the project GranuTa these disinfectants were also analyzed for their suitability for the suspension disinfection of contaminated equipment (evidence container material). Three groups of disinfectants were used for this purpose: chlorine-based, peracetic acid-based and oxygen-based products. Contamination of the PPE or evidence bag material was simulated by using spores of different *Bacillus* species of risk group 1, 2 and 3. A disinfectant was considered effective if a reduction of viable spores by at least 5 log₁₀ levels could be achieved. Since temperature fluctuation and organic contamination of materials can have an influence on the disinfection efficacy, these parameters were also addressed in these studies.

Project GranPSA

The investigation in the project GranPSA was carried out using the standardized procedure „Model 3 covering with mechanical action“ (Lemmer et al., 2012). In

total, the efficacy of nine disinfectant granulates and one liquid peracetic acid product was tested against *Bacillus* spores. Analyses were performed on the PPE materials TESIMAX® S 3 PE-T and TESIMAX® SYKAN 2 with short disinfection times of 1 to a maximum of 10 minutes.

In the project, two of the ten tested disinfectants proved to be very effective against *Bacillus* spores on PPE materials. These included the chlorine-based granulate Hypochlorit-CA G (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH) and the liquid peracetic acid-based Wofasteril® SC super (Kesla Hygiene AG). Thus, a working solution of Hypochlorite-CA G (1.5 % chlorine)/0.5 % Alcapur® reduced viable *Bacillus* spores of risk groups 1 and 2 by $> 5 \log_{10}$ - levels within 5 minutes. Interestingly temperature variation between -20 °C and $+35\text{ °C}$ had no impact on the efficacy against *B. thuringiensis*-DSM-350 spores. However, a sufficient reduction of viable spores of at least $5 \log_{10}$ levels could not be reliably achieved for the highly pathogenic risk group 3 *B. anthracis* strains, even when using 2.5 % free chlorine.

A working solution of Wofasteril® SC super (1.75 % peracetic acid)/1.5 % Alcapur® also showed high inactivation rates on PPE. Thus, viable *Bacillus* spores of risk groups 1 and 2 as well as highly pathogenic strains could be reduced by $> 5 \log$ levels within 5 minutes, even in case of analyzing BSA (bovine serum albumin) contaminated PPE. To ensure sufficient efficacy even at low temperatures, however, it was necessary to increase the peracetic acid concentration to 2.75 % at 4 °C and additionally to extend the disinfection time to 10 minutes at -20 °C . At temperatures of 35 °C , efficacy of Wofasteril® SC super (1.75 % peracetic acid)/1.5 % Alcapur® was maintained at an exposure time of 5 minutes.

Project GranuTa

The analyses of selected disinfectants in the project GranuTa was carried out using a standardized procedure which was established on the basis of the method „Model 1 submersion“ (Lemmer et al., 2012). In total, the efficacy of eleven disinfectant granulates and one liquid peracetic acid product was investigated against *Bacillus* spores. Analyses were performed using the evidence container material „DEBASAFE™ Medical transport bags“ (Anton Debatin GmbH) with an exposure time of 10 minutes. As analyses of this project revealed, only one of the twelve tested disinfectants were sufficiently effective against *Bacillus* spores in the submersion disinfection procedure. A working solution the chlorine-based Mini Haz-Tabs (0,756 % and 1.0 % Chlorine)/2 % Alcapur® showed sufficient efficacy. In addition, spore inactivation was stable even under temperature variations between 4 °C and 35 °C and BSA contamination of evidence container. Interestingly, none

of the peracetic acid-based or oxygen-based disinfectants could be classified as sufficiently effective for all parameters investigated. Although the disinfectants Sekusept™ aktiv and Incidin™ Active showed sufficient efficacy against highly pathogenic *B. anthracis* 11/38 spores, efficacy was impaired when temperature was decreased to 4 °C.

Within the scope of the two projects, three disinfectants proved to be potentially suitable for the decontamination of PPE or evidence containers. These disinfectants would therefore be promising alternatives to the currently used Wofasteril® for disinfection in biological risk situations when with known spore contamination is known. However, further investigations are necessary for an unrestricted application, especially when the released agent is unknown (bacteria, viruses or toxins).

Übergeordnete Zielsetzung

1



Das Management von biologischen Gefahrenlagen, bei denen hochpathogene Bakterien, Viren oder Toxine freigesetzt werden, birgt ein hohes Risiko einer Infektion oder Vergiftung bei Einsatzkräften und Zivilisten (Jansen et al., 2014, Barras and Greub, 2014). Neben Unfällen sind auch natürlich auftretende Gefahren wie Ausbrüche von Infektionskrankheiten und die absichtliche Freisetzung biologischer Agenzien von zentraler Bedeutung für die öffentliche Gesundheit. So kam es beispielsweise in Stendal im Jahr 2012 zu einem Anthrax-Ausbruch bei Rindern (Friedrich-Loeffler-Institut, 2015). Aufgrund der aktuellen Weltsicherheitslage steigt zudem die Gefahr eines Terroranschlags auch in Deutschland stark an. Das jüngste Ereignis im Jahr 2018, bei dem das Toxin Rizin in einer Kölner Wohnung hergestellt wurde, verdeutlicht dieses Gefahrenpotenzial. Einsatzkräfte sind in diesen Situationen, wie beispielsweise beim Auffinden, Sichern und Räumen von Räumlichkeiten, welche für die Herstellung von biologischen Agenzien zu terroristischen Zwecken genutzt wurden, gegenüber hochpathogenen Erregern und Toxinen exponiert. Neben dem Tragen einer adäquaten Persönlichen Schutzausrüstung (PSA) ist eine sichere Desinfektion in diesen Situationen unerlässlich, um Infektionen und Vergiftungen involvierter Personen zu verhindern. Die hier eingesetzten Desinfektionsmittel und -methoden müssen hohen Anforderungen gerecht werden, um Einsatzkräfte und deren PSA sowie Einsatzmaterialien und -geräte schnell und sicher zu dekontaminieren. Aktuell wird in Deutschland eine Lösung aus 2 % Peressigsäure/0,2 % Tensid (Wofasteril®, Kesla Hygiene AG) für diesen Zweck durch das Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe (BBK) und das Robert Koch-Institut (RKI) empfohlen (Robert Koch-Institut, 2013). Personen und ihre PSA werden über eine Scheuer-Wisch-Desinfektion (Oberflächendesinfektion) in Dekontaminationszelten desinfiziert. Die Desinfektion von Einsatzmaterialien erfolgt für 10 Minuten in einem Tauchbad.

Hochpathogene und umweltstabile sporenbildende Bakterien stellen dabei nicht nur eine besondere Gefahr für die öffentliche Gesundheit, sondern auch eine Herausforderung für die erfolgreiche Desinfektion dar. Die Sporenbildung ist ein Charakteristikum der grampositiven *Bacillus*- und *Clostridium*-Arten (Setlow, 2019, Setlow, 2014). Diese Dauerformen überleben Umgebungen mit extremen Temperaturen, niedrigem Nährstoffangebot sowie chemische Behandlung und UV-Strahlung. Daher müssen Desinfektionsmittel, die in Szenarien biologischer Bedrohungen mit bakteriellen Sporen eingesetzt werden, spezifische Anforderungen erfüllen.

Dazu zählen hohe Inaktivierungsraten bei kurzer Expositionszeit sowie ausreichende Material- und Umweltverträglichkeit (Lemmer et al., 2017, Nattermann et al., 2005, Buhr et al., 2013, Buhr et al., 2012). Darüber hinaus ist ein kostengünstiges und einfach zu verwendendes Produkt mit minimalen Lager- und Transportbeschränkungen von großem Interesse. Die aktuell in Deutschland eingesetzte Lösung aus 2 % Peressigsäure/0,2 % Tensid erwies sich als sehr effizient gegenüber *Bacillus*-Sporen und dem Toxin Rizin (Lemmer et al., 2017, Lemmer et al., 2012). Obgleich Peressigsäure eine hohe Wirksamkeit gegenüber Mikroorganismen und auch bakteriellen Sporen aufweist und es für den Anwender weniger toxisch ist als andere Desinfektionsmittel wie Natriumhypochlorit und Formaldehyd, so hat seine Verwendung verschiedene Nachteile (Kesla Hygiene AG, 2019b, Rutala, 2008, United States Environmental Protection Agency (EPA), 2008). Neben dem stechenden Geruch kann die Anwendung zu Reizungen der Atemwege, der Augen und der Haut führen, auch wenn nur geringe Konzentrationen zum Einsatz kommen. Hinzu kommen Materialunverträglichkeiten, bei der Peressigsäure Kupfer, Bronze, Messing und unlegierten Stahl korrodiert. Darüber hinaus unterliegt Peressigsäure als Gefahrgut (organisches Peroxid und ätzender Stoff) Lagerungs- und Transportbestimmungen, die beispielsweise einen Lufttransport untersagen.

Ziel der hier vorgestellten Projekte war es daher, das Desinfektionsverfahren zu verbessern, indem alternative Produkte getestet werden, um die Nachteile, die mit einer Verwendung von Peressigsäure (Wofasteril®) einhergehen, zu minimieren. Der Fokus lag hierbei auf der Überprüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmittelgranulaten gegenüber hochpathogenen *Bacillus*-Sporen auf kontaminierter PSA sowie Einsatzmaterialien, die in biologischen Gefahrenlagen Einsatz finden.

In einem vorangegangenen, ebenfalls durch das BBK geförderten Projekt wurden bereits umfangreiche Vorarbeiten am RKI durch das Zentrum für biologische Gefahren und Spezielle Pathogene – Hochpathogene mikrobielle Erreger (ZBS 2) zu dieser Thematik durchgeführt. Dieses Projekt steht im unmittelbaren Zusammenhang zu den hier vorliegenden Studien. In der Untersuchung zur „Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung; Methodenentwicklung zur standardisierten Untersuchung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Oberflächen der Persönlichen Schutzausrüstung gegen Sporen, Viren und Toxine unter praxisnahen Bedingungen und Anwendung der Untersuchungsmethoden am Beispiel von Peressigsäure“ (Lemmer et al., 2017, Lemmer et al., 2012) wurden drei Prüfmethoden entwickelt, um die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf PSA sowie im Tauchbad standardisiert zu überprüfen. Die etablierten Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ sowie „Modell 1 Tauchverfahren“ erlauben dabei eine standardisierte Wirksamkeitsanalyse verschiedenster Desinfektionsmittel gegenüber biologischen Agenzien auf PSA und Einsatzmaterialien.

Auf Basis dieser umfangreichen Vorarbeiten wurden zwei Folgeprojekte initiiert, in denen der Fokus auf der Überprüfung der Einsatzbarkeit von Desinfektionsmittelgranulaten für die Desinfektion von PSA sowie von Einsatzmaterialien in biologischen Gefahrenlagen lag.

Ziel der beiden hier vorgestellten Projekte war es, Desinfektionsmittel auf ihre Wirksamkeit und damit Einsetzbarkeit für die Desinfektion in biologischen Gefahrenlagen zu untersuchen. Dabei sollte deren Wirksamkeit speziell gegenüber widerstandsfähigen bakteriellen Sporen der Gattung *Bacillus* durch Simulation der Felddesinfektion im kleinen Labormaßstab praxisnah analysiert werden. Aus dieser Aufgabenstellung ergaben sich die folgenden zwei Projekte:

1. **GranPSA** – Überprüfung der Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittel**Granu**laten für die Desinfektion von **Persönlicher SchutzAusrüstung** durch eine Scheuer-Wisch-Desinfektion (Oberflächendesinfektion)
2. **GranuTa** – Überprüfung der Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittel**Granula**ten für die Desinfektion von Einsatzmaterialien durch eine **Tauchbadesinfek**tion (Suspensionsdesinfektion)

1.2.1 Einzelzielsetzung GranPSA

Für dieses Projekt erfolgte vor Projektbeginn eine Festlegung von Einzelzielsetzungen. Diese sollten zielführend eine Überprüfung der Wirksamkeit ausgewählter Desinfektionsmittel im Oberflächendesinfektionsverfahren ermöglichen. Mittels eines standardisierten Prüfverfahrens sollten hierbei artifiziell mit *Bacillus*-Sporen kontaminierte PSA-Materialien praxisnah mit ausgewählten Produkten desinfiziert und deren Wirksamkeit quantitativ ermittelt werden. Folgende Einzelzielsetzungen wurden definiert:

1. **Identifikation von auf PSA sporiziden Desinfektionsmitteln**
Ermitteln geeigneter, gegen *Bacillus*-Sporen wirksamer Desinfektionsmittel, die im Oberflächendesinfektionsverfahren eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von mindestens 5 \log_{10} -Stufen erzielen.
2. **Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen**
Ermittlung der am besten geeigneten Konzentration und nötigen Einwirkzeit für jedes zu testende Desinfektionsmittel, um eine ausreichende Wirkung gegenüber Sporen zu erzielen.

3. Wirksamkeitsanalyse bei Verschmutzung und unterschiedlichen Temperaturen

Überprüfung der als ausreichend sporizid getesteten Desinfektionsmittel bei Verschmutzung der PSA und unterschiedlichen Temperaturen.

1.2.2 Einzelzielsetzung GranuTa

Für dieses Projekt wurden vor Projektbeginn Einzelzielsetzungen festgelegt, die zielführend eine Überprüfung der Wirksamkeit ausgewählter Desinfektionsmittel im Tauchbad ermöglichen sollten. Mittels eines standardisierten Prüfverfahrens sollten hierbei artifiziiell mit *Bacillus*-Sporen kontaminierte Beweismittelbehälter praxisnah mit ausgewählten Desinfektionsmitteln desinfiziert und deren Wirksamkeit quantitativ ermittelt werden. Folgende Einzelzielsetzungen wurden definiert:

1. Anpassung und Re-Etablierung des Tauchverfahrens

Anpassung und Re-Etablierung des Tauchverfahrens nach Lemmer et al. (2012), um die Wirksamkeit der zu testenden Desinfektionsmittelgranulate zu überprüfen.

2. Identifikation von im Tauchverfahren sporiziden Desinfektionsmitteln

Identifikation wirksamer Desinfektionsmittel, die im Tauchverfahren eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von mindestens 5 \log_{10} -Stufen erzielen.

3. Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen

Ermittlung der am besten geeigneten Konzentration für jedes zu testende Desinfektionsmittel, um eine ausreichende Wirkung gegenüber Sporen zu erzielen.

4. Wirksamkeitsanalyse bei unterschiedlichen Temperaturen

Wirksamkeitsanalyse der als ausreichend sporizid getesteten Desinfektionsmittel bei unterschiedlichen Temperaturen.

1.2.3 Zusätzliche Einzelzielsetzung

1. Bestimmung der Wirkstoffkonzentrationen und Haltbarkeit

Ermitteln der Konzentration von Chlor und Peressigsäure ausgewählter gegen Sporen wirksamer Desinfektionsmittel und deren Haltbarkeit über die Zeit.

2. **Verträglichkeit der Desinfektionsmittel für Umwelt, Mensch und Material**
Recherche zur Verträglichkeit ausgewählter sporizid wirksamer Desinfektionsmittel für Umwelt, Material und Mensch sowie Testung der Geruchsbelastung für den Anwender.

Aktuell wird von den Einsatzkräften in Deutschland Wofasteril® (Firma Kesla Hygiene AG) in einer Gebrauchslösung mit 2 % Peressigsäure und 0,2 % Tensid für die Desinfektion von PSA sowie Einsatzmaterialien verwendet. Obgleich dieses Desinfektionsmittel eine sehr gute Wirksamkeit gegenüber bakteriellen Sporen, Viren und Toxinen aufweist (Nattermann et al., 2005, Lemmer et al., 2017, Lemmer et al., 2012), so ist seine Verwendung auch mit Nachteilen wie Atemwegsreizungen, Materialkorrosion, Lagerung und Transport verbunden. Im Rahmen der beiden Projekte „GranPSA“ und „GranuTa“ sollten daher alternative, schnell und zuverlässig wirksame Desinfektionsmittel für die Desinfektion unter Feldbedingungen gefunden werden. Grundsätzlich stehen eine Vielzahl von Desinfektionsmitteln in Deutschland zur Auswahl, die eine Inaktivierung von Bakterien und Viren unter bestimmten Bedingungen ermöglichen (D'Amelio et al., 2015, Robert Koch-Institut, 2017, Robert Koch-Institut, 2018, Verbund für Angewandte Hygiene e. V., 2019). Im Besonderen war jedoch die Wirksamkeit gegenüber widerstandsfähigen bakteriellen Sporen für die spezielle Anwendung in biologischen Gefahrenlagen eine Voraussetzung. Darüber hinaus sollten die zu untersuchenden Desinfektionsmittel als Granulat erhältlich sein. Dies würde eine einfache Lagerung und einfachen Transport sowie im Einsatzfall ein schnelles Ansetzen der Lösung ermöglichen. Ein weiteres Kriterium ist eine verlässliche Desinfektion am Einsatzort bei möglichst geringem Risiko für den Anwender und guter Umweltverträglichkeit. Auf diese Weise sollte eine Alternative zum aktuell verwendeten Wofasteril® (2 % Peressigsäure/0,2 % Tensid) gefunden werden, die nicht dessen Nachteile aufweist. Ein solches Desinfektionsmittel ist unerlässlich für den Einsatz in biologischen Gefahrenlagen, in denen Einsatzkräfte mit infektiösen und toxischen Materialien in Kontakt kommen können.

Versuchseinrichtung

2



Die Überprüfung der Wirksamkeit der unterschiedlichen Desinfektionsmittel erfolgte gegenüber Sporen verschiedener *Bacillus*-Spezies der Risikogruppen 1, 2 und 3. Die für diese Arbeiten erforderlichen Labore der Sicherheitsstufen(S) 2 und 3 wurden vom RKI bereitgestellt. Es standen für die Untersuchungen mikrobiologische Sicherheitswerkbänke der Klasse 2 sowie alle notwendigen Apparaturen, Brut- und Klimaschränke zur Verfügung.

Durchgeführte Arbeiten

3



Verwendete Materialien

Desinfektionsmittel. In den zwei Projekten wurden kommerziell erhältliche Desinfektionsmittelgranulate sowie ein flüssiges Peressigsäure-Präparat auf ihre Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen untersucht (Tabelle 1). Auf Basis ihrer Wirkstoffe lassen sich diese Produkte wie folgt unterscheiden: Chlor-basiert, Peressigsäure-basiert und Aktivsauerstoff-basiert. Die Gebrauchslösungen der Desinfektionsmittel wurden stets unmittelbar vor der Verwendung in sterilem doppelt destilliertem Wasser (ddH₂O) und maximal 1 Stunde vor Verwendung angesetzt. Dabei orientierten sich die Gebrauchslösungen zunächst an den Angaben der Hersteller (Tabelle 2) bzw. der RKI- (Robert Koch-Institut, 2017, Robert Koch-Institut, 2018) oder VAH-Desinfektionsmittelliste (Verbund für Angewandte Hygiene e. V., 2019). Darüber hinaus wurden von den Herstellerangaben abweichende Wirkstoffkonzentrationen überprüft, mit dem Ziel, die Wirksamkeit gegenüber bakteriellen Sporen im Oberflächendesinfektionsverfahren bzw. bei der Tauchbadesinfektion zu verbessern. Die hier untersuchten Desinfektionsmittel sind nach Herstellerangaben für folgende Einsatzbereiche vorgesehen bzw. validiert:

Tabelle 1: Liste der untersuchten Desinfektionsmittel, deren Wirkstoffe und Hersteller

| Wirkstoffbasis | Desinfektionsmittel | Wirkstoff | Hersteller |
|--------------------------------|-----------------------------------|--|--|
| Chlor-basiert | Hypochlorit-Ca G | 70 % Calciumhypochlorit | Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH (Haan) |
| | Chlorifix® | > 98 % Natriumdichlorisocyanurat dihydrat | Bayrol Deutschland GmbH (Planegg-Steinkirchen) |
| | Halamid® | > 98 % Chloramin T Trihydrat | Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH (Ottensheim) |
| | Mini Haz-Tabs ² | 30–60 % Natriumdichlorisocyanurat | Guest Medical Limited (Kent, United Kingdom) |
| Peressigsäure-basiert | Wofasteril® SC super ¹ | 11–15 % Peressigsäure | Kesla Hygiene AG (Bitterfeld-Wolfen) |
| | Wofasteril® ¹ | 40–45 % Peressigsäure | Kesla Hygiene AG (Bitterfeld-Wolfen) |
| | Sekusept™ aktiv | ≥ 40–45 % Natriumpercarbonat | Ecolab Deutschland GmbH (Mohnheim) |
| | neodisher® endo DIS active | ≥ 25–50 % Natriumcarbonat-Peroxyhydrat | Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG (Hamburg) |
| | Incidin™ Active ² | ≥ 30–50 % Natriumpercarbonat | Ecolab Deutschland GmbH (Mohnheim) |
| Aktivsauerstoff-basiert | Dismozon® plus | ≥ 90–100 % Magnesiummonoperoxyphthalat Hexahydrat | Bode Chemie GmbH (Hamburg) |
| | Perform® | 45 % Pentakaliumbis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) | Schülke & Mayr GmbH (Norderstedt) |
| | Virkon® S | 30–50 % Pentakaliumbis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) | Antec International Limited (Sudbury, UK) |
| | Descogen®-I | 60 g/100g Pentakaliumbis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) | Antiseptica Dr. H.-J. Molitor GmbH (Pulheim/Brauweiler) |

¹ kein Granulat² nur im Projekt GranuTa untersucht

Peressigsäure-basierte Desinfektionsmittel

Wofasteril® SC super ist für die Desinfektion von Oberflächen, Einrichtungen und Geräten in der Tierhaltung, zur Klauen- und Melkzeug-Zwischendesinfektion, im Lebensmittelbereich sowie in Krankenhäusern und ärztlichen Praxen einsetzbar (Kesla Hygiene AG, 2019a).

Die Granulate Sekusept™ aktiv (Ecolab Healthcare Europe, 2018) und neodisher® endo DIS active (Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, 2017) werden üblicherweise für die Reinigung und Desinfektion von medizinischen Instrumenten (Eintauchdesinfektion) verwendet. Incidin™ Active wird für die Oberflächen-desinfektion von Medizinprodukten und zur Desinfektion von Flächen aller Art eingesetzt (Ecolab Healthcare Europe, 2017). Sowohl Wofasteril® SC super als auch Sekusept™ aktiv werden nach der RKI-Desinfektionsmittelliste für den Seuchenfalle mit den Wirkungsbereichen A bzw. B empfohlen (Robert Koch-Institut, 2017, Robert Koch-Institut, 2018).

Chlor-basierte Desinfektionsmittel

Hypochlorit-Ca G (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2018b) und Chlorifix (BAYROL Deutschland GmbH, 2018b) sind Produkte, die für die Wasserpflege von beispielsweise Schwimmbädern verwendet werden können. Halamid® findet in der Tierhaltung bei der Desinfektion von Gebäuden und Geräten Anwendung (Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH, 2008). Mini Haz-Tabs (Guest Medical Limited) werden für die Desinfektion von Babyflaschen und Stillgeräten eingesetzt.

Aktivsauerstoff-basierte Desinfektionsmittel

Perform® (Schülke & Mayr GmbH, 2017), Dismozon® plus (BODE Chemie GmbH, 2015) und Descogen®-I (ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2016) werden für die Desinfektion und Reinigung von Medizinprodukten und von Flächen in medizinischen Bereichen eingesetzt. Virkon® S findet vor allem im tiermedizinischen Bereich als Breitband-Desinfektionsmittel Anwendung (AGRAVIS Raiffeisen AG, 2014).

Tabelle 2: Liste der untersuchten Desinfektionsmittel, deren Gebrauchskonzentration sowie verwendete Neutralisationsmedien

| Wirkstoff | Desinfektionsmittel | Konzentration Gebrauchslösung nach Herstellerangaben | Neutralisationsmedium |
|-------------------------|-----------------------------------|--|--|
| Chlor-basiert | Hypochlorit-Ca G | 0,0015 % (150 g/10m ³) | 1 % Trypton-Soja-Bouillon/ 3-fach-Enthemmer |
| | Chlorifix® | 0,002 % (200 g/10m ³) | 3-fach-Enthemmer |
| | Halamid® | 2 % (20 g/l) | 3-fach-Enthemmer |
| | Mini Haz-Tabs | 1 Tab/2 Liter | 3-fach-Enthemmer |
| Peressigsäure-basiert | Wofasteril® ¹ | 2 % ² | 3-fach-Enthemmer |
| | Wofasteril® SC super ¹ | 1,5 %/2 % ² | 3-fach-Enthemmer/ 0,5 % Natriumsulfit in 1 % Trypton-Soja-Bouillon |
| | Sekusept™ aktiv | 2 % (20 g/l)/7 % ² | 3-fach-Enthemmer |
| | neodisher® endo DIS active | 2 % (100 g/5 l) | 3-fach-Enthemmer |
| | Incidin™ Active | 1 %/3 % ² | 1 % Trypton-Soja-Bouillon |
| Aktivsauerstoff-basiert | Dismozon® plus | 2,8 % (28 g/l) | 3-fach-Enthemmer |
| | Perform® | 1 % (10 g/l) | 3-fach-Enthemmer |
| | Virkon® S | 1 % | 3-fach-Enthemmer |
| | Descogen®-I | 1,5 % (15 g/l) | 3-fach-Enthemmer |

¹ kein Granulat

² RKI-Desinfektionsmittelliste (2017, 2018)

3-fach-Enthemmer: 3 % Trypton-Soja-Bouillon, 9 % (v/v) Tween 80, 0,9 % (w/v) Lecithin und 3 % (w/v) Histidin

Tenside. Um eine stabile Benetzung der hydrophoben Oberfläche der PSA mit dem Desinfektionsmittel zu gewährleisten sowie einer Aggregatbildung der Sporen vorzubeugen, wurden Tenside verwendet. Als Tenside kamen die Pufferadditive Alcapur® und Alcapur® N (Kesla Hygiene AG) sowie 0,2 % *sodium dodecyl sulfate* (SDS) (Carl Roth GmbH) zum Einsatz. Das Pufferadditiv Alcapur® besteht zu < 15 % aus Natriumhydroxid und enthält zwischen 5 % und 15 % anionische Tenside (Kesla Hygiene AG, 2019a). Alcapur® N enthält zu 45 % *sodium laureth sulfate*. Die jeweils verwendeten Tensid-Konzentrationen sind in den entsprechenden Abbildungen des Ergebnisteils vermerkt.

Um die Bildung von Sporenaggregaten zu verhindern, wurden Sporen in 0,1 % Triton X-100 (Carl Roth GmbH) in ddH₂O suspendiert (siehe Abschnitt Testorganismen).

Reagenzien. Für die genaue Einhaltung der Einwirkzeit (Expositionszeit) der Desinfektionsmittel gegenüber Sporen von bis zu 10 Minuten wurden verschiedene Neutralisationsmedien eingesetzt, durch deren Verwendung die Wirkung der Desinfektionsmittel kontrolliert gestoppt werden kann: (I) 3-fach-Enthemmer (3 % TSB, 9 % Tween 80, 0,9 % Lecithin und 3 % Histidin) (Nattermann et al., 2005), (II) 0,5 % Natriumsulfit in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) oder (III) TSB pur (Tabelle 2). Diese ermöglichen neben dem Einhalten definierter Einwirkzeiten auch den Ausschluss falsch negativer Resultate. Die Validierung der Neutralisationsmedien wurde vor der Verwendung im Experiment normgerecht nach DIN EN 14347 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005) durchgeführt (Daten nicht gezeigt). Die Sterilisation der Medien erfolgte durch Autoklavieren bei 121 °C für 20 Minuten.

Testorganismen. Die Kontamination unterschiedlicher Materialien von PSA und Asservat-Behältern während einer biologischen Gefahrenlage wurde mit *Bacillus*-Sporen verschiedener Risikogruppen simuliert (Tabelle 3). Sporen weisen eine wesentlich höhere Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln auf als die vegetativen Stadien eines Bakteriums. Die Sporenerzeugung erfolgte normgerecht nach DIN EN 14347 auf Mangansulfat-Agar (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005). Die Produktion der Sporen wird hierbei in Zellkulturflaschen (175 cm², Nunc, Dänemark) mit Filterdeckeln durchgeführt, um einen konstanten Luftaustausch während der Sporulation zu ermöglichen. Nach einer ausreichenden Trocknungsphase des Mangansulfat-Agars in den Zellkulturflaschen (Raumtemperatur und im Dunkeln für ca. 3 Wochen) wird dieser mit 8 ml einer Übernacht-Flüssigkultur (in TSB) vegetativer Bakterien beimpft. Anschließend erfolgt eine Inkubation der Kultur für zunächst 3 Tage bei 37 °C und für mindestens 21 weitere Tage bei Raumtemperatur. Mittels Rakette- sowie Gram-Färbung erfolgt die Überprüfung des Versporungsgrades. Der Grad der Versporung vegetativer Bakterien sollte vor der Ernte der Sporen mindestens 90 % betragen. Die Sporenernte erfolgt in 50-ml-Falcons mit Wasch- bzw. Zentrifugationsschritten bei 4 °C, 15 Minuten und 4000 x g in ddH₂O. Um die Reinheit der Sporensuspension zu überprüfen, werden nach der Sporenernte erneute Färbungen nach Rakette und Gram durchgeführt. Abschließend wurden Sporen, welche ein Exosporium aufweisen, abweichend von den Vorgaben der DIN EN 14347 mit 0,1 % Triton X-100 (Carl Roth GmbH) in ddH₂O suspendiert, um die Bildung von Sporenaggregaten zu verhindern (Ausnahme *B. subtilis*). Um zudem genaue Werte für die koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KBE/ml) unabhängig von Sporenaggregaten zu erhalten, wurde die KBE-Bestimmung ebenfalls durch serielle Verdünnung mit einer Mischung aus 0,1 % Triton X-100 in ddH₂O durchgeführt. Anschließend erfolgte das Ausplattieren

von 100 µl jeder Verdünnungsstufe auf Trypton-Soja-Agar (TSA) sowie die KBE-Bestimmung nach 24 Stunden der Inkubation bei 37 °C. Die Arbeitskonzentrationen der Sporen betragen zwischen $1,5$ und 5×10^8 KBE/ml.

Tabelle 3: Liste der verwendeten Sporen

| Spezies | Stamm | Herkunft | Risiko- grup- pen | KBE/ml | Tenazität [log ₁₀ -Stufen] (0,05 % PES) |
|-------------------------|-------------|---|-------------------------|--------------------|--|
| <i>B. subtilis</i> | ATCC 6633 | DSMZ Braunschweig | 1 | $4,32 \times 10^8$ | 6,17 |
| <i>B. thuringiensis</i> | DSM 350 | DSMZ Braunschweig | 1 | $4,57 \times 10^8$ | $1,86 \pm 0,58$ |
| <i>B. cereus</i> | ATCC 12826 | Institut Pasteur, Frankreich | 2 | $2,84 \times 10^8$ | $6,42 \pm 0,01$ |
| <i>B. anthracis</i> | Sterne 34F2 | W. Beyer, Universität Hohenheim | 2 | $5,09 \times 10^8$ | 5,14* |
| | 11/38 | Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), Jena | 3 | $1,66 \times 10^8$ | 1,94 |
| | 22/39 | Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), Jena | 3 | $2,5 \times 10^8$ | 2,52 |

DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen; PES – Peressigsäure; * 0,01 % PES

Ein möglicher negativer Einfluss auf die Vitalität der Sporen durch die Zugabe von 0,1 % Triton X-100 bei der Lagerung, wurde durch regelmäßige KBE-Bestimmungen im Abstand von zwei Wochen überprüft. Zudem wurde eine Bestimmung der chemischen Toleranz (Tenazität) gegenüber Peressigsäure (Wofasteril®, Kesla Hygiene AG), als Maß für die Widerstandsfähigkeit der *Bacillus*-Sporen nach DIN EN 14347 normgerecht vorgenommen (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005). Diese Überprüfung erfolgte durch Exposition der Sporen gegenüber definierten Peressigsäure-Konzentrationen von definierten Peressigsäure-Konzentrationen von 0,001 %, 0,005 %, 0,01 %, 0,05 % bzw. 0,1 % für 15 Minuten. Die Ergebnisse wurden mit früheren Resultaten des ZBS 2 (nicht publizierte Daten) sowie mit denen der Norm zugrunde liegenden Werten verglichen (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005).

Keimträger. Als Keimträger fanden verschiedene Materialien von PSA (GranPSA) bzw. Asservat-Verpackungen (GranuTa) Anwendung (Tabelle 4). Keimträger aus Persönlichem Schutzausrüstungsmaterial wurden in 4 cm² große quadratische Stücke zurechtgeschnitten und folgend mit einem Kreis (2 cm²) versehen, der als Testfläche diente. Asservat-Verpackungen wurden in 0,8 x 2 cm große Keimträger geschnitten und eine Testfläche von 0,8 x 1,6 cm markiert. Die Sicherstellung der Sterilität der Keimträger erfolgte durch beidseitige UV-Bestrahlung mit je 4 J/cm².

Tabelle 4: Liste der verwendeten Keimträgermaterialien

| Material | Artikelnummer | Hersteller |
|-----------------------------------|---------------|----------------------------------|
| Projekt GranPSA | | |
| TESIMAX® S 3 PE-T | - | TESIMAX-Altinger GmbH, Neuhausen |
| TESIMAX® SYKAN 2 | - | TESIMAX-Altinger GmbH, Neuhausen |
| Projekt GranuTa | | |
| DEBASAFE™ Medical Transporttasche | 404 002 | Anton Debatin GmbH, Bruchsal |

Für die Untersuchungen im Rahmen des Projektes GranPSA wurde das Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2017, Lemmer et al., 2012) verwendet. Dieses Verfahren erlaubt eine standardisierte Überprüfung der Desinfektionsmittelwirksamkeit auf mit *Bacillus*-Sporen kontaminierter PSA. Der Ablauf und Aufbau des Verfahrens ist in Abbildung 1 und Abbildung 2 dargestellt:

Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012). Auf einem in einer Petrischale liegenden und mit einem Kreis markierten (Testfläche) 4 cm² großen Keimträger (PSA-Material) werden fünf 2- μ l-Tropfen einer Sporensuspension in einem Halbkreis pipettiert. Die Sporensuspension weist hierfür eine KBE zwischen $1,5 \times 10^8$ bis 5×10^8 /ml auf, um eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von 5 bis 6 log₁₀-Stufen nachweisen zu können. Nach Trocknung der Sporen für 45 Minuten erfolgt das Pipettieren von 10 μ l des Desinfektionsmittels bzw. der Kontrolllösung (ddH₂O/ \pm Tensid) auf der anderen Hälfte der Testfläche. Anschließend wird das Mittel jeweils unter Zuhilfenahme zweier Impfösen für 30 Sekunden auf dem Keimträger verrieben (mechanische Überschichtung) und bei halb geöffneter Petrischale für insgesamt 1, 3, 5 bzw. 10 Minuten Einwirkzeit inkubiert. Das Abstoppen der Desinfektionsmittelwirkung erfolgt anschließend durch den Transfer des Keimträgers in 10 ml des jeweils benötigten und validierten Neutralisationsmediums. Durch folgendes Vortexen und Schütteln für 10 Minuten bei 475 rpm wird ein Ablösen der Sporen vom Keimträger in das Neutralisationsmedium erzielt. Mit einer weiteren 20-minütigen Inkubation wird die vollständige Neutralisation des Desinfektionsmittels sichergestellt. Nach Herstellung einer Verdünnungsreihe aus dem Neutralisationsmedium in 4,5 ml TSB kann das Ausplattieren auf TSA-Platten in Doppelbestimmung erfolgen. Für die Durchführung der Arbeiten im Sicherheitsstufe-3-Labor wurden abweichend sicherheitsbedingt reduzierte Volumina für die Versuchsansätze verwendet. So erfolgte das Anlegen der Verdünnungsreihen in nur 675 μ l TSB.

Die KBE/ml werden nach Inkubation bei 37 °C jeweils nach 24 und 48 Stunden bestimmt. Nach insgesamt 7 Tagen werden zudem alle Flüssigkulturen erneut auf Wachstum untersucht, um ein verzögertes Auskeimen der Sporen auszuschließen. Falls in diesem Wachstum zu beobachten ist, erfolgt ein fraktionierter Ausstrich statt 3-Ösen-Ausstrich auf TSA (Risikogruppen 1 und 2) bzw. Columbia-Blut-Agar (Risikogruppe 3) mit 5 μ l der niedrigsten bewachsenen Verdünnungsstufe.

Hierdurch wird sichergestellt, dass es sich tatsächlich um die untersuchten *Bacillus*-Sporen und nicht um eine Kontamination handelt. Von nicht bewachsenen Flüssigkulturen werden jeweils 100 µl ausplattiert, um die tatsächliche Sterilität der Kultur zu gewährleisten.

Die Bestimmung der Wirksamkeit des jeweiligen Desinfektionsmittels, d. h. die Reduktion lebensfähiger Erreger, erfolgt abschließend über die Berechnung des Reduktionsfaktors (RF). Dieser ergibt sich aus der Differenz der KBE/10 ml der Negativkontrolle (N_0) und der KBE/10 ml der mit dem jeweiligen Desinfektionsmittel versetzten Suspension (N). Die ermittelte KBE/10 ml bezieht sich dabei auf $\geq 1,5 \times 10^6$ Sporen auf der PSA, welche im Versuch in 10 ml Neutralisationsmedium überführt werden. Der Reduktionsfaktor wird nach folgender Formel berechnet:

$$RF = \log_{10}N_0 - \log N$$

Ziel ist, eine möglichst hohe Reduktion keimungsfähiger Sporen zu erhalten. In diesem Projekt wurde ein Desinfektionsmittel als wirksam eingestuft, wenn eine Reduktion keimungsfähiger Sporen zwischen $\geq 5 \log_{10}$ -Stufen und dem maximal zu erreichenden Reduktionsfaktor (Soll-Bereich) erreicht wird. Der Soll-Bereich ist in den entsprechenden Abbildungen als rosa Balken hervorgehoben. Die KBE/10 ml der Negativkontrolle (N_0) ist darüber hinaus als methodisch bedingter maximal zu erreichender Reduktionsfaktor festgelegt (maximaler Reduktionsfaktor = $\log_{10}N_0$). Dieser wird in den Graphen durch eine gestrichelte Linie symbolisiert. Für die Berechnung der Reduktionsfaktoren werden stets die 48-Stunden-Werte herangezogen. Wird Wachstum im Flüssigmedium nachgewiesen, aber nicht auf TSA-Platten, wird der Reduktionsfaktor mit einem Konfidenzintervall von 95 % berechnet und die obere Grenze der rechnerisch ermittelten Menge an Sporen als Berechnungsgrundlage gewählt (Wahrscheinlichkeitsverteilung). Die Überprüfung erfolgte weitestgehend in drei voneinander unabhängigen Experimenten (Dreifachbestimmung) für jedes Desinfektionsmittel, wobei jeder Versuchsansatz (Desinfektionsmittel und Negativkontrolle) in Doppelwerten pro Experiment vorlag. Um die Genauigkeit der Werte für die KBE/10 ml-Bestimmung noch zu erhöhen, wurden die Verdünnungsreihen jeweils in Doppelwerten auf TSA ausplattiert.

Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“

Petrischale mit
Keimträger



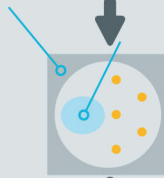
2 cm



2 cm

Spotten

- Auftragen der Sporen auf den Keimträger (KT)
- Trocknen der Sporen für 45 Min.



Desinfektion

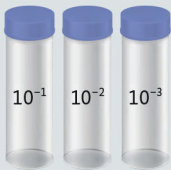
- Pipettieren von 10 µl Desinfektionsmittel-lösung
- Mechanisches Ausstreichen des Desinfektionsmittels für 30 Sek.
- Einwirkzeit von 1 bis 10 Min.

Neutralisationsmedium

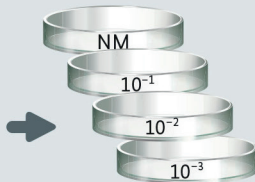


Neutralisation

- Transfer des KT in 10 ml Neutralisationsmedium (NM)
- Schütteln für 10 Min. und Inkubation für weitere 20 Min. bei Raumtemperatur



4,5 ml TSB



TSA

Verdünnungsreihe und Ausstrich

- Verdünnungsreihe in TSB herstellen
- Ausplattieren von 100 µl der Suspension auf TSA
- Inkubation für 7 Tage bei 37 °C

Bestimmen der Wirksamkeit

- Berechnen der koloniebildenden Einheiten (KBE) pro 10 ml nach 24 und 48 Std.
- Ermitteln des Reduktionsfaktors (\log_{10} -Stufen)

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Prüfverfahrens „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (nach Lemmer et al., 2012). 10 µl eines Desinfektionsmittels werden für 30 Sek. mit Hilfe zweier Impfösen auf dem mit *Bacillus*-Sporen gespotteten Keimträger verrieben (mechanisches Prinzip). Die Desinfektionsmittelwirkung wird nach definierten Einwirkzeiten von 1 bis 10 Minuten durch Transfer des Keimträgers in 10 ml Neutralisationsmedium gestoppt. Aus diesem erfolgt die Herstellung einer Verdünnungsreihe in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) sowie das Ausplattieren der Suspension auf Trypton-Soja-Agar (TSA). Abschließend werden die koloniebildenden Einheiten pro 10 Milliliter (KBE/10 ml) nach 24 und 48 Std. ermittelt und die Reduktionsfaktoren bestimmt. Eigene Darstellung.

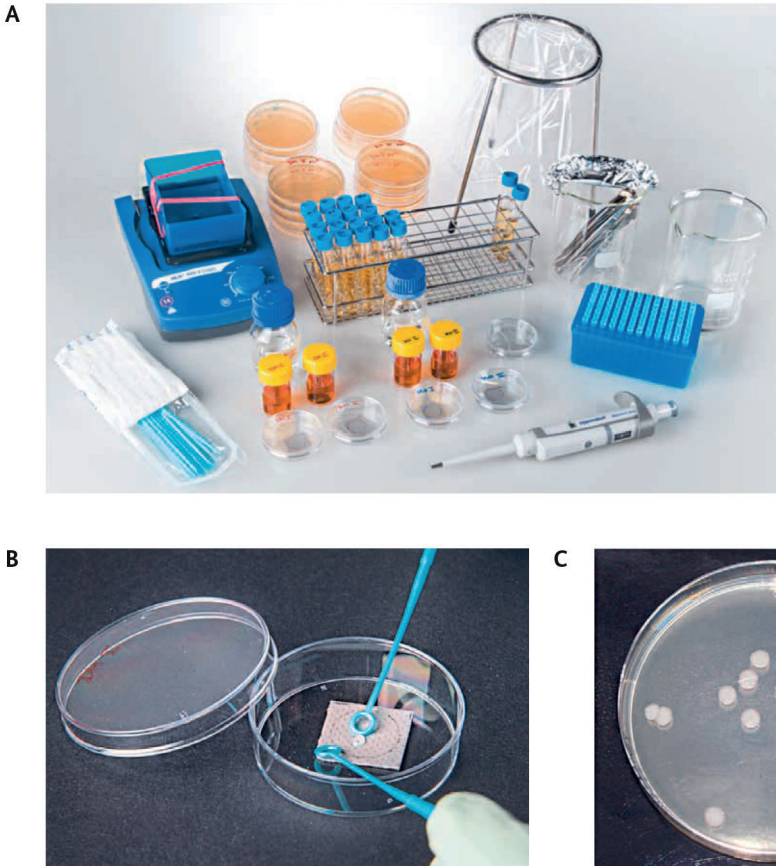


Abbildung 2: Fotografische Darstellung des Versuchs zum „Prüfverfahren Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (nach Lemmer et al., 2012) im Labor. (A) zeigt den realistischen Aufbau des Versuchs unter einer Sicherheitswerkbank zur Analyse der Desinfektionsmittelwirksamkeit gegenüber bakteriellen Sporen auf PSA. In (B) ist die mechanische Überschichtung des Keimträgermaterials (PSA) mit dem Desinfektionsmittel unter Zuhilfenahme zweier Impfösen dargestellt („Überschichtung mit Mechanik“). (C) zeigt Kolonien von *B. thuringiensis* auf Trypton-Soja-Agar (TSA) nach 24 Std. Kultivierung bei 37 °C, welche für die Bestimmung des Reduktionsfaktors gezählt werden. Eigene Darstellung.

3.1.1 Identifikation von auf PSA sporiziden Desinfektionsmitteln

Für die Überprüfung der Wirksamkeit der verschiedenen Desinfektionsmittel (Tabelle 1) fand das Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) Anwendung (Abschnitt 3.1 oben, Abbildung 1). Ausgewählt für

diese Versuche wurden die wenig robusten *B. subtilis*-ATCC-6633- und die umwelt-stabileren *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Die Verwendung dieser Risiko-gruppe-1-Erreger erlaubte eine schnelle und sichere Vorselektion auf die für eine Desinfektion von PSA geeigneten Desinfektionsmittel. Die Überprüfung erfolgte unter Verwendung des PSA-Materials TESIMAX® S 3 PE-T. Untersucht wurden ein-fache und doppelte Herstellerkonzentrationen sowie für dieses Projekt angepasste Konzentrationen bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten. Vorversuche wurden weitestgehend einmalig ohne Wiederholung angefertigt. Als Tenside kamen die Pufferadditive der Firma Kesla Hygiene AG Alcapur® N und 0,2 % SDS zum Einsatz. Die jeweils verwendeten Konzentrationen sind in den Abbildungsunterschriften des Ergebnisteils vermerkt.

Feuchthalten des Keimträgers. Um die Zahl möglicher geeigneter Desinfektions-mittel zu erhöhen, wurde das Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mecha-nik“ (Lemmer et al., 2012) (Abschnitt 3.1 oben, Abbildung 1) durch „Feuchthalten“ (Mehrfachdesinfektion) des Keimträgers modifiziert. Bei einer Einwirkzeit von 5 bis 10 Minuten kommt es zum vollständigen Trocknen des Desinfektionsmittels auf dem Keimträger. Dies beeinflusst möglicherweise die Wirkung des Mittels. Als Modifikation der Methode wurden daher die Keimträger über die gesamte Ein-wirkzeit „feucht gehalten“, um eine konstante Exposition der Sporen gegenüber dem Desinfektionsmittel zu gewährleisten. Dabei erfolgten ein erneutes Auftragen von 10 µl des Desinfektionsmittels und ein anschließendes Verreiben desselben, sobald die erste Desinfektionslösung getrocknet war (ca. 4 bis 5 Minuten). Alle rest-lichen Schritte des Verfahrens blieben unverändert.

3.1.2 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen

Die Bestimmung der genauen Desinfektionsmittelkonzentrationen, die eine Reduktion der keimungsfähigen Sporen von mindestens 5 log₁₀-Stufen ermög-lichten, erfolgte unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell 3 Überschich-tung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) (Abschnitt 3.1 oben, Abbildung 1). Die Analyse wurde mit dem Chlor abspaltenden Desinfektionsmittelgranulat Hypochlorit-CA G und dem Peressigsäure-basierten Wofasteril® SC super in ver-schiedenen Wirkstoffkonzentrationen und zeitabhängig durchgeführt.

Hypochlorit-CA G. Für die Prüfung erfolgte standardisiert die genaue Bestimmung der Konzentration von Chlor durch iodometrische Titrations (Abschnitt 3.3.1). Die Desinfektionsmittelwirksamkeit wurde gegenüber den widerstandsfähigen *B. thuringiensis*DSM-350-Sporen auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T tensidabhängig analysiert. Als Tenside fanden das Pufferadditiv 0,5 % Alcapur® N sowie 0,2 % SDS Anwendung. Diese Tenside wurden vorab auf ihre Fähigkeit, in

Kombination mit Hypochlorit-CA G einen homogenen Flüssigkeitsfilm auf der PSA zu erzeugen, konzentrationsabhängig getestet.

Wofasteril® SC super. Die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super wurde zunächst zeitabhängig bei aufsteigender Konzentration der Gebrauchslösung ohne genaue Bestimmung der Wirkstoffkonzentration analysiert. Diese Überprüfung erfolgte gegenüber den umweltstabilen *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T tensidabhängig. Als Tenside wurden 0,5 % Alcapur® N sowie 0,2 % SDS verwendet. Beide Tenside wurden vorab auf ihre Fähigkeit, in Kombination mit Wofasteril® SC super einen homogenen Flüssigkeitsfilm auf dem Keimträgermaterial zu erzeugen, konzentrationsabhängig untersucht.

Für die Analyse der genauen sporiziden Wirkstoffkonzentration erfolgte standardisiert die Bestimmung des Peressigsäure-Anteils in Wofasteril® SC super durch iodometrische Titration (Abschnitt 3.3.1). Für diese Untersuchungen fanden neben *B. thuringiensis* DSM-350- auch *B. cereus*-ATCC-12826- und *B. anthracis*-Sterne-Sporen Anwendung. Die Wirksamkeit wurde tensidabhängig auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2 überprüft. Das Pufferadditiv Alcapur® N wurde hierfür in Konzentrationen von 0,5 % bis 2 % verwendet.

3.1.3 Wirksamkeitsanalyse bei Verschmutzung und unterschiedlichen Temperaturen

Um sowohl den Einfluss von Verschmutzung als auch von Temperaturunterschieden auf die Desinfektionsmittelwirkung zu analysieren, wurde das Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) (Abschnitt 3.1 oben, Abbildung 1) jeweils abgewandelt.

Einfluss von Verschmutzung. Organische Belastungen in Form von Proteinen können die Wirkung von Desinfektionsmitteln im Allgemeinen herabsetzen („Eiweiß-Fehler“) (Bodenschatz, 2006). Um die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auch bei organischer Verschmutzung der PSA zu gewährleisten, wurde das verwendete Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) modifiziert. Hierfür wurden die Sporensuspensionen in Anlehnung an die DIN EN 17126 (Deutsches Institut für Normung e. V., 2017) mit 0,3 % BSA versetzt. Alle folgenden Schritte des Versuchsablaufs im Prüfverfahren blieben wie oben beschrieben unverändert und wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Für die Wirksamkeitsanalyse von Hypochlorit-CA G bei Verschmutzung erfolgte standardisiert vor jedem Versuch die Bestimmung der Konzentration an Chlor durch iodometrische Titrations (Abschnitt 3.3.1). Die

Desinfektionsmittelwirksamkeit von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® wurde gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1, 2 und 3 (Tabelle 3) auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T bzw. TESIMAX® SYKAN 2 analysiert.

Für die Analyse der Wirksamkeit von Wofasteril® SC super bei Verschmutzung der PSA wurde vorab standardisiert der Peressigsäure-Anteil durch iodometrische Titration bestimmt (Abschnitt 3.3.1). Die Gebrauchslösung wurde mit 1,5 % (TESIMAX® S 3 PE-T) bzw. 2 % Alcapur® (TESIMAX® SYKAN 2) versetzt. Für diese Untersuchungen fanden *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1, 2 und 3 (Tabelle 3) Anwendung.

Einfluss von Temperaturunterschieden. Um einen Einfluss von Temperaturunterschieden auf die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel zu beurteilen, wurden die Keimträgerversuche nicht nur bei Raumtemperatur, sondern zusätzlich bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Diese Temperaturen orientieren sich an den im mitteleuropäischen Klima maximal bzw. minimal zu erwartenden Werten. Es handelt sich um angestrebte Temperaturwerte, die jedoch versuchsbedingten Schwankungen unterliegen. Tatsächlich gemessene Werte sind daher im Ergebnis mit einem (*) gekennzeichnet. Die Analyse erfolgte mit den Desinfektionsmittellösungen Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® sowie Wofasteril® SC super/1,5 % (TESIMAX® S 3 PE-T) bzw. 2 % Alcapur® (TESIMAX® SYKAN 2) gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1, 2 und 3 (Tabelle 3). Zudem wurde die Wirkung von Wofasteril® SC super im Vergleich mit Wofasteril®/0,5 % Alcapur® durchgeführt. Die jeweiligen Wirkstoffkonzentrationen an Chlor bzw. Peressigsäure wurden vorab standardisiert durch iodometrische Titration bestimmt (Abschnitt 3.3.1). Es wurden abweichend vom Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) (Abschnitt 3.1 oben, Abbildung 1) folgende Änderungen vorgenommen:

Alle verwendeten Materialien, einschließlich der Desinfektionsmittel, wurden direkt vor und während des Versuchs auf die entsprechende Temperatur vorgekühlt bzw. vorgewärmt. Es erfolgten zudem Temperaturmessungen für den Klima-, Kühl- und Tiefkühlschrank stets vor und nach einem Versuch. Diese Temperaturen sind für den jeweiligen Versuch als Mittelwert in den Abbildungen des Ergebnisteils angegeben. Die Temperatur der Desinfektionsmittellösungen wurde unmittelbar vor der Verwendung überprüft. Mit Ausnahme der $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Versuche entsprachen diese den angestrebten Umgebungstemperaturen. Da die Präparate bei einer Temperatur von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gefrieren würden, wurde hier eine Temperatur von $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ als Richtwert für die Desinfektionsmitteltemperatur im Versuch verwendet. Für angestrebte Temperaturen von $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde die Testung zudem auf Metallplatten in einer mit Eis gefüllten Metallwanne durchgeführt. So konnten auch während des mechanischen Überschichtens mit dem Desinfektionsmittel diese

niedrigen Temperaturen gewährleistet werden. Die Einwirkzeiten der Temperaturexperimente wurden aus Gründen der methodisch bedingten Versuchsanordnung auf mindestens 5 Minuten festgesetzt, da sonst keine ausreichende Temperaturexposition erzielt werden konnte.

3.2.1 Anpassung und Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“

Für die in diesem Projekt durchgeführten Untersuchungen sollte das nach Lemmer et al. (2012) etablierte Prüfverfahren „Modell 1 Tauchverfahren“ Verwendung finden. Das Verfahren ist in Abbildung 3 schematisch dargestellt:

Prüfverfahren „Modell 1 Tauchverfahren“ (Lemmer et al., 2012). Diese Methode erlaubt eine standardisierte Überprüfung der Desinfektionsmittelwirksamkeit gegenüber mit bakteriellen Sporen kontaminierten Asservat-Behältern im Tauchbad. Hierbei wird der Keimträger vollständig in 1 ml Desinfektionsmittellösung eingetaucht und so ein Tauchbad der Asservat-Behälter praxisnah simuliert. Die Wirkung des Desinfektionsmittels wird durch Zugabe von 9 ml Neutralisationsmedium abgestoppt. Nach 10-minütiger Schüttelinkubation (475 rpm) und weiteren 20 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wird eine Verdünnungsreihe aus dem Neutralisationsmedium in TSB angefertigt. Alle Verdünnungsstufen werden folgend in Doppelwerten zu je 100 µl auf TSA ausplattiert und die KBE/10 ml nach 24 und 48 Stunden bestimmt. Die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels wird dann aus der KBE/10 ml nach 48 Stunden als Reduktionsfaktor ermittelt.

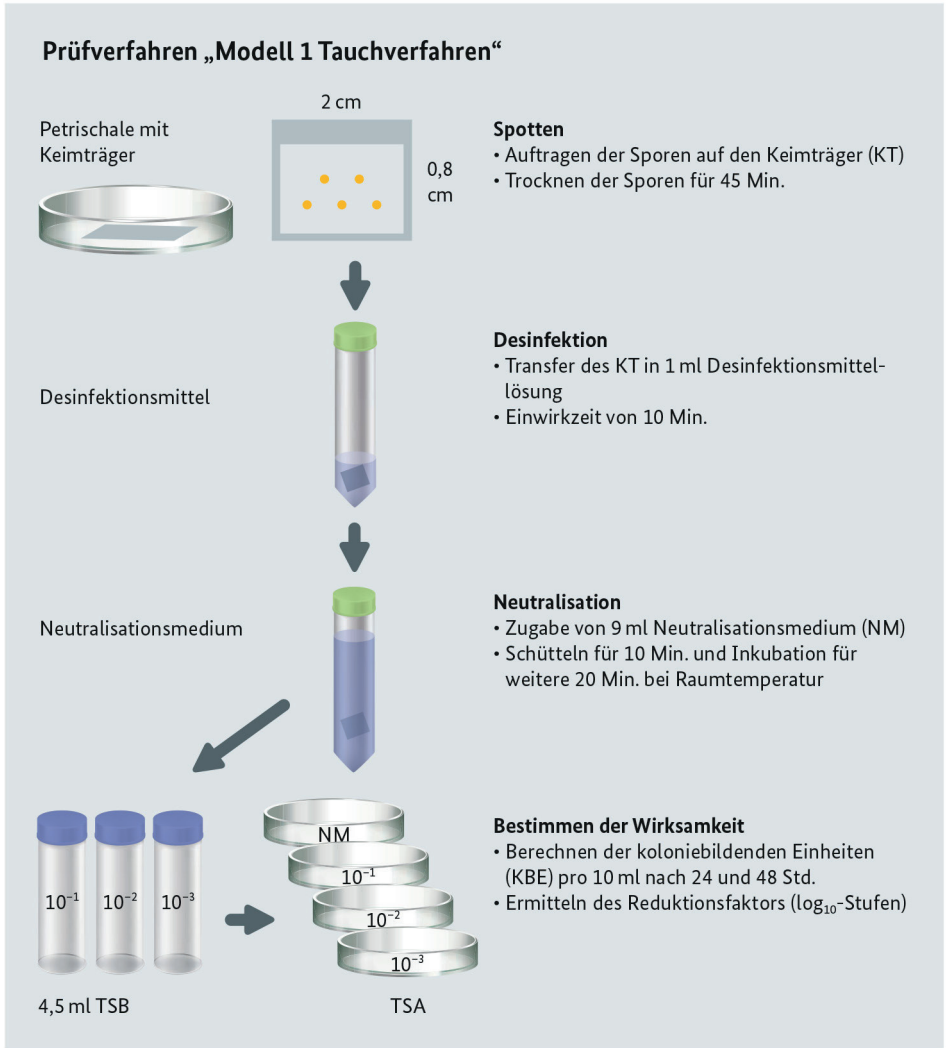


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“ (nach Lemmer et al., 2012). Der mit *Bacillus*-Sporen gespottete Keimträger wird in 1 ml einer Desinfektionsmittellösung transferiert. Die Desinfektionsmittelwirkung wird nach definierter Einwirkzeit von 10 Minuten durch Zugabe von 9 ml Neutralisationsmedium abgestoppt. Anschließend erfolgt aus diesem Reaktionsgefäß die Herstellung einer Verdünnungsreihe in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) sowie das Ausplattieren der Suspension auf Trypton-Soja-Agar (TSA). Abschließend werden die koloniebildenden Einheiten pro 10 Milliliter (KBE/10 ml) nach 24 und 48 Std. bestimmt und die Reduktionsfaktoren berechnet. Eigene Darstellung.

Dieses Modell ist jedoch bisher nur für die Verwendung von bis zu 0,5 % Peressigsäure in Wofasteril® etabliert (Lemmer et al., 2012). Da dieses Verfahren eine Neutralisation des Desinfektionsmittels im Verhältnis von 1:10 vorsieht, war es für die Überprüfung der hier zu testenden Desinfektionsmittel nur unzureichend geeignet. Die Validierung der Neutralisationsmedien für diese Produkte basiert auf einem Verhältnis zwischen Desinfektionsmittel und Neutralisationsmedium von 1:100 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005). Eine Anpassung des Volumens des Neutralisationsmediums auf 99 ml war aus Gründen der Praktikabilität (Höhe des Volumens und Umfang der Experimente) nicht umsetzbar. Umgekehrt war eine Reduktion des Desinfektionsmittelvolumens auf unter 1 ml nicht möglich, da eine damit verbundene Minimierung der Keimträgergröße ebenfalls nicht praktikabel war. Aus diesem Grund erfolgte eine Anpassung und Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“ (Lemmer et al., 2012), wobei zwei alternative Prüfverfahren, Modell A und Modell B, getestet wurden. Zudem wurde vorab der Einfluss der Bildung von Sporenaggregaten auf die KBE-Bestimmung und somit auf die Berechnung des Reduktionsfaktors untersucht. Die Verwendung eines Tensids in diesem Zusammenhang wurde mit in die Analysen einbezogen. Kriterien, anhand derer die Re-Etablierung beurteilt wurde, sind: (I) Wiederfindungsrate der Sporen im Verfahren, (II) Verteilung der Sporen im Verfahren und (III) Reduktionsfaktoren in den Desinfektionsmittelansätzen. Es wurden folgende Versuche zur Re-Etablierung des „Prüfverfahrens Modell 1 Tauchverfahren“ durchgeführt:

1. **Überprüfung der Notwendigkeit einer Tensidverwendung**
2. **Validierung Modell A**
3. **Validierung Modell B**

Überprüfung der Notwendigkeit einer Tensidverwendung. Um einen Einfluss der Aggregatbildung von Sporen auf die KBE-Bestimmung und somit auf die Reduktionsfaktoren auszuschließen, wurden verschiedene Tenside und Konzentrationen durch die Zugabe in den Versuchsansätzen sowie zur Verdünnungsreihe getestet. Die Überprüfung erfolgte in Anlehnung an das Originalverfahren unter Verwendung der Negativkontrollansätze (H₂O) (Abschnitt 3.2.1 oben; Abbildung 3).

Tensidzugabe in Testansätzen

Getestet wurden die Zugabe von Alcapur® (1 %, 1,5 % und 2 %, Kesla Hygiene AG) oder Alcapur® N (0,5 %, Kesla Hygiene AG). Hierfür wurde das jeweilige Tensid in 1 ml ddH₂O pipettiert. Als interne Negativkontrolle wurde ddH₂O ohne Tensid

verwendet. Ein mit $\geq 1,5$ bis 5×10^6 Sporen gespotteter Keimträger wurde in die jeweilige Lösung transferiert und so ein Tauchbad simuliert. Nach einer Inkubation von 10 Minuten im Tauchbad und dem Vortexen der Proben wurden 100 μl der Lösungen in 9,9 ml Neutralisationsmedium überführt. Es folgte eine Schüttelinkubation von 10 Minuten (475 rpm) sowie eine weitere Inkubation von 20 Minuten bei Raumtemperatur ohne schütteln. Über eine Verdünnungsreihe in TSB und das anschließende Ausplattieren von je 100 μl jeder Verdünnungsstufe wurde die absolute Sporenzahl im Ursprungsansatz berechnet und über die ursprünglich eingesetzten KBE/ml die Wiederfindungsrate bestimmt.

Tensidzugabe in Verdünnungsreihen

Für die Überprüfung wurden 0,01 % und 0,1 % Triton X-100 verwendet. Die Simulation eines Tauchbades erfolgte mit einem mit $1,11 \times 10^6$ Sporen gespotteten Keimträger. Dieser wurde in 1 ml ddH₂O ohne Tensid transferiert, für 9 Minuten und 45 Sekunden inkubiert und für 10 Sekunden gevortext. 100 μl der Lösungen wurden folgend in 9,9 ml Neutralisationsmedium überführt. Anschließend erfolgte eine Schüttelinkubation für 10 Minuten (475 rpm) sowie eine weitere Inkubation von 20 Minuten bei Raumtemperatur ohne schütteln. Aus diesem wurde eine Verdünnungsreihe in TSB pur, TSB/0,01 % Triton X-100 oder TSB/0,1 % Triton X-100 pipettiert und jeweils 100 μl jeder Verdünnungsstufe in Doppelwerten auf TSA plattiert. Über die absolute Sporenzahl im Ursprungsansatz sowie der ursprünglich eingesetzten KBE/ml erfolgte abschließend die Berechnung der Wiederfindungsrate.

Validierung Modell A. Modell A wurde unter Orientierung an den Vorgaben des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“ (Lemmer et al., 2012) entwickelt. Die Validierung besteht aus zwei Teilversuchen, den Versuchsproben und den Kontrollproben. Die Durchführung erfolgte mit Wofasteril® (0,075 % Peressigsäure). Zudem wurde vergleichend eine Validierung mit und ohne Zugabe des Tensids Alcapur® (2 %) zum Desinfektionsmittel- bzw. Negativkontrollansatz untersucht. Das Validierungsverfahren ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

Auf einem sterilen, in einer Petrischale liegenden Keimträger (DEBASAFE™ Medical Transporttaschen) werden fünf 2- μl -Tropfen einer Sporensuspension pipettiert und für 45 Minuten getrocknet ($\geq 2 \times 10^6$ Sporen). In Anlehnung an die DIN EN 17126 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2017) wird die Sporenlösung vorab mit 0,3 % BSA versetzt. Die Suspension weist dabei eine KBE/ml zwischen 2×10^8 bis 5×10^8 *Bacillus*-Sporen auf, um eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von mindestens 5 log₁₀-Stufen nachweisen zu können. Der Keimträger wird anschließend in ein mit 1 ml Desinfektionsmittellösung (Desinfektionsmittelansatz) bzw.

ddH₂O (Negativkontrollansatz) befülltes 2-ml-Mikroröhrchen mit Schraubdeckel (Sarstedt) transferiert. Nach einer Einwirkzeit von 9 Minuten und 45 Sekunden wird das Gefäß für 10 Sekunden gevortext und abschließend 100 µl Suspension (Versuchsprobe) bzw. 900 µl Suspension inklusive des Keimträgers (Kontrollprobe) in 9,9 ml bzw. 89,1 ml Neutralisationsmedium überführt. Dies ermöglicht ein zeitgerechtes Abstoppen der Desinfektionsmittelwirkung. Anschließend erfolgt ein Schütteln der Medien für 10 Minuten bei 475 rpm. Mit einer weiteren 20-minütigen Schüttelinkubation wird die vollständige Neutralisation des Desinfektionsmittels sichergestellt. Aus den Neutralisationsmedien wird eine Verdünnungsreihe hergestellt und jede Verdünnungsstufe in Doppelwerten auf TSA ausplattiert. Nach 24 Std. und 48 Std. werden die KBE/10 ml bzw. KBE/90 ml bestimmt. Die abschließende Berechnung des Reduktionsfaktors erfolgt wie in Abschnitt 3.1 oben erklärt. Anhand der Kriterien Sporenverteilung, Wiederfindungsrate und Reduktionsfaktor sollte eine Eignung dieses Modells für die Prüfung der Desinfektionsmittel im Tauchbad festgestellt werden.

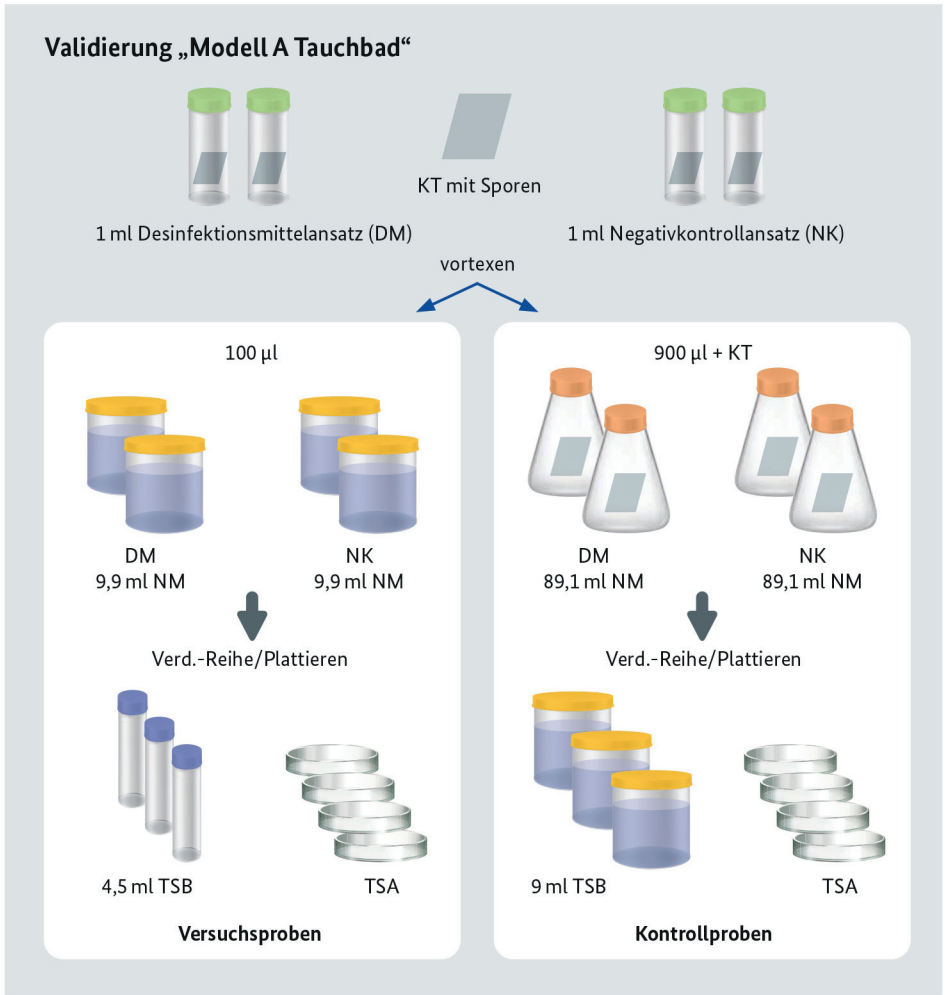


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Validierung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“. Mit *Bacillus*-Sporen gespottete Keimträger (KT) werden jeweils in Doppelwerten in 1 ml Desinfektionsmittel (Desinfektionsmittelansatz) oder ddH₂O (Negativkontrollansatz) für 10 Minuten eingetaucht. Die Desinfektionsmittelwirkung wird nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten durch vortexen und anschließenden Transfer von 100 µl Suspension (Versuchsproben) bzw. 900 µl Suspension inklusive des Keimträgers (Kontrollproben) in 9,9 ml bzw. 89,1 ml Neutralisationsmedium (NM) gestoppt. Aus diesem erfolgt die Herstellung einer Verdünnungsreihe in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) sowie das Ausplattieren der Suspension auf Trypton-Soja-Agar (TSA) in Doppelwerten. Abschließend werden die koloniebildenden Einheiten pro 10 Milliliter (KBE/10 ml) bzw. KBE/90 ml nach 24 und 48 Std. ermittelt und die Reduktionsfaktoren bestimmt. Eigene Darstellung.

Validierung Modell B. Modell B orientiert sich an den Vorgaben der DIN EN 14561 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2006). Der Ablauf wurde entsprechend den Anforderungen an das Prüfen von Asservat-Behälterproben angepasst. Die Validierung erfolgte dabei parallel in zwei Teilversuchen, den Versuchsproben und den Kontrollproben. Für die Durchführung wurde Wofasteril® (0,075 % Peressigsäure) verwendet. Bei der Validierung dieses Modells wurde zunächst kein Tensid im Desinfektionsmittel- bzw. Negativkontrollansatz verwendet. Das Validierungsverfahren ist in Abbildung 5 schematisch dargestellt.

Eine Sporensuspension wird, in Anlehnung an die DIN EN 17126 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2017), mit 0,3 % BSA versetzt. Fünf 2- μ l-Tropfen der Sporensuspension ($\geq 2 \times 10^6$ Sporen) werden auf einen sterilen und in einer Petrischale liegenden Keimträger (DEBASAFE™ Medical Transporttaschen) pipettiert und für 45 Minuten getrocknet. Die Suspension weist hierfür eine KBE/ml zwischen 2×10^8 bis 5×10^8 Sporen auf, um eine Reduktion von mindestens 5 \log_{10} -Stufen nachweisen zu können. Anschließend wird der Keimträger in ein 2-ml-Eppendorf-Gefäß mit 1 ml einer Desinfektionsmittellösung (Desinfektionsmittelansatz) bzw. ddH₂O (Negativkontrollansatz) transferiert. Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten wird der Keimträger ohne vorheriges Vortexen in 10 ml Neutralisationsmedium (Versuchsprobe) und die verbleibenden 1 ml Desinfektionsmittellösung (Kontrollprobe) in 99 ml Neutralisationsmedium überführt. Dies ermöglicht ein genaues Abstoppen der Desinfektionsmittelwirkung nach 10 Minuten. Anschließend wird durch schütteln der Medien für 10 Minuten bei 475 rpm, gefolgt von weiteren 20 Minuten Inkubation die vollständige Neutralisation des Desinfektionsmittels sichergestellt. Aus den Neutralisationsmedien wird eine Verdünnungsreihe hergestellt und jede Verdünnungsstufe in Doppelwerten auf TSA ausplattiert. Nach 24 Std. und 48 Std. werden die KBE/10 ml bzw. KBE/100 ml bestimmt. Die abschließende Reduktionsfaktorberechnung wird, wie in Abschnitt 3.1 erklärt durchgeführt. Um zu beurteilen, ob es sich um ein geeignetes Modell für die Prüfung der Desinfektionsmittel im Tauchbad handelt, wurden die Kriterien der Sporenverteilung, Wiederfindungsrate sowie Reduktionsfaktor berücksichtigt.

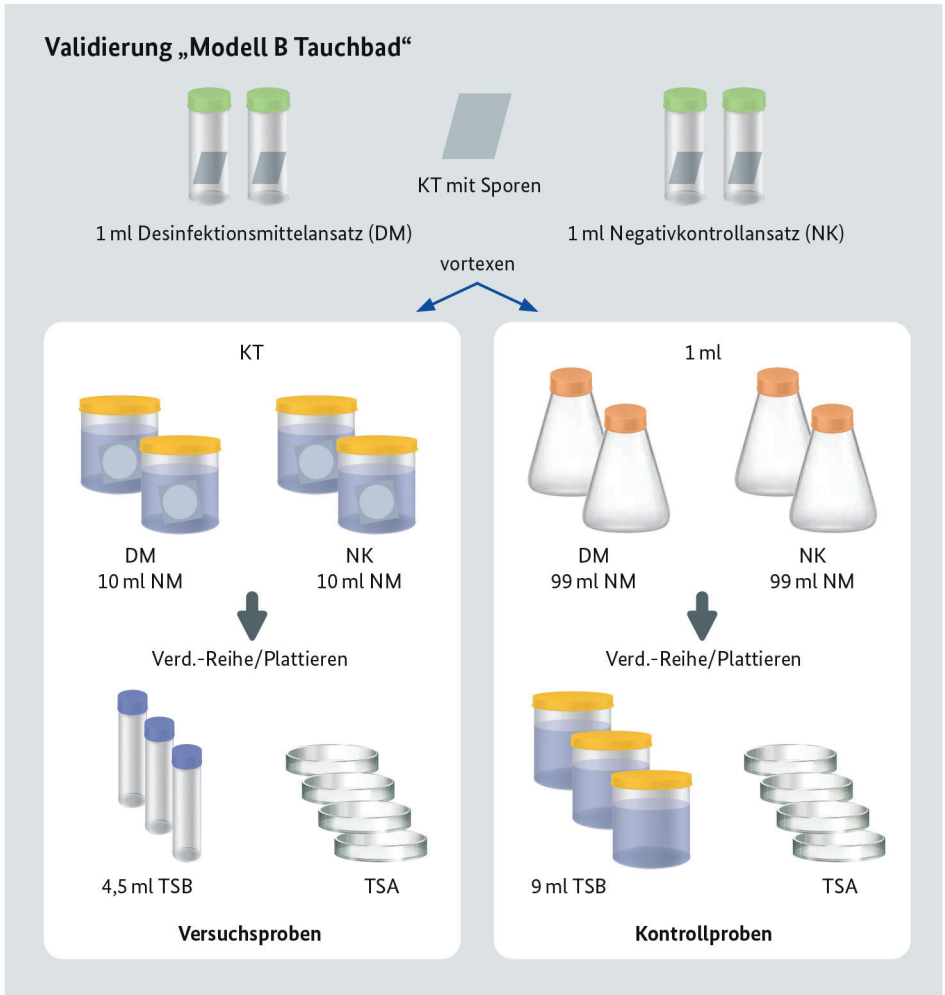


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Validierung des Prüfverfahrens „Modell B Tauchbad“. In 1 ml Desinfektionsmittel (Desinfektionsmittelansatz) oder ddH₂O (Negativkontrollansatz) werden jeweils in Doppelwerten mit *Bacillus*-Sporen gespottete Keimträger (KT) eingetaucht. Die Desinfektionsreaktion wird nach 10 Minuten Einwirkzeit durch Transfer des Keimträgers (Versuchsproben) bzw. 1 ml des verbleibenden Desinfektionsmittels (Kontrollproben) in 10 ml bzw. 99 ml Neutralisationsmedium gestoppt. Aus diesem wird anschließend eine Verdünnungsreihe in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) hergestellt und die Suspension auf Trypton-Soja-Agar (TSA) in Doppelwerten ausplattiert. Abschließend werden die koloniebildenden Einheiten pro 10 Milliliter (KBE/10 ml) bzw. KBE/100 ml nach 24 und 48 Std. ermittelt und die Reduktionsfaktoren bestimmt. Eigene Darstellung.

3.2.2 Identifikation von im Tauchverfahren sporiziden Desinfektionsmitteln

Nach erfolgreicher Re-Etablierung des Tauchverfahrens sollten zunächst diejenigen Desinfektionsmittel identifiziert werden, welche eine ausreichende Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen bei der Desinfektion von Asservat-Behältern erzielen. Hierfür wurde das Prüfverfahren „Modell A Tauchbad (S2-Bedingungen)“ verwendet. Das Verfahren ist in Abschnitt 3.2.1 Validierung Modell A detailliert beschrieben und der Versuchsablauf und -aufbau in Abbildung 6 und Abbildung 7 dargestellt.

Hierfür wurden die als Surrogat für pathogene *B. anthracis*-Stämme geltenden widerstandsfähigen *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen der Risikogruppe 1 verwendet. Dabei sollten die Produkte eine Sporenreduktion von mindestens 5 \log_{10} -Stufen aufweisen, um als geeignet für die weitere Überprüfung zu gelten. Insgesamt erfolgte die Überprüfung von elf Desinfektionsmittelgranulaten und einem flüssigen Präparat auf Basis von drei unterschiedlichen Wirkstoffen (Tabelle 1) auf dem Material DEBASAFE™ Medical Transporttaschen bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten. In diesen Voruntersuchungen wurden zunächst die Gebrauchsverdünnungen nach Herstellerangaben (Tabelle 2) sowie doppelte Konzentrationen geprüft. Desinfektionsmittel, die in diesen Vorversuchen als wirksam eingestuft werden konnten, sollten folgend genauer untersucht und gegenüber Risikogruppe-3-*Bacillus*-Sporen sowie bei veränderten Temperaturbedingungen überprüft werden.

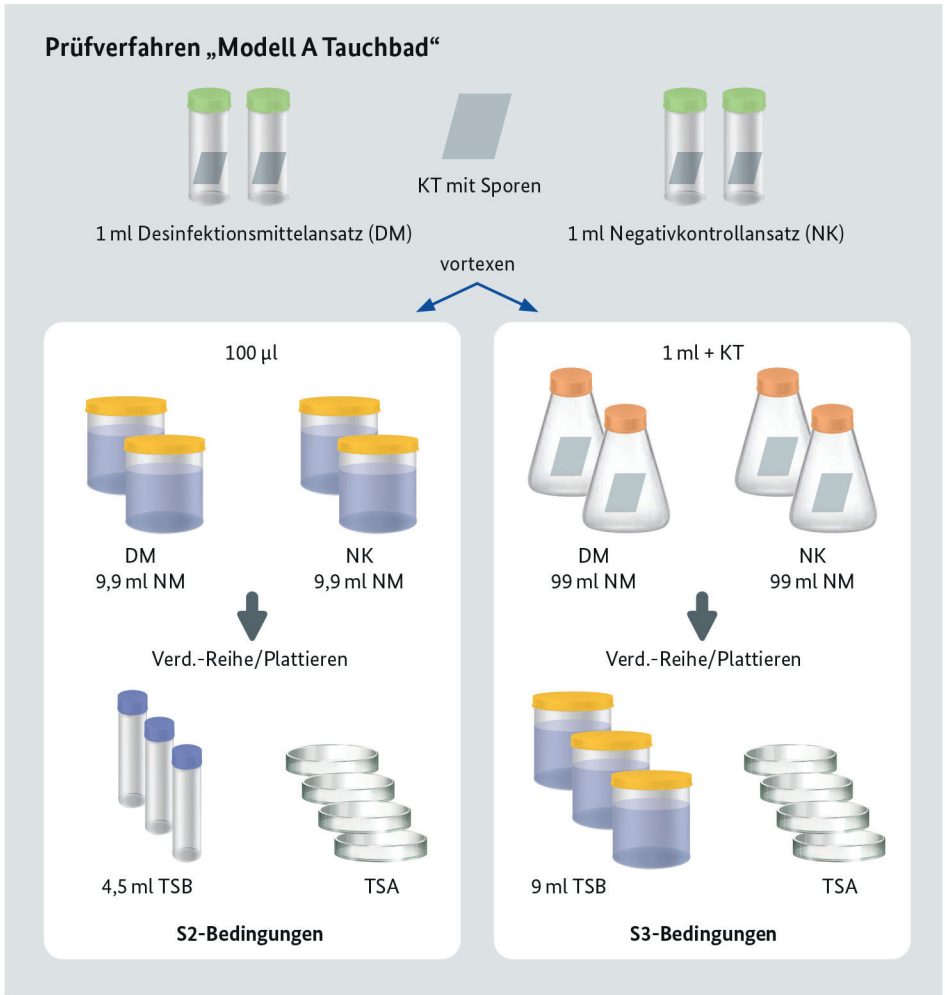


Abbildung 6: Schematische Darstellung des re-etablierten Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“. In 1 ml Desinfektionsmittel (Desinfektionsmittelansatz) oder ddH₂O (Negativkontrollansatz) werden jeweils in Doppelwerten mit *Bacillus*-Sporen gespottete Keimträger (KT) eingetaucht. Unter S2-Bedingungen werden 100 µl der Probenansätze nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten durch Transfer in 10 ml des Neutralisationsmediums gestoppt. Desinfektionsmittelanalysen unter S3-Bedingungen erfolgen durch Überführen der gesamten Probenansätze (KT + Lösung) in 99 ml Neutralisationsmedium. Aus den jeweiligen Neutralisationsmedien wird anschließend eine Verdünnungsreihe in Trypton-Soja-Bouillon (TSB) hergestellt und die Suspension auf Trypton-Soja-Agar (TSA) in Doppelwerten ausplattiert. Abschließend werden die koloniebildenden Einheiten pro 10 Milliliter (KBE/10 ml) (S2-Bedingungen) bzw. KBE/100 ml (S3-Bedingungen) nach 24 und 48 Std. ermittelt und die Reduktionsfaktoren bestimmt. Eigene Darstellung.



Abbildung 7: Fotografische Darstellung des Versuchs zum re-etablierten Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ im Labor. In (A) ist der realistische Aufbau des Versuchs unter einer Sicherheitswerkbank zur Analyse der Desinfektionsmittelwirksamkeit gegenüber bakteriellen Sporen auf Asservat-Behältermaterial im Tauchbad dargestellt. (B) zeigt das Eintauchen des Keimträgermaterials (Asservat-Behälter) in 1 ml eines Desinfektionsmittels unter Zuhilfenahme einer sterilen Pinzette („Tauchbad“). Eigene Darstellung.

3.2.3 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen

Desinfektionsmittel, welche sich in den Vorversuchen unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad (S2-Bedingungen)“ als ausreichend wirksam erwiesen, wurden weiterführend gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppe 3 (*Bacillus anthracis* 11/38) überprüft. Für diese Analysen fand das Prüfverfahren „Modell A Tauchbad (S3-Bedingungen)“ Anwendung (Abschnitt 3.2.1 Validierung Modell A und Abbildung 6). Durch Verwendung dieses Modells kann eine vollständige Reduktion aller eingesetzten Sporen nachgewiesen werden. Es wurde für eine erfolgreiche Desinfektion eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von mindestens 5 log₁₀-Stufen vorausgesetzt. Die Analyse erfolgte mit dem Chlor abspaltenden Desinfektionsmittel Mini Haz-Tabs, den Peressigsäure-basierten Mitteln Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active sowie dem Aktivsauerstoff-basierten Dismozon® plus. Die Einwirkzeit der Asservat-Behälter im Tauchbad betrug 10 Minuten.

3.2.4 Wirksamkeitsanalysen bei unterschiedlichen Temperaturen

Um den Einfluss von Temperaturunterschieden auf die Desinfektionsmittelwirkung zu analysieren, wurde das Prüfverfahren „Modell A Tauchbad (S2-Bedingungen)“ (Abschnitt 3.2.1 Validierung Modell A und Abbildung 6) jeweils zusätzlich zur Raumtemperatur auch bei 4° und 35 °C durchgeführt. Diese Temperaturen orientieren sich an den im mitteleuropäischen Klima zu erwartenden Werten. Da die Präparate bei einer Temperatur von -20 °C gefrieren würden, wurden keine entsprechenden Experimente für diese Temperatur durchgeführt. Es handelt sich hierbei um angestrebte Temperaturwerte, die jedoch versuchsbedingten Schwankungen unterliegen können. Im Versuch tatsächlich gemessene Temperaturen sind im Ergebnisteil mit einem (*) vermerkt. Die Überprüfung erfolgte nur mit denjenigen Desinfektionsmitteln, welche bereits in den Vorversuchen gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350- (Abschnitt 4.2.2) sowie *B. anthracis*-11/38-Sporen (Abschnitt 4.2.3) ausreichende Wirksamkeit zeigten. Zu diesen Mitteln zählen die Chlor abspaltenden Mini Haz-Tabs sowie die Peressigsäure-basierten Mittel Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active. Für die Durchführung der Tauchbaddesinfektion mittels des „Prüfverfahrens Modell A Tauchbad“ bei angestrebten 4 °C und 35 °C wurden folgende Änderungen vorgenommen:

Die Desinfektionsmittel wurden direkt vor und während des Versuchs auf die entsprechende Temperatur vorgekühlt bzw. vorgewärmt. Um die Desinfektionsmittel im Versuch auf die gewünschte Temperatur zu kühlen bzw. zu erwärmen und diese für die gesamte Einwirkzeit stabil zu halten, wurden Kühlracks PolarSafe™ (Carl Roth GmbH) bzw. Eppendorf ThermoMixer® C (Eppendorf AG) eingesetzt. Die Temperaturbestimmung der Desinfektionsmittel erfolgte unmittelbar im Versuch

vor Beginn der Desinfektion. Diese Werte sind jeweils als Mittelwerte der Versuche angegeben und in den Abbildungen des Ergebnisteils vermerkt. Die Einwirkzeit im Tauchbad betrug 10 Minuten.

3.3.1 Bestimmung von Wirkstoffkonzentrationen und Haltbarkeit

Um die Stabilität sowie die genaue Konzentration der Wirkstoffe in den Desinfektionsmitteln Hypochlorit-CA G und Wofasteril® SC super zu ermitteln, wurden standardisiert iodometrische Titrations wöchentlich und im Zeitverlauf durchgeführt. Auf diese Weise erfolgte die Konzentrationsbestimmung an Chlor in Hypochlorit-CA G sowie Peressigsäure in Wofasteril® SC super und auch in Wofasteril®.

Titration von Chlor. Für die Titration von Chlor in Hypochlorit-CA G wurde stets eine 1%ige Gebrauchslösung (1 g in 100 ml ddH₂O) hergestellt. 50 ml einer 0,5%-Kaliumiodid-Lösung werden hierbei in einem 300-ml-Erlenmeyerkolben unter stetigem Rühren mit 10 ml einer 12%igen Essigsäurelösung versetzt sowie 200 µl einer 1%igen Stärkelösung hinzugegeben. Die Herstellung einer 1%igen Stärkelösung erfolgt, indem 1 g Stärke in 100 ml ddH₂O gelöst, aufgekocht und abgekühlt wird (Haltbarkeit maximal 4 Wochen). Anschließend erfolgt die Zugabe der 1%igen Hypochlorit-CA G-Lösung, wobei ein Farbumschlag nach braun zu beobachten ist. Durch schnelle tropfenweise Zugabe einer 0,1-N-Natriumthiosulfat-Lösung (Na₂S₂O₃) aus einer geeichten Bürette wird dann der Anteil an Chlor über einen Farbumschlag von braun über violett bis farblos titriert. Abschließend erfolgt die Bestimmung der Chlor-Konzentration über das Volumen an verbrauchtem 0,1-N-Natriumthiosulfat und folgende Formel:

$$\% \text{ Chlor} = \frac{\text{ml } 0,1 \text{ N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 3,543}{10 \times \text{ml Probe}}$$

Titration von Peressigsäuren. Die Titration der Peressigsäure erfolgte mit einer 10%igen Wofasteril® SC super-Lösung in ddH₂O (1 zu 1 mit Alcapur®) bzw. einer unverdünnten Wofasteril®-Lösung. In einem 300-ml-Erlenmeyerkolben werden zu 100 ml Eiswasser unter Rühren 10 ml einer 5%igen ortho-Phosphorsäure, ca. 200 mg Kaliumjodid sowie 200 µl einer 1%igen Stärkelösung gegeben. Nach Zugabe von 1 ml bzw. 25 µl Peressigsäure-Lösung wird sofort unter ständigem Rühren 0,1-N-Natriumthiosulfat-Lösung (Na₂S₂O₃) über einen Farbumschlag von braun über violett nach farblos titriert. Die Peressigsäure-Konzentration wird

folgend über das verbrauchte Volumen an Natriumthiosulfat mit folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Peressigsäure} = \frac{\text{ml } 0,1 \text{ N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 3,803}{10 \times \text{ml Probe}}$$

3.3.2 Verträglichkeit der Desinfektionsmittel für Umwelt, Mensch und Material

Die Überprüfung der Verträglichkeit der Desinfektionsmittel gegenüber Umwelt, Mensch und Material unterlag im Projekt GranPSA keiner normgerechten bzw. standardisierten Analyse und waren nur auszugswise Gegenstand der hier vorliegenden Untersuchung. Beobachtungen während der Versuche sowie Literatur- und Sicherheitsdatenblatt-basierte Ergebnisse konnten zur theoretischen Beurteilung für die im Projekt GranPSA näher untersuchten Mittel Hypochlorit-CA G und Wofasteril® SC super herangezogen werden.

Neben einer visuellen und theoretischen Beurteilung der Desinfektionsmittelverträglichkeit für Material und Umwelt wurde zusätzlich eine Überprüfung der Geruchsverträglichkeit für den Anwender vorgenommen. Diese erfolgte mit Personal des Robert Koch-Instituts in Anlehnung an die Richtlinie „Olfaktometrie. Bestimmung der Geruchsintensität“ (Tabelle 5) (Verband Deutscher Ingenieure, 1992). Das Ermitteln der „Geruchsintensität“ wurde vergleichend für die Desinfektionsmittellösungen Hypochlorit-CA G/Alcapur®, Wofasteril® SC super/Alcapur® sowie Wofasteril®/Alcapur® N durchgeführt. Hierzu wurden entsprechende sporizide Gebrauchslösungen von je 10 ml in 100-ml-Schottflaschen hergestellt. Als Kontrollen dienten Lösungen aus 0,5% Alcapur N und 1,5 % Alcapur® in ddH₂O bzw. ddH₂O ohne Zusatz. Die Probanden wurden einzeln ins Labor gebeten. Die Bewertung des Geruchs erfolgte durch zweimaliges chemisches Fächeln und anschließende Angabe einer Geruchsstufe (Tabelle 5). Zur Neutralisation zwischen den einzelnen Geruchsproben wurde frisches Kaffeepulver verwendet. Nach drei Probanden wurden zudem die Desinfektionsmittellösungen ausgetauscht sowie das Labor wegen zunehmender Verbreitung des Desinfektionsmittelgeruchs gewechselt.

Tabelle 5: Einstufungen der Geruchsintensität nach VDI 3882 Blatt 1 (Verband Deutscher Ingenieure, 1992)

| Stufe | Geruchsbeschreibung |
|-----------------------|----------------------------|
| kein Geruch | 0 |
| sehr schwacher Geruch | 1 |
| schwacher Geruch | 2 |
| deutlicher Geruch | 3 |
| starker Geruch | 4 |
| sehr starker Geruch | 5 |
| extrem starker Geruch | 6 |

Ergebnisse und Bewertung

4



Testorganismen. Für die Untersuchung zur Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegenüber biologischen Agenzien auf PSA und Einsatzmaterialien wurden in den beiden Projekten GranPSA und GranuTa ausschließlich *Bacillus*-Sporen verwendet. Da nicht alle Experimente mit hochpathogenen Stämmen durchgeführt werden konnten und zudem ein möglichst breites Spektrum an Erregern untersucht werden sollte, wurden verschiedene *Bacillus*-Spezies in die Untersuchung mitaufgenommen. Vorab erfolgte eine Überprüfung der Qualität der Sporenpräparationen. Hierfür wurden der Verklumpungsgrad der Sporen ermittelt, die KBE/ml im Zeitverlauf bestimmt und die Tenazität der jeweiligen *Bacillus*-Spezies normgerecht analysiert (Deutsches Institut für Normung e. V., 2005) (Abbildung 8).

Vorangegangene Experimente in ZBS 2, denen mikroskopische Untersuchungen und KBE-Bestimmungen zu Grunde liegen, deuten auf eine Verklumpung von *Bacillus*-Sporen hin. So ist dieser Effekt in anderen Arbeiten bereits mehrfach auch in Zusammenhang mit einer erhöhten Inaktivierungsresistenz beschrieben (Furukawa et al., 2005, Furukawa et al., 2006, Almeida et al., 2008). Aus diesem Grund ist eine KBE-Bestimmung der hier verwendeten Sporen vergleichend in H₂O und 0,1 % Triton X-100 durchgeführt worden (Abbildung 8 A). Die Bestimmung der KBE/ml zeigt nicht nur eine Verklumpung der Sporen, sondern auch Unterschiede in der Stärke der Verklumpung zwischen den hier analysierten *Bacillus*-Spezies. Sporen von *B. subtilis* ATCC 6633 wiesen gegenüber allen anderen untersuchten Stämmen die geringste Verklumpung auf (KBE/ml H₂O: $1,59 \times 10^8$; KBE/ml Triton X-100: $2,05 \times 10^8$). Dies ist vermutlich auf das Fehlen eines Exosporiums zurückzuführen. Im Vergleich dazu konnte bei *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen die stärkste Verklumpung festgestellt werden. So lag die KBE/ml in H₂O bei $3,36 \times 10^7$. Vergleichend zeigte die KBE-Bestimmung derselben Charge in Triton X-100 eine KBE/ml von $1,96 \times 10^9$. Ein ähnlicher, wenn auch nicht so großer Effekt ließ sich auch bei den anderen *Bacillus*-Sporen beobachten. Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurden alle in diesen Untersuchungen verwendeten Sporen, ausgenommen *B. subtilis* ATCC 6633, in 0,1 % Triton X-100 aufgenommen. Dies sollte eine möglichst genaue und gleichbleibende KBE/ml für die hier durchgeführten Experimente gewährleisten.

Um einen möglichen negativen Einfluss von Triton X-100 auf die Vitalität der Sporen auszuschließen, wurde eine erneute KBE-Bestimmung nach mehreren

Monaten durchgeführt (Abbildung 8 B). Es zeigte sich, dass die Zugabe keine Auswirkung auf die Anzahl keimungsfähiger Sporen hatte. So blieben die KBE/ml über den jeweiligen Zeitraum von 3 bis 7 Monaten relativ stabil. Zudem ließen sich mikroskopisch keine morphologischen Veränderungen beobachten. Diese Ergebnisse lassen auf den Erhalt der Keimungsfähigkeit der Sporen auch nach Triton-X-100-Zugabe schließen. Dies ist nicht nur für Triton X-100, sondern bereits auch für andere Detergenzien beschrieben (Almeida et al., 2008).

Zusätzlich wurden die nach DIN 14347 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2005) produzierten Sporen hinsichtlich ihrer Tenazität, also ihrer chemischen Toleranz gegenüber Peressigsäure, untersucht (Abbildung 8 C; Tabelle 3). Dabei wiesen *B. anthracis*-Sterne-Sporen mit $5,14 \log_{10}$ -Stufen die geringste Tenazität gegenüber 0,01 % Peressigsäure auf. Die höchste Tenazität gegenüber 0,05 % Peressigsäure zeigten erwartungsgemäß die umweltstabilen *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen mit $1,86 \pm 0,58 \log_{10}$ -Stufen. Auch die hochpathogenen Risikogruppe-3-*B. anthracis*-11/38- ($1,94 \log_{10}$ -Stufen) und 22/39-Sporen ($2,52 \log_{10}$ -Stufen) wiesen hohe Tenazitäten gegenüber 0,05 % Peressigsäure auf. Die in der Norm vorgegebenen Tenazitätswerte für *B. subtilis* (0,05 % PES = $2,4 \pm 0,4 \log_{10}$ -Stufen) und *B. cereus* (0,1 % PES = $1,25 \pm 0,5 \log_{10}$ -Stufen) konnten trotz normgerechter Herstellung der Sporen nicht erreicht werden. Für die restlichen Sporen liegen keine Normvorgaben vor. Diese Beobachtungen stimmen jedoch mit früheren Projektergebnissen (Lemmer et al., 2012) und Ergebnissen von ZBS 2 (nicht publizierte Daten) überein. Es ist zudem anzunehmen, dass nicht nur zwischen Sporen verschiedener *Bacillus*-Spezies unterschiedliche Sensitivitäten gegenüber Peressigsäure vorliegen (Hilgren et al., 2009, March et al., 2015), sondern diese auch innerhalb einer Spezies stammespezifisch variieren könnten. Weiterführende Analysen wären diesbezüglich von großem Interesse.

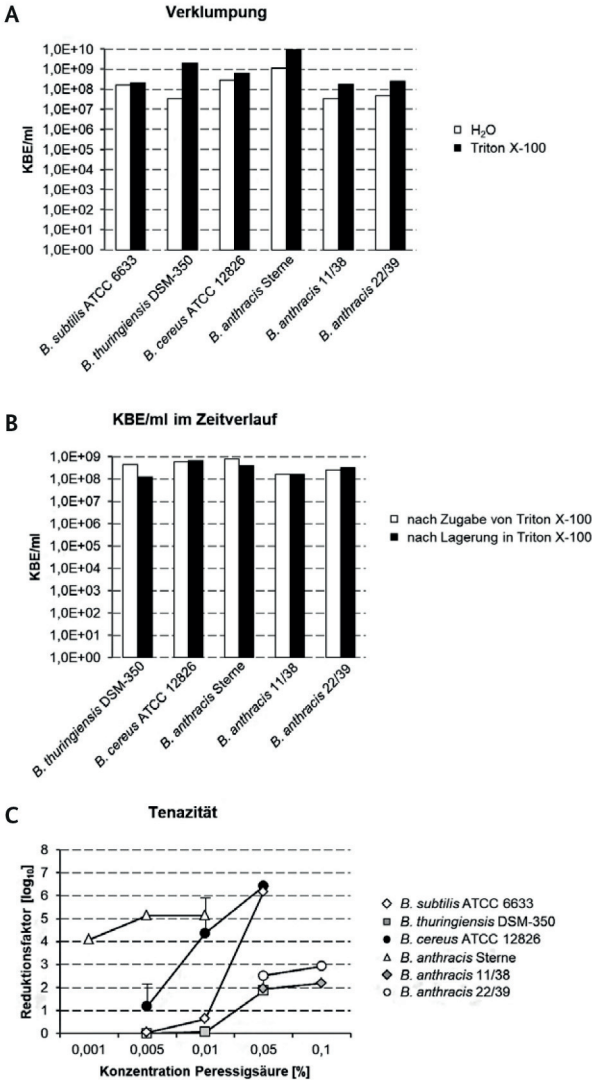


Abbildung 8: Verklumpung, Qualität und Tenazität verwendeter *Bacillus*-Sporen. Gezeigt sind die koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KBE/ml) von (A) in ddH₂O gelagerten *Bacillus*-Sporen, die vergleichend in ddH₂O oder 0,1 % Triton X-100 bestimmt wurden, sowie von (B) in 0,1 % Triton X-100 gelagerten Sporen im Zeitverlauf (3 bis 7 Monate) (n = 1). In Graph (C) sind die Tenazitäten einzelner in 0,1 % Triton X-100 gelagerter *Bacillus*-Sporen dargestellt (: n = 1–3). Die Analyse erfolgte nach DIN EN 14347 mit 0,001 %, 0,005 %, 0,01 % und 0,05 % Peressigsäure (Wofasteril®). Die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] ergeben sich aus der Reduktion keimungsfähiger Sporen in Abhängigkeit von ihrer Exposition gegenüber den verschiedenen Peressigsäure-Konzentrationen. Eigene Darstellung.

Ziel des Projektes GranPSA – Überprüfung der Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittelgranulaten für die Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung – war es, über ein praxisnahes Prüfverfahren verschiedene Desinfektionsmittel auf deren Einsetzbarkeit für die Desinfektion von PSA in biologischen Gefahrenlagen zu testen.

4.1.1 Identifikation von auf PSA sporiziden Desinfektionsmitteln

Um zunächst geeignete, das heißt gegen Sporen wirksame Desinfektionsmittel zu identifizieren, wurden zu Beginn der Arbeiten die unterschiedlichen Desinfektionsmittel auf ihre Wirksamkeit gegenüber den wenig robusten *B. subtilis*-ATCC-6633- und den widerstandsfähigeren *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen getestet (Tabelle 3). Diese als Surrogat für pathogene *B. anthracis*-Stämme verwendeten Risikogruppe-1-Erreger sollten sicher und schnell Aufschluss darüber geben, welche Produkte generell für die Desinfektion von PSA geeignet sind. Es wurden insgesamt neun Desinfektionsmittelgranulate auf Basis von drei unterschiedlichen Wirkstoffen sowie ein flüssiges Peressigsäurepräparat zunächst auf ihre Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T überprüft (Tabelle 1). In diesen Voruntersuchungen wurden die Gebrauchslösungen nach Angaben der Hersteller (Tabelle 2) mit den entsprechenden Wirkstoffkonzentrationen und anschließend auch mit abweichend höhere Konzentrationen geprüft.

Chlor abspaltende Desinfektionsmittel. In der Gruppe der Chlor abspaltenden Desinfektionsmittel wurden insgesamt drei Granulate hinsichtlich ihrer sporeninaktivierenden Wirkung überprüft (Abbildung 9).

Hypochlorit-CA G enthält nach Angaben des Herstellers zu 70 % den oxidierenden Feststoff Calciumhypochlorit (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2013). Eine nach Herstellerangaben angesetzte Gebrauchslösung von 0,0015 % Hypochlorit-CA G sollte demnach einen Wirkstoffgehalt von 0,00105 % Chlor aufweisen. Ergebnisse aus einer vorangegangenen Arbeit mit Natriumhypochlorit zeigten jedoch, dass vergleichbar niedrige Konzentrationen an Chlor kaum Wirksamkeit gegenüber Sporen bei der Desinfektion von PSA

aufweisen (Lemmer et al., 2012). In Anlehnung an diese Arbeit wurde Hypochlorit-CA G daher abweichend von den Herstellerangaben mit einer Konzentration von 1,75 % Chlor untersucht. So erzielte Hypochlorit-CA G (1,75 % Chlor)/0,2 % SDS gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen lediglich eine geringe Reduktion von 1,84 \log_{10} -Stufen bei einer maximalen Einwirkzeit von 10 Minuten (Abbildung 9 A, links). Eine Erhöhung der Konzentration auf 3,5 % Chlor führte bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten bereits zu einer verbesserten Sporenreduktion gegenüber *B. thuringiensis* DSM-350-Sporen auf $4,55 \pm 0,55 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 9 A, rechts). Auch wenn diese nicht der angestrebten Sporenreduktion von 5 bis 6 \log_{10} -Stufen entsprach, so war jedoch anzunehmen, dass eine zusätzliche Konzentrationserhöhung die Wirksamkeit weiter verbessert. So konnte mit einer Konzentration von 5,25 % Chlor eine Sporenreduktion von 6,77 \log_{10} -Stufen erzielt werden.

Bei Halamid® handelt es sich um ein Granulat, welches zu ≥ 98 % aus Chloramin T Trihydrat besteht (Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH, 2018). Das Granulat wurde in einer Gebrauchslösung nach Herstellerangaben (Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH, 2008) mit einer Chlor-Konzentration von 0,5 % sowie von 1,0 % überprüft. Sowohl Halamid® (0,5 % Chlor)/ohne Tensid als auch Halamid® (1,0 %)/ohne Tensid zeigten keine ausreichende Wirksamkeit gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633- (1,20 \log_{10} -Stufen) und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (1,67 \log_{10} -Stufen) (Abbildung 9 B).

Die Zusammensetzung von Chlorifix® basiert zu > 98 % auf dem Wirkstoff Natriumdichlorisocyanurat dihydrat mit einem Chlor-Gehalt von 56 % (BAYROL Deutschland GmbH, 2018a). Dieses Granulat wurde zunächst mit der doppelten Chlor-Konzentration von 0,00224 % (0,004%ige Gebrauchslösung) nach Herstellerangaben (BAYROL Deutschland GmbH, 2018b) gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen überprüft. Die Gebrauchslösung Chlorifix® (0,00224 % Chlor)/0,2 % SDS erzielte lediglich eine Reduktion keimungsfähiger *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen von 0,15 \log_{10} -Stufen nach 10-minütiger Einwirkzeit (Abbildung 9 C, rechts). Daher wurde eine höher konzentrierte Gebrauchslösung mit 8,47 % Chlor getestet. Trotz der hohen Chlor-Konzentration konnte sowohl für *B. subtilis*-ATCC-6633- (1,54 \log_{10} -Stufen) als auch *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (2,30 \log_{10} -Stufen) keine ausreichende Sporenreduktion bei 10-minütiger Einwirkzeit nachgewiesen werden (Abbildung 9 C).

Aus der Gruppe der Chlor abspaltenden Produkte erwies sich lediglich das Granulat Hypochlorit-CA G mit einer Chlor-Konzentration von 5,25 % als vielversprechend für die Desinfektion von PSA. Es ist zu vermuten, dass die geringen Wirkstoffkonzentrationen sowie die chemische Zusammensetzung der Desinfektionsmittelgranulate die Wirksamkeit gegenüber Sporen im verwendeten Verfahren limitieren. Darüber hinaus wird keines der hier getesteten Chlor

abspaltenden Granulate als wirksam gegenüber bakteriellen Sporen vertrieben. Deren Anwendungsgebiete sind zudem üblicherweise auf die „Wasserpflege“ sowie Desinfektion in der Tierhaltung beschränkt. Zudem sind die Anforderungen des hier angewandten Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) sehr hoch und weichen von den Testverfahren ab, die für den eigentlichen Anwendungsbereich durch die Hersteller verwendet werden. Diese sind außerdem häufig mit längeren Einwirkzeiten verbunden. Hypochlorit-CA G wurde folgend in die weiterführenden Untersuchungen zur exakten Bestimmung der sporiziden Desinfektionsmittelkonzentration, der Wirksamkeit bei Temperaturunterschieden und bei organischer Belastung sowie Stabilität und Geruch aufgenommen (Abschnitt 4.1.2).

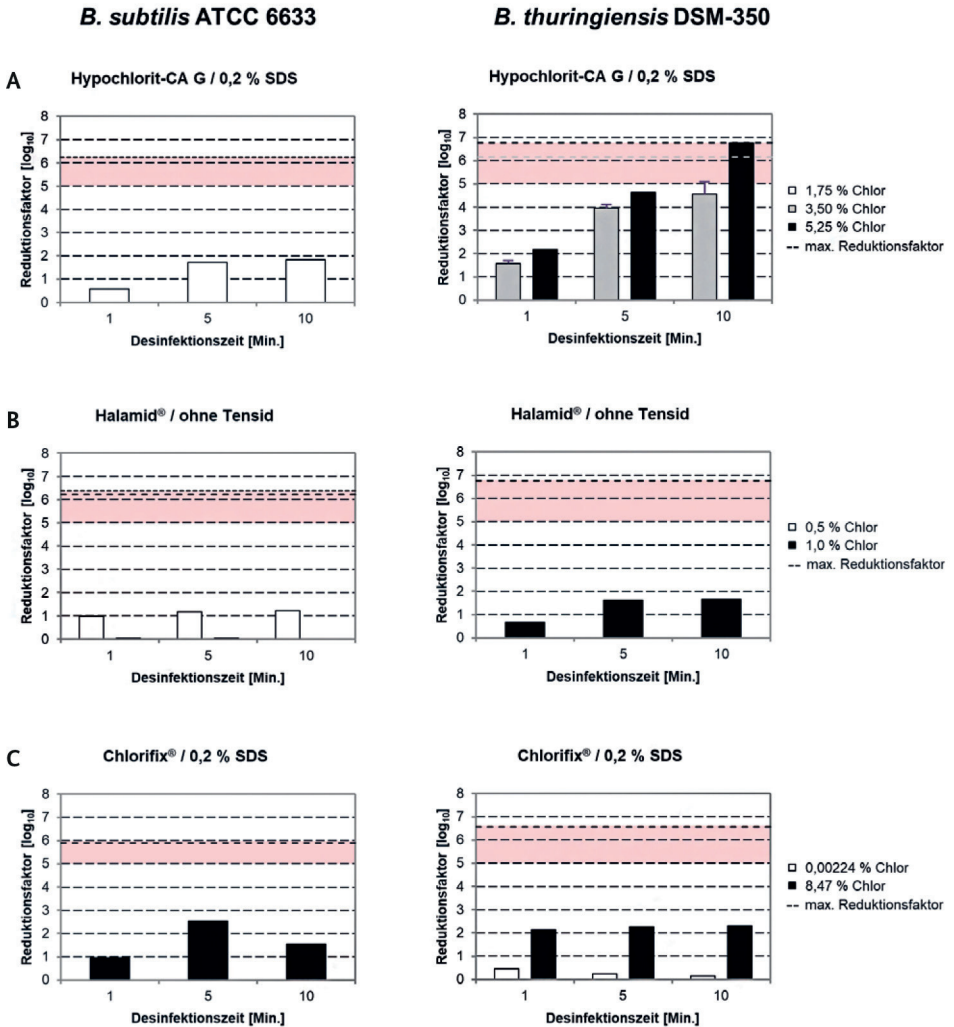


Abbildung 9: Wirksamkeit von Chlor-basierten Desinfektionsmittelgranulaten gegenüber *B. subtilis*-ATCC-3366- und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Die Diagramme zeigen die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittelgranulate in Abhängigkeit von deren Wirkstoffkonzentration und Einwirkzeit auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T unter Verwendung des Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung. Abgebildet ist die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G/0,2 % SDS (A: n = 2), Halamid®/ohne Tensid (B: n = 1) und Chlorifix®/0,2 % SDS (C: n = 1) gegenüber Sporen von *B. subtilis* ATCC 3366 (links) und *B. thuringiensis* DSM-350 (rechts). Eigene Darstellung.

Peressigsäure-basierte Desinfektionsmittel. In der Gruppe der Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittel wurde neben zwei Granulaten auch ein zusätzliches flüssiges Peressigsäure-Präparat auf seine Wirksamkeit gegenüber Sporen auf PSA untersucht (Abbildung 10).

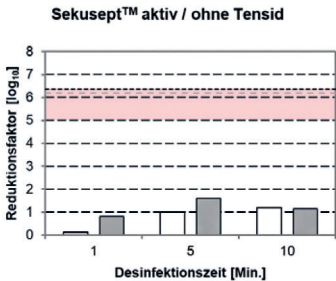
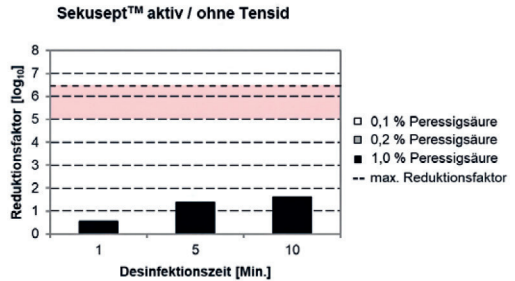
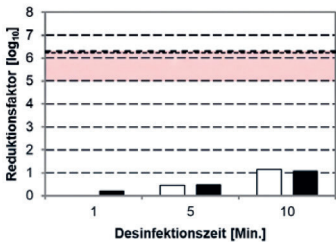
Das Granulat Sekusept™ aktiv weist laut Hersteller in einer 2%igen Gebrauchslösung einen Peressigsäure-Gehalt von $> 0,1\%$ auf (Ecolab Healthcare Europe, 2018). Weder Sekusept™ aktiv ($0,1\%$ Peressigsäure)/ohne Tensid ($1,19 \log_{10}$ -Stufen) noch Sekusept™ aktiv ($0,2\%$ Peressigsäure)/ohne Tensid ($1,13 \log_{10}$ -Stufen) zeigten eine ausreichende Wirksamkeit gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen bei einer maximalen Einwirkzeit von 10 Minuten (Abbildung 10 A, links). Die Wirksamkeit dieses Produktes wurde zusätzlich mit einer Peressigsäure-Konzentration von 1% gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen überprüft. Obgleich dies einer sporiziden Peressigsäure-Konzentration in Wofasteril® entsprach (Lemmer et al., 2012), konnte hier nur eine sehr geringe Reduktion keimungsfähiger *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen um $1,61 \log_{10}$ -Stufen nachgewiesen werden (Abbildung 8 A, rechts).

Die 1%ige Gebrauchslösung des Desinfektionsmittelgranulats neodisher® endo DIS active enthält nach Herstellerangaben $0,15\%$ Peressigsäure (Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, 2017). neodisher® endo DIS active/ohne Tensid wurde in einer Anwendungslösung mit $0,15\%$ und $0,3\%$ Peressigsäure gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633- und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen getestet (Abbildung 10 B). Weder mit einer Konzentration von $0,15\%$ ($1,14 \log_{10}$ -Stufen) noch mit $0,3\%$ Peressigsäure ($1,08 \log_{10}$ -Stufen) wurde eine ausreichende Reduktion keimungsfähiger *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen bei maximaler Einwirkzeit von 10 Minuten nachgewiesen. Auch die Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen war mit $1,46 \log_{10}$ -Stufen nicht ausreichend (Abbildung 10 B, rechts).

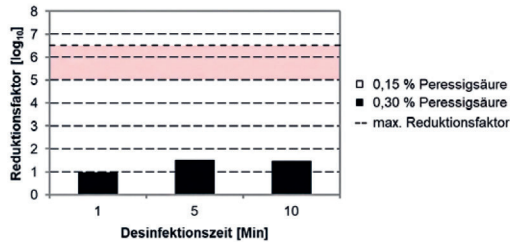
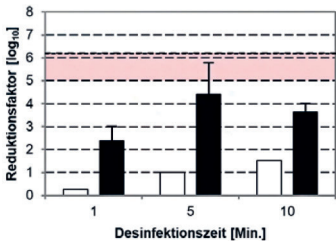
Als zusätzliches flüssiges Peressigsäure-basiertes Desinfektionsmittel wurde das Wofasteril®-Nachfolgeprodukt Wofasteril® SC super getestet. Dieses enthält nach Herstellerangaben zwischen 11% und 15% Peressigsäure (Kesla Hygiene AG, 2018). Eine Gebrauchslösung soll außerdem aus $1,5\%$ Wofasteril® SC super und $1,5\%$ des Pufferadditivs Alcapur® hergestellt werden (Kesla Hygiene AG, 2019a). Dies entspricht einer Peressigsäure-Endkonzentration zwischen $0,165\%$ und $0,225\%$. Mit Wofasteril® SC super ($0,165\%$ Peressigsäure)/ $1,5\%$ Alcapur® konnte lediglich eine Reduktion keimungsfähiger *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen von $1,52 \log_{10}$ -Stufen bei 10-minütiger Einwirkzeit nachgewiesen werden (Abbildung 10 C, links). Durch eine Erhöhung der Peressigsäure-Konzentration auf $0,33\%$ verbesserte sich diese jedoch auf vielversprechende $3,63 \pm 0,37 \log_{10}$ -Stufen. Eine vergleichende Analyse gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen zeigte erwartungsgemäß niedrigere Reduktionsfaktoren von $1,42 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 10 C, rechts). Bei einer Erhöhung der Peressigsäure-Konzentration auf 1% , die einer sporiziden Konzentration

des Vorgängerproduktes Wofasteril® entspricht (Lemmer et al., 2012), ist anzunehmen, dass die Reduktion der Sporenzahl auf vergleichbare Werte ansteigt.

Aus der Gruppe der Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittel wies nach diesen Analysen daher nur das flüssige Produkt Wofasteril® SC super eine vielversprechende Sporizidie auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T auf. Keines der hier getesteten Granulate konnte zunächst für die Desinfektion von PSA überzeugen. Es ist zu vermuten, dass zum einen die geringen Peressigsäure-Konzentrationen und zum anderen die Chemikalienszusammensetzungen die Wirksamkeit der Desinfektionsmittelgranulate beeinflussen. Darüber hinaus wurden die von den Herstellern als sporizid angegebenen Konzentrationen abweichend gegenüber Sporen von *Clostridium difficile* und nicht im Verfahren „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) getestet. Obwohl Wofasteril® SC super als ein flüssiges Desinfektionsmittel von den Projektvorgaben, Granulate zu überprüfen, abweicht, wurde es in die weiterführenden Untersuchungen zur Wirksamkeit bei Temperaturunterschieden und organischer Belastung sowie Stabilität und Geruch aufgenommen (Abschnitt 4.1.2).

A *B. subtilis* ATCC 6633*B. thuringiensis* DSM-350**B** neodisher endo® DIS active / ohne Tensid

neodisher endo® DIS active / ohne Tensid

**C** Wofasteril® SC super / 1,5 % Alcapur®

Wofasteril® SC super / 1,5 % Alcapur®

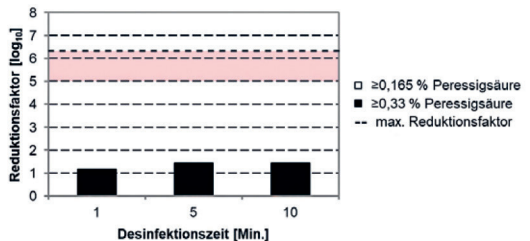


Abbildung 10: Wirksamkeit von Peressigsäure-basierten Desinfektionsmitteln gegenüber *B. subtilis*-ATCC-3366- und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Abgebildet sind die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von deren Wirkstoffkonzentration und Einwirkzeit auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T unter Verwendung des Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung. Die Diagramme zeigen die Wirksamkeit von Sekusept™ aktiv/ohne Tensid (A: n = 1), neodisher® endo DIS active/ohne Tensid (B: n = 1) sowie Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® (C) gegenüber Sporen von *B. subtilis* ATCC 3366 (links: n = 1/3) und *B. thuringiensis* DSM-350 (rechts: n = 1). Eigene Darstellung.

Aktivsauerstoff-basierte Desinfektionsmittelgranulate. In der Gruppe der Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittel wurden insgesamt vier Granulate auf ihre Wirksamkeit gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633- und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen getestet (Abbildung 11).

Hauptbestandteil des Granulats Perform[®] ist Pentakaliumbis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) mit einem Gehalt von 45 % (Schülke & Mayr GmbH, 2017). Das Granulat weist nach Herstellerangaben einen Aktivsauerstoffgehalt von 2 % auf (Schülke & Mayr GmbH, 2019). Abweichend von den Vorgaben wurde eine 2%ige Lösung Perform[®] mit 0,04 % Aktivsauerstoff/ohne Tensid überprüft. Diese blieb bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten nahezu unwirksam gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633- (0,63 log₁₀-Stufen) und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (0,53 log₁₀-Stufen) (Abbildung 11 A).

Das Desinfektionsmittelgranulat Dismozon[®] plus besteht nach Herstellerangaben zu ≥ 90 bis ≤ 100 % aus Magnesium monoperoxyphthalat Hexahydrat (BODE Chemie GmbH, 2015). Eine 2,8%ige Gebrauchslösung weist zudem eine Aktivsauerstoff-Konzentration von 0,13 % auf (BODE Chemie GmbH, 2020). Gegenüber *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen zeigte Dismozon[®] plus (0,13 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid, bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten lediglich eine Reduktion von 0,42 log₁₀-Stufen. Eine Erhöhung der Aktivsauerstoff-Konzentration auf 0,26 % führte bei gleicher Einwirkzeit zu keiner Verbesserung der Wirksamkeit (0,37 log₁₀-Stufen) (Abbildung 11 B, links). Obgleich der Reduktionsfaktor für *B. thuringiensis* DSM-350 bei einer Aktivsauerstoff-Konzentration von 0,26 % bei gleicher Einwirkzeit mit 1,51 log₁₀-Stufen etwas höher lag, so war dieses Mittel dennoch nicht ausreichend wirksam (Abbildung 11 B, rechts).

Hauptbestandteil des Granulats Descogen[®]-I ist Pentakalium-bis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) (Caroat) mit einer Konzentration von 60 g/100 g und einem Aktivsauerstoffgehalt von 4,5 % (ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2016, ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2019). Eine 1,5%ige Gebrauchslösung weist demnach eine Aktivsauerstoff-Konzentration von 0,0405 % auf. Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten erzielte Descogen[®]-I/ohne Tensid mit einer Aktivsauerstoff-Konzentration von 0,081 % eine Reduktion keimungsfähiger *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen von 1,32 log₁₀-Stufen und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen von 0,31 log₁₀-Stufen (Abbildung 11 C). Auch dieses Granulat war nahezu wirkungslos gegenüber den hier verwendeten *Bacillus*-Sporen.

Hauptbestandteil des Desinfektionsmittelgranulates Virkon[®] S ist Pentakalium-bis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) mit einer Konzentration von ≥ 40 bis ≤ 55 % (Antec International Limited, 2015). Eine 1%ige Gebrauchslösung nach Herstellerangaben weist zudem 0,1035 % Aktivsauerstoff auf (AGRAVIS Raiffeisen AG, 2019).

Dieses Mittel wurde zunächst nur gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen getestet (Abbildung 11 D). Nach 10-minütiger Einwirkzeit blieb Virkon® S (0,1035 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid nahezu wirkungslos gegenüber diesen Sporen (0,08 log₁₀-Stufen). Auch eine Verdopplung der Aktivsauerstoff-Konzentration auf 0,2070 % zeigte eine nur unwesentliche Verbesserung der Wirksamkeit auf 1,27 log₁₀-Stufen.

Für keines der Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittelgranulate konnte demnach eine ausreichende Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T nachgewiesen werden. Es ist anzunehmen, dass dies auf eine zu geringe Wirkstoffkonzentration sowie die Chemikalienzusammensetzung zurückzuführen ist. Auch wenn Dismozon® plus und Descogen®-I nach Herstellerangaben Wirksamkeit gegenüber Sporen aufweisen sollen (ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2016, BODE Chemie GmbH, 2015), so wurde diese gegenüber Sporen von *Clostridium difficile* darüber hinaus auf Basis von Prüfmethoden ermittelt, welche von dem hier verwendeten Verfahren „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) abweichen. Es erfolgte, mit Ausnahme von Virkon® S, mit keinem dieser Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittelgranulate eine weiterführende Untersuchung.

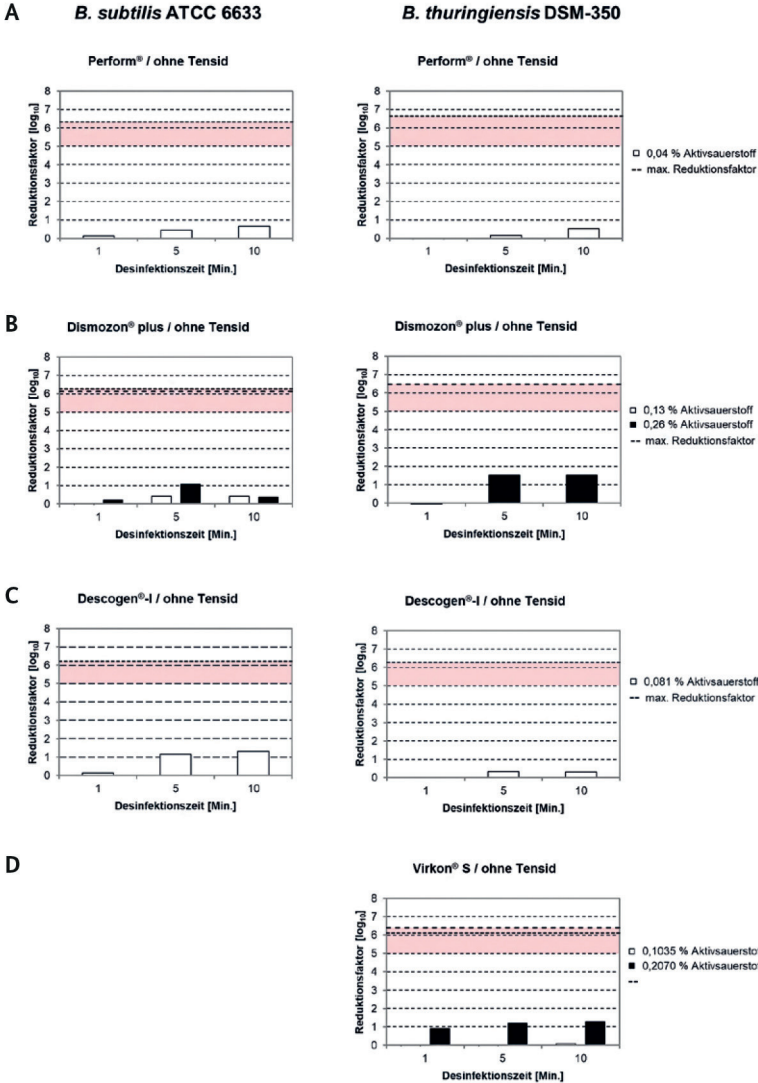


Abbildung 11: Wirksamkeit von Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittelgranulaten gegenüber *B. subtilis*-ATCC-3366- und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Gezeigt sind die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittelgranulate in Abhängigkeit von der Konzentration an Aktivsauerstoff und Einwirkzeit, auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung. Die Graphen zeigen die Wirksamkeit von Perform®/ohne Tensid (A: n = 1), Dismozon® plus/ohne Tensid (B: n = 1), Descogen®-I/ohne Tensid (C: n = 1) sowie Virkon® S/ohne Tensid (D: n = 1) gegenüber *B. subtilis*-ATCC-3366- (links) und *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (rechts). Eigene Darstellung.

Wirksamkeit unterschiedlicher Desinfektionsmittel bei Feuchthalten des Keimträgers. Da zwei der insgesamt zehn untersuchten Desinfektionsmittel als vielversprechend sporizid getestet wurden, sollte nun geprüft werden, ob die Wirkung dieser Mittel durch Feuchthalten des Keimträgers (Mehrfachdesinfektion) weiter verbessert werden kann. Neben Hypochlorit-CA G und Wofasteril® SC super wurde außerdem Virkon® S auf eine verbesserte keimreduzierende Wirkung unter Verwendung dieser Methode getestet (Abbildung 12). Für diese Untersuchungen wurde das Verfahren „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) angewandt, jedoch erneut Desinfektionsmittel aufgetragen, wenn der erste Flüssigkeitsfilm getrocknet war (Mehrfachdesinfektion).

Für eine Lösung Hypochlorit-CA G/0,2 % SDS mit einer Chlor-Konzentration von 3,5 % konnte keine verbesserte Wirksamkeit – weder nach 5- noch nach 10-minütiger Einwirkzeit – festgestellt werden (Abbildung 12 A). So betragen die Reduktionsfaktoren nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten 3,79 \log_{10} -Stufen (normal) gegenüber 3,63 \log_{10} -Stufen (Feuchthalten). Interessanterweise verschlechterte sich die Wirksamkeit nach 10-minütiger Einwirkzeit tendenziell von 5,10 \log_{10} -Stufen (normal) auf 3,85 \log_{10} -Stufen (Feuchthalten).

Eine Gebrauchslösung Wofasteril® SC super/0,5 % Alcapur® mit 0,55 % Peressigsäure zeigte hingegen eine Verbesserung der sporenreduzierenden Wirkung (Abbildung 12 B). So steigerten sich die Reduktionsfaktoren von 2,06 auf 3,31 \log_{10} -Stufen nach 5 Minuten und von 2,52 auf 4,41 \log_{10} -Stufen nach 10 Minuten Einwirkzeit.

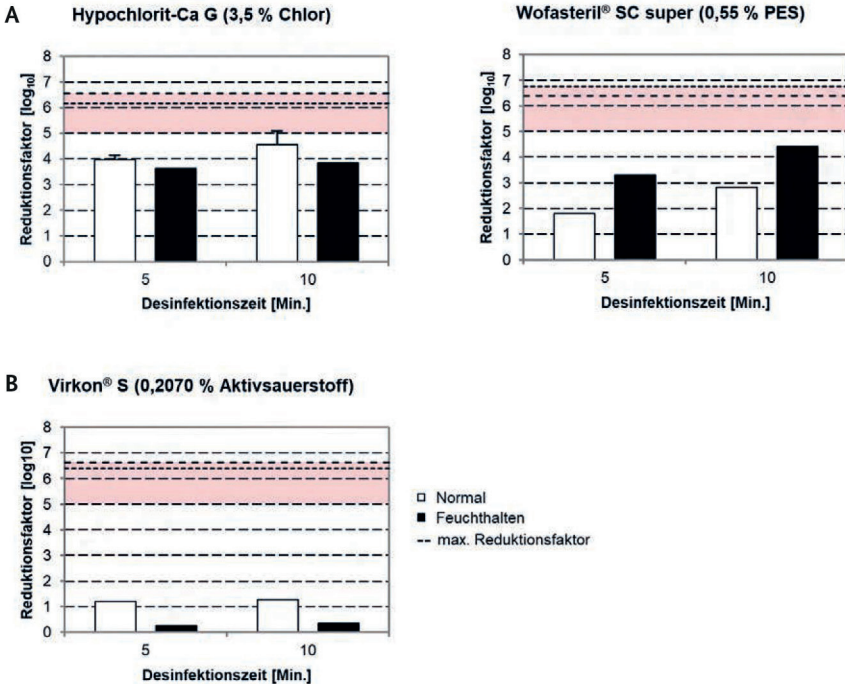


Abbildung 12: Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen durch Feuchthalten des Keimträgers. Die Graphen zeigen die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von deren Einwirkzeit und Konzentration auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T unter Verwendung des Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ (Normal) im Vergleich zur Mehrfachdesinfektion (Feuchthalten) nach 48 Std. Kultivierung. Dargestellt ist die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G (3,5 % Chlor)/0,2 % SDS (A: n = 1/2), Wofasteril® SC super (0,55 % Peressigsäure (PES))/0,5 % Alcapur® N (B: n = 1) sowie Virkon® S (0,2070 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid (C: n = 1) gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Eigene Darstellung.

Das Feuchthalten des Keimträgers mit Virkon® S (0,2070 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid hatte hingegen keinen positiven Einfluss auf die Reduktion keimungsfähiger Sporen. So verringerte sich die Wirksamkeit von 1,20 \log_{10} -Stufen auf 0,26 \log_{10} -Stufen nach 5 Minuten und von 1,27 \log_{10} -Stufen auf 0,34 \log_{10} -Stufen nach 10 Minuten Einwirkzeit (Abbildung 12 C).

Die verbesserte Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G ohne Feuchthalten könnte im Verflüchtigen des Wasseranteils begründet liegen, wodurch der prozentuale Anteil von reagierendem aktivem Chlor ansteigt. Durch Feuchthalten des Keimträgers wird der Wasseranteil der Hypochlorit-CA G-Lösung hingegen wieder erhöht,

wodurch die oxidative Wirkung wieder sinkt. Ein Nebeneffekt, der beim Feuchthalten darüber hinaus zu beobachten war, waren verkrustete weiße Rückstände auf dem Material der PSA, die wahrscheinlich auf ausgefallenes Calciumchlorid (CaCl_2) zurückzuführen sind. Im Fall von Wofasteril® SC super hingegen könnte das Feuchthalten durch die zu Grunde liegende Gleichgewichtsreaktion zu einer Neubildung von mehr Peressigsäure führen, wodurch wiederum die oxidative Wirkung erhalten bleibt.

Da außer für Wofasteril® SC super keine Verbesserung durch das Feuchthalten des Keimträgers (Mehrfachdesinfektion) nachgewiesen werden konnte und für Wofasteril® SC super eine höhere Peressigsäure-Belastung bei der Anwendung zu erwarten wäre, wurde diese Methode als praxisuntauglich eingestuft und nicht weiter verfolgt.

4.1.2 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen

In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass das Granulat Hypochlorit-CA G und das flüssige Präparat Wofasteril® SC super wirksam gegen *Bacillus*-Sporen auf Persönlicher Schutzausrüstung sind (Abschnitt 4.1.1). Mit beiden Desinfektionsmitteln wurden daher weiterführende Untersuchungen zur exakten Bestimmung der sporiziden Wirkstoffkonzentration sowie Einwirkzeiten auf den PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2 durchgeführt.

Sporizide Wirkstoffkonzentration von Hypochlorit-CA G. Das Desinfektionsmittel Hypochlorit-CA G erwies sich unter den neun im Projekt GranPSA getesteten Granulaten als das einzig vielversprechende für den Einsatz zur Desinfektion von PSA (Abschnitt 4.1.1). So reduzierte eine Lösung Hypochlorit-CA G/0,2 % SDS mit einer Chlor-Konzentration von 3,5 % die Sporenzahl von *B. thuringiensis* DSM-350 nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten um $4,55 \pm 0,55 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 9 A, rechts). Eine weitere Konzentrationserhöhung auf 5,25 % erzielte sogar $6,77 \log_{10}$ -Stufen. Die exakte Chlor-Konzentration wurde jedoch nicht vorab bestimmt und orientierte sich an den Angaben des Herstellers (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2013). Für die weiterführenden Untersuchungen zur exakten Bestimmung der Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen sowie Einwirkzeiten war eine genaue Ermittlung der Wirkstoffkonzentration durch iodometrische Titration notwendig. Ein weiterer essentieller Aspekt ist die Verwendung eines geeigneten Tensids, welches eine ausreichende Oberflächenbenetzung der PSA mit dem Desinfektionsmittel ermöglicht. Aus diesem Grund wurden Experimente zur Abhängigkeit der Wirksamkeit von der Konzentration an Chlor sowie dem verwendeten Tensid durchgeführt. Als Tenside wurden das im vorangegangenen Projekt etablierte SDS (Lemmer et

al., 2012) sowie das Pufferadditiv Alcapur® der Firma Kesla Hygiene AG überprüft. Die Tensid-Konzentration, welche in Kombination mit Hypochlorit-CA G einen homogenen Flüssigkeitsfilm auf dem PSA-Material gewährleistet, wurde vorab auf den jeweiligen Keimträgermaterialien ermittelt. Die Kombination aus Hypochlorit-CA G/0,2 % SDS und Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® erwies sich zunächst auf beiden Materialien TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2 als geeignet.

Anschließende Analysen sollten Aufschluss über die genau wirksame Chlor-Konzentration in Hypochlorit-CA G in Kombination mit SDS oder Alcapur® geben. Getestet wurden 0,1 %, 0,5 %, 1 % und 1,5 % Chlor. Die Überprüfung der Kombination Hypochlorit-CA G/0,2 % SDS ergab, dass bereits 0,5 % Chlor ausreichen, um mindestens 1×10^6 keimungsfähige *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen innerhalb von 5 Minuten vollständig abzutöten (6,43 \log_{10} -Stufen) (Abbildung 13 A). Eine Kombination aus Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® mit 0,5 % Chlor war vergleichbar sporizid (6,33 \log_{10} -Stufen) (Abbildung 13 B). Die wirksame Konzentration lag im Vergleich zu den Ergebnissen der Vorversuche überraschenderweise viel niedriger (Abschnitt 4.1.1, Abbildung 9 A). Die hierbei rein rechnerisch nach Angaben des Herstellers bestimmte wirksame Chlor-Konzentration lag bei 5,25 %. Diese hohe Abweichung der Werte ist vermutlich auf die Verwendung unterschiedlicher Gebinde zurückzuführen. So ist anzunehmen, dass eine geringere Ausgangskonzentration an Chlor im verwendeten Gebinde vorlag. Zudem waren optische Unterschiede zwischen den Granulaten zu beobachten. Ein Vergleich der Sicherheitsdatenblätter ergab außerdem höhere Werte für Calciumhypochlorit von 95 % im zweiten Gebinde gegenüber 70 % im ersten Gebinde (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2013, Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Ob hier eine zu vermutende Produktionsumstellung vorgenommen wurde, konnte nicht in Erfahrung gebracht werden.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die sporizide Chlor-Konzentration in einer Hypochlorit-CA G-Lösung auf 1 bzw. 1,5 % bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten festgelegt. Da keine Unterschiede in der Verwendung zwischen den Tensiden SDS und Alcapur zu beobachten waren, erfolgte die Anwendung von Hypochlorit-CA G zukünftig in Kombination mit 0,5 % Alcapur® für die PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2. Ein Vorteil von Alcapur® gegenüber SDS ist seine bessere Umweltverträglichkeit sowie einfachere Beschaffung. Mit diesen Parametern wurden im Anschluss die eingehenderen Untersuchungen zur Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G bei Temperaturunterschieden, organischer Belastung sowie zu Stabilität und Geruch durchgeführt (Abschnitt 4.1.3).

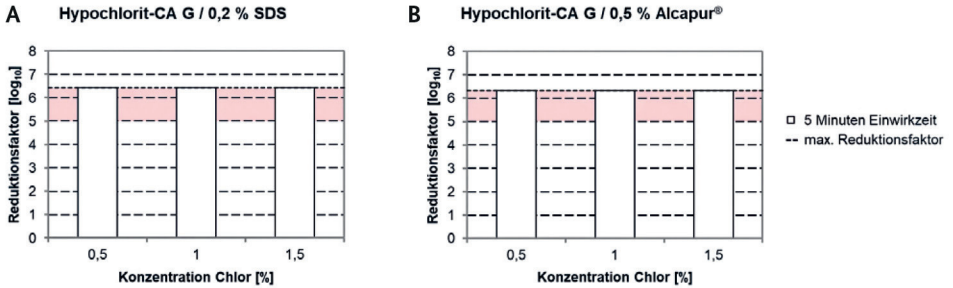


Abbildung 13: Konzentrations- und tensidabhängige Wirksamkeitsprüfung von Hypochlorit-CA G gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Gezeigt sind die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] von Hypochlorit-CA G konzentrationsabhängig auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung (n = 1). Es wurde bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G in Kombination mit 0,2 % SDS (A) und 0,5 % Alcapur® (B) bei aufsteigender Konzentration von Chlor ermittelt. Die Konzentrationsbestimmung von Chlor erfolgte durch iodometrische Titration. Eigene Darstellung.

Sporizide Wirkstoffkonzentration von Wofasteril® SC super. Das Desinfektionsmittel Wofasteril® SC super erwies sich in Vorversuchen neben Hypochlorit-CA G als ein weiteres vielversprechendes Mittel für die Desinfektion von PSA (Abschnitt 4.1.1, Abbildung 10). So reduzierte eine Lösung aus Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® mit 0,33 % Peressigsäure *B. subtilis*-ATCC-6633-Sporen nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten um $3,63 \pm 0,37$ log₁₀-Stufen (Abbildung 10 C, links). Da die Zugabe eines alkalischen Pufferadditivs tendenziell zu einer Erhöhung des pH-Wertes führt und somit die Wirksamkeit des Mittels herabsetzen würde, wurden verschiedene Tenside in Kombination mit unterschiedlichen Wofasteril® SC super-Konzentrationen getestet. Die Untersuchung erfolgte zum einen mit 0,2 % SDS und 0,5 % Alcapur® N (Kesla Hygiene AG), welche sich in vorangegangenen Analysen in Kombination mit Peressigsäure-Produkten bereits bewährt haben (Lemmer et al., 2012), sowie mit dem mitgelieferten Pufferadditiv Alcapur® (Kesla Hygiene AG). Vorab wurden geeignete Tensid-Konzentrationen in Kombination mit Wofasteril® SC super bestimmt, die eine stabile Oberflächenbenetzung auf der PSA ermöglichen. Basierend auf diesen Ergebnissen fanden folgende Tensid-Konzentrationen in Kombinationen mit Wofasteril® SC super Anwendung: 0,5 % Alcapur® N, 0,2 % SDS oder 1,5 % Alcapur (TESIMAX® S 3 PE-T) sowie 2 % Alcapur® (TESIMAX® SYKAN 2). Die unterschiedlichen Tensid-Kombinationen wurden anschließend in Abhängigkeit von verschiedenen Peressigsäure-Konzentrationen in Wofasteril® SC super auf ihre Wirksamkeit auf der PSA TESIMAX® S 3 PE-T getestet. Die Verwendung von 0,5 % Alcapur® N zeigte erwartungsgemäß mit steigender Peressigsäure-Konzentration eine tendenzielle Verbesserung der Wirksamkeit. So erzielte Wofasteril® SC super (0,88 %

Peressigsäure)/0,5 % Alcapur® N nach 5 Minuten Desinfektionszeit eine ausreichende Sporenreduktion von $6,19 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 14 A). Die Kombination von Wofasteril® SC super/0,2 % SDS mit einer Peressigsäure-Konzentration von 1,10 % und 2,20 % zeigte in der Wirksamkeit vergleichbare Werte für 5 und 10 Minuten Einwirkzeit (Abbildung 14 B). Bei einer Desinfektionszeit von nur 1 Minute erwies sich jedoch die Kombination von Wofasteril® SC super (2,20 % Peressigsäure)/0,2 % SDS als wirksamer ($6,20 \pm 0,47 \log_{10}$ -Stufen). Um eine zeitabhängige Wirkung des Desinfektionsmittels abzubilden, wurde zusätzlich eine Lösung aus Wofasteril® SC super/0,2 % SDS mit 1,10 % Peressigsäure im Zeitverlauf von 1 bis 5 Minuten analysiert. Mit dieser Kombination konnte eine ausreichende Reduktion von *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen ($6,18 \pm 0,35 \log_{10}$ -Stufen) bereits nach 4 Minuten Desinfektionszeit erzielt werden (Abbildung 14 C).

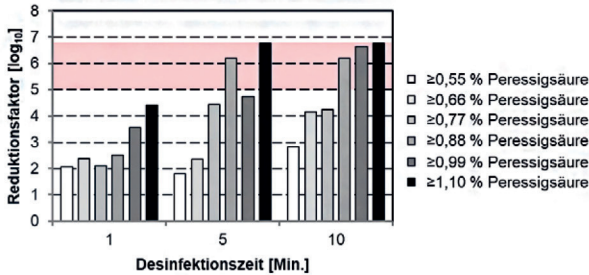
Schließlich wurde Wofasteril® SC super zusammen mit dem Kombinationsprodukt Alcapur® (Pufferadditiv) in Abhängigkeit definierter Peressigsäure-Konzentrationen getestet, um einen negativen Einfluss des alkalischen Tensids auf die Wirksamkeit auszuschließen (Abbildung 15 A). Die exakte Peressigsäure-Konzentration wurde vorab mittels iodometrischer Titration bestimmt. Obgleich die Zugabe von Alcapur® zu einer alkalischen Aktivierung und somit zu einer Aktivitätssteigerung von Wofasteril® SC super führen soll (Kesla Hygiene AG, 2019a), war die Wirksamkeit gegenüber der Verwendung ohne Alcapur® für 0,5 % und 1 % Peressigsäure herabgesetzt. So konnte bereits mit einer 1%igen Peressigsäure-Lösung ohne Tensid eine Sporenreduktion von $6,61 \log_{10}$ -Stufen nach 5 Minuten erzielt werden. Beobachtungen während des Versuchs zeigten jedoch, dass bei Verwendung ohne Tensid keine ausreichend stabile Benetzung der PSA gegeben war und damit keine sichere Sporeninaktivierung gewährleistet werden kann. Obgleich bessere Wirksamkeiten von Wofasteril® SC super ohne Tensid-Zugabe erzielt wurden, so ist der Einsatz von 1,5 % Peressigsäure in einer Wofasteril® SC super-Lösung durch Zugabe von 1,5 % Alcapur® ausreichend, um eine Reduktion keimungsfähiger Sporen um $6,61 \log_{10}$ -Stufen innerhalb von 5 Minuten zu erzielen.

Eine eingehendere Wirksamkeitsanalyse dieser Lösung erfolgte darüber hinaus mit Sporen unterschiedlicher *Bacillus*-Stämme, zeitabhängig unter S2-Bedingungen und in Dreifachbestimmung. So zeigte Wofasteril® SC super (1,5 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® gegenüber *B. thuringiensis* DSM-350 bei einer Einwirkzeit von 3 Minuten bereits eine Reduktion keimungsfähiger Sporen von $6,76 \pm 0,08 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 15 B). Um eine sichere Wirkung auch gegenüber *B. cereus*-ATCC-12826- sowie *B. anthracis*-Sterne-Sporen zu erzielen, wurde die Peressigsäure-Konzentration auf 1,75 % angehoben. Sowohl gegenüber Sporen von *B. cereus* ATCC 12826 ($6,21 \pm 0,47 \log_{10}$ -Stufen) als auch *B. anthracis* Sterne ($6,06 \pm 0,15 \log_{10}$ -Stufen) war die Kombination aus Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® nach 3 Minuten ausreichend wirksam (Abbildung 15 C).

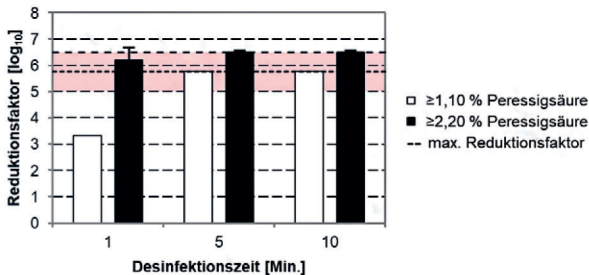
Eine anschließende vergleichende Analyse der Wirksamkeit auf unterschiedlichen Materialien ergab für Wofasteril® SC super (1,5 % Peressigsäure)/2 % Alcapur® auf dem Anzugmaterial TESIMAX® SYKAN 2 eine tendenziell verringerte Wirksamkeit (Abbildung 15 D). So reduzierte diese Desinfektionsmittellösung *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen um $5,91 \pm 0,41 \log_{10}$ -Stufen nach 5 Minuten. Hingegen erreichte Wofasteril® SC super (1,5 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T eine Reduktion von $6,81 \pm 0,01 \log_{10}$ -Stufen bei gleicher Einwirkzeit. Die verringerte Wirksamkeit auf dem PSA-Material TESIMAX® SYKAN 2 könnte auf einen Anstieg des pH-Wertes durch Zugabe einer erhöhten Menge des alkalischen Pufferadditivs Alcapur® zurückzuführen sein. Darüber hinaus gestaltete sich eine mechanische Verteilung des Desinfektionsmittels durch die Unebenheit des Materials teilweise als schwierig.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die wirksame Peressigsäure-Konzentration in Wofasteril® SC super auf 1,75 % bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten festgelegt. Die Gebrauchslösung wird außerdem mit einer Alcapur®-Endkonzentration von 1,5 % für TESIMAX® S 3 PE-T und 2 % für TESIMAX® SYKAN 2 versetzt. Mit diesen Parametern erfolgten im Anschluss die weiterführenden Untersuchungen zur Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® bei organischer Belastung der PSA sowie bei Temperaturunterschieden (Abschnitt 4.1.3).

A Wofasteril® SC super 0,5 % Alcapur® N



B Wofasteril® SC super 0,2 % SDS



C Wofasteril® SC super / 0,2 % SDS

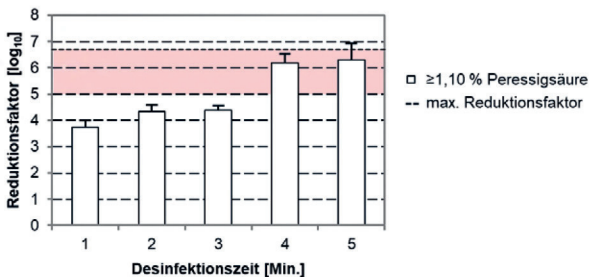


Abbildung 14: Konzentrations- und tensidabhängige Wirksamkeitsprüfung von Wofasteril® SC super gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. Abgebildet sind die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] von Wofasteril® SC super auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung. Unter (A) wurde die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/0,5 % Alcapur® N konzentrationsabhängig bei unterschiedlichen Einwirkzeiten bestimmt (n = 1). Graph (B) zeigt die Reduktionsfaktoren von Wofasteril® SC super in Kombination mit 0,2 % SDS (n = 1/2). In (C) wurde die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/0,2 % SDS zeitabhängig ermittelt (n = 3). Eigene Darstellung.

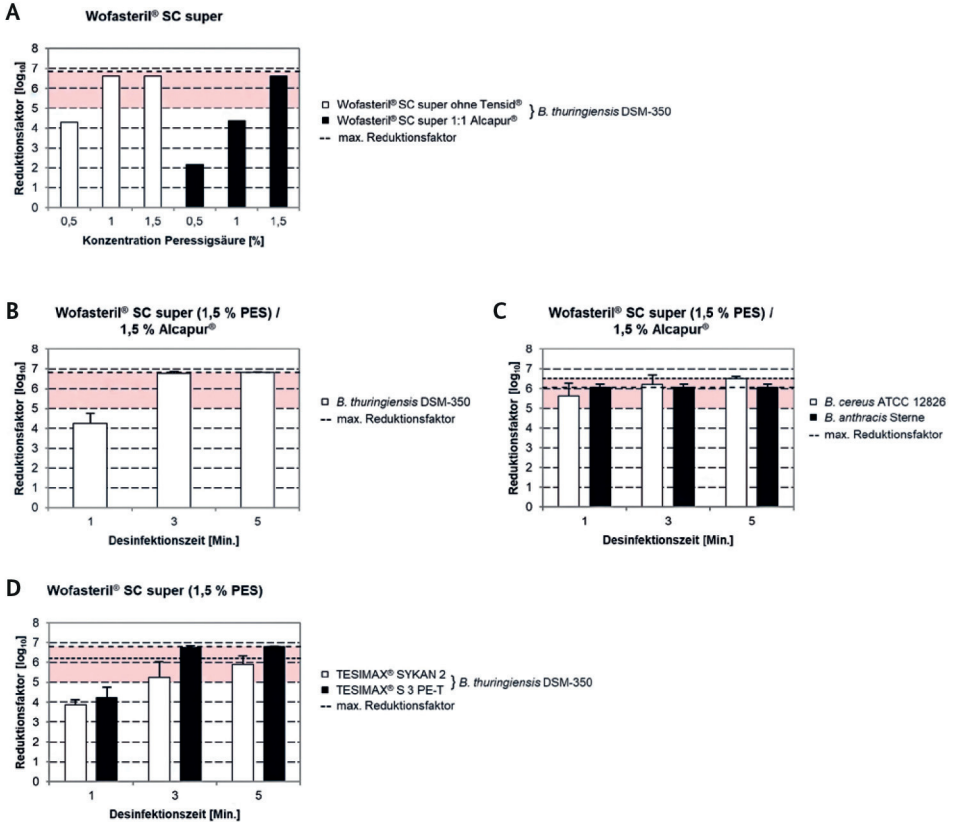


Abbildung 15: Wirksamkeit von Wofasteril® SC super in Kombination mit dem Pufferadditiv Alcapur® gegenüber *Bacillus*-Sporen. Dargestellt sind die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] von Wofasteril® SC super auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung. Die Peressigsäure(PES)-Konzentration wurde durch iodometrische Titration bestimmt. (A) zeigt die Wirksamkeit unterschiedlicher Peressigsäure-Konzentrationen in Wofasteril® SC super 1 : 1 im Gemisch ohne Tensid (weiß) oder mit dem Tensid Alcapur® (schwarz) gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen nach 5 Minuten Einwirkzeit (n = 1). Die Wirksamkeit von 1,5 % PES in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® wurde gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (B) und 1,75 % PES gegenüber Sporen von *B. cereus* ATCC 12826 und *B. anthracis* Sterne (C) ermittelt (n = 3). (D) zeigt vergleichend die Wirksamkeit von 1,5 % PES in Wofasteril® SC super gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf dem PSA-Material TESIMAX® SYKAN 2 (2 % Alcapur®) und TESIMAX® S 3 PE-T (1,5 % Alcapur®) (n = 3). Eigene Darstellung.

4.1.3 Wirksamkeitsanalyse bei Verschmutzung und unterschiedlichen Temperaturen

Sowohl Verschmutzungen als auch Temperaturschwankungen können die Wirkung von Desinfektionsmitteln beeinflussen (Bodenschatz, 2006). So kann beispielsweise ihre Wirksamkeit bei niedrigen Temperaturen durch eine reduzierte Reaktionsgeschwindigkeit herabgesetzt werden. Bei organischer Verschmutzung oxidieren Desinfektionsmittel nicht nur Proteine der Mikroorganismen, sondern können sich außerdem an den vorhandenen eiweißhaltigen Kontaminationen verbrauchen (Eiweiß-Fehler). Deshalb sollte nun die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super und Hypochlorit-CA G bei Verschmutzung der PSA sowie bei veränderten Temperaturbedingungen überprüft werden. Zu diesem Zweck erfolgte eine Abwandlung des verwendeten Verfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012), um den Einfluss dieser Bedingungen zu überprüfen. In Anlehnung an die DIN EN 17126 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2017) wurde eine mögliche Proteinkontamination der PSA durch die Zugabe von BSA zur Sporensuspension in einer Endkonzentration von 0,3 % simuliert. Die Analyse des Einflusses von Temperaturschwankungen auf die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel wurde bei 35 °C, 4 °C und -20 °C durchgeführt. Diese Temperaturen entsprechen Soll-Werten, die jedoch versuchsbedingten Schwankungen unterlagen und deshalb folgend mit einem * gekennzeichnet sind.

Einfluss von Verschmutzung mit 0,3 % BSA auf die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G. Die Überprüfung erfolgte neben *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2 auch mit Sporen der Risikogruppe 3 auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T.

Zunächst wurde die Desinfektionsmittellösung Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® mit 1 und 1,5 % Chlor gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2 bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten getestet (Abbildung 16 A). Die zusätzliche Verschmutzung der PSA mit 0,3 % BSA hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels. So erzielte eine Anwendungslösung mit 1,5 % Chlor gegenüber *B. thuringiensis* DSM-350, *B. cereus* ATCC 12826 und *B. anthracis* Sterne maximale Sporenreduktionen. Hierbei lagen die Reduktionfaktoren für *B. thuringiensis* DSM-350 bei $6,54 \pm 0,05 \log_{10}$ -Stufen, für *B. cereus* ATCC 12826 bei $6,58 \pm 0,05 \log_{10}$ -Stufen und für *B. anthracis* Sterne bei $6,56 \pm 0,04 \log_{10}$ -Stufen. Eine geringere Chlor-Konzentration von 1 % führte erwartungsgemäß in dieser Sporen-Gruppe zu einer niedrigeren Wirksamkeit, vor allem gegenüber den umweltstabileren *B. thuringiensis*-DSM-350- ($5,37 \pm 0,13 \log_{10}$ -Stufen), aber auch *B. cereus*-ATCC-12826-Sporen ($6,15 \pm 0,45 \log_{10}$ -Stufen).

Die Wirksamkeit des Mittels wurde außerdem gegenüber den hochpathogenen *B. anthracis*-11/38- und *B. anthracis*-22/39-Sporen unter S3-Bedingungen getestet

(Abbildung 16 B, links). Hier erwiesen sich zunächst 2 % Chlor in Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® nur gegenüber *B. anthracis* 22/39 als ausreichend wirksam ($5,66 \pm 0,45 \log_{10}$ -Stufen). Gegenüber *B. anthracis* 11/38 konnte eine Sporenreduktion von lediglich $4,06 \pm 1,07 \log_{10}$ -Stufen nachgewiesen werden. Eine Erhöhung der Chlor-Konzentration auf 2,5 % führte jedoch nicht zu einer erwarteten Verbesserung der Sporeninaktivierung, sondern variierte stark. Da die Ergebnisse nicht nur innerhalb der Versuche schwankten, sondern auch von den Versuchen mit Risikogruppe-1- und -2-*Bacillus*-Sporen abwichen, wurden die Versuche auszugswise mit der ursprünglichen Hypochlorit-CA G-Charge mit 2 % Chlor wiederholt (Abbildung 16 B, rechts). So zeigt die Wiederholung eine vollständige Inaktivierung von *B. anthracis* 11/38 sowie eine Reduktion von *B. anthracis* 22/39-Sporen um $6,07 \pm 0,07 \log_{10}$ -Stufen. Diese Ergebnisse deuten auf chargenbedingte Wirksamkeitsschwankungen hin. Da die genauen Wirkstoffkonzentrationen für die Versuche durch iodometrische Titration ermittelt wurden, ist eine Abweichung der eingesetzten Chlor-Konzentration auszuschließen.

Eine zusätzliche Wirksamkeitsanalyse von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® auf dem PSA-Material TESIMAX® SYKAN 2 sollte Aufschluss darüber geben, ob die Wirksamkeit auch auf unterschiedlichen PSA-Materialien gewährleistet ist. Obgleich die sporenreduzierende Wirkung von Hypochlorit-CA G auf TESIMAX® SYKAN 2 mit $5,94 \pm 0,37 \log_{10}$ -Stufen ausreichend war, so war sie jedoch auf dem Material TESIMAX® S 3 PE-T mit $6,54 \pm 0,55 \log_{10}$ -Stufen leicht herabgesetzt (Abbildung 16 C). Die verringerte Wirksamkeit könnte durch Schwierigkeiten bei der mechanischen Verteilung des Desinfektionsmittels durch die Unebenheit des Materials verursacht worden sein.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die oxidierende Wirkung von Hypochlorit-CA G/Alcapur® nur geringfügig durch eine Verunreinigung mit Proteinen beeinflusst wird. Jedoch waren schwankende Ergebnisse zu beobachten. Es ist zu vermuten, dass die Konzentration der sich in Lösung befindenden wirksamen Chlorverbindungen möglicherweise chargenabhängig variiert, was im Versuch zu einem schnelleren Wirkstoffverlust führen könnte. Aufschluss darüber könnten zukünftig chargenvergleichende Experimente bringen.

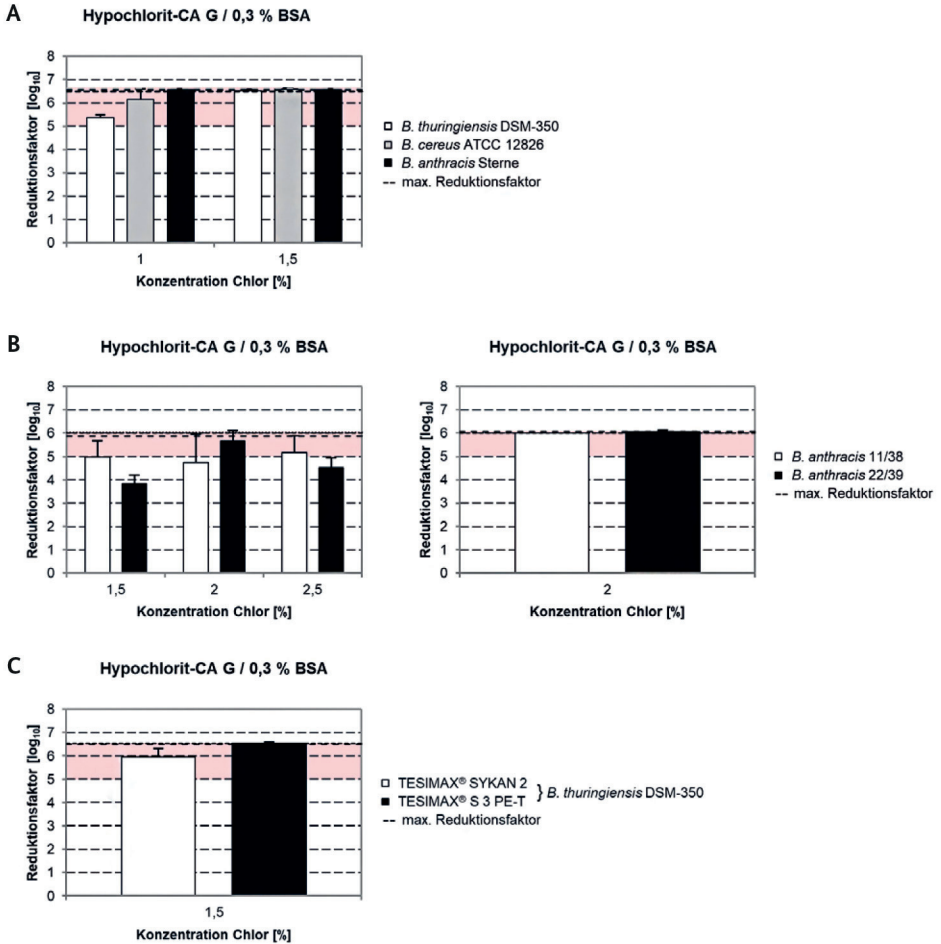


Abbildung 16: Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G gegenüber *Bacillus*-Sporen bei organischer Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Dargestellt sind die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® unter Verwendung des Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung und einer Einwirkzeit von 5 Minuten. *Bacillus*-Sporen wurden für die Untersuchung mit 0,3 % BSA versetzt. In (A) ist die Wirksamkeit von 1 % und 1,5 % freiem Chlor in Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2 auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T dargestellt (n = 3). Die Graphen (B, links: n = 3) und (rechts: n = 1/2) zeigen die Wirksamkeit von 1,5 %, 2 % und 2,5 % freiem Chlor in Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppe 3. In (C) ist die Wirksamkeit von 1,5 % Chlor in Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf den Keimträgermaterialien TESIMAX® SYKAN 2 und TESIMAX® S 3 PE-T dargestellt (n = 3). Eigene Darstellung.

Einfluss von Verschmutzung mit 0,3 % BSA auf die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super. Zunächst erfolgte eine Wirksamkeitsprüfung von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® mit einem Peressigsäure-Anteil von 1,75 % gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2. Anwendung hierbei fand das PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T und eine Einwirkzeit von 1, 3 und 5 Minuten. Eine Zugabe von 0,3 % BSA hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die Wirksamkeit der Desinfektionsmittellösung gegenüber *Bacillus*-Sporen (Abbildung 17 A) im Vergleich zur Desinfektion ohne Verschmutzung (Abbildung 17 B). So erzielte Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® gegenüber Sporen von *B. thuringiensis* DSM-350 ($6,44 \pm 0,52 \log_{10}$ -Stufen), *B. cereus* ATCC 12826 ($6,47 \pm 0,13 \log_{10}$ -Stufen) und *B. anthracis* Sterne ($6,21 \pm 0,13 \log_{10}$ -Stufen) hohe Reduktionsfaktoren nach 5 Minuten. Eine Einwirkzeit von nur 3 Minuten hingegen reichte zwar aus, um *B. thuringiensis*-DSM-350- ($6,14 \pm 0,75 \log_{10}$ -Stufen) und *B. cereus*-ATCC-12826-Sporen ($6,18 \pm 0,39 \log_{10}$ -Stufen) ausreichend abzutöten, jedoch zeigte das Mittel gegenüber *B. anthracis*-Sterne-Sporen überraschenderweise eine verringerte Sporenreduktion von $4,30 \pm 0,29 \log_{10}$ -Stufen.

Um eine ausreichende Reduktion auch gegenüber hochpathogenen *B. anthracis*-Sporen zu gewährleisten, wurde außerdem die Wirksamkeit gegenüber den Stämmen *B. anthracis* 11/38 und *B. anthracis* 22/39 unter S3-Bedingungen getestet (Abbildung 17 B). Auch hier erwies sich Wofasteril® SC super/1,75 % Alcapur® mit 1,75 % Peressigsäure als wirksam. So reduzierte die Desinfektionsmittellösung nach 5 Minuten Sporen von *B. anthracis* 11/38 um $5,61 \pm 0,36 \log_{10}$ -Stufen und *B. anthracis* 22/39 um $5,12 \pm 0,08 \log_{10}$ -Stufen.

Eine zusätzliche vergleichende Überprüfung der Wirksamkeit auf dem Anzugmaterial TESIMAX® SYKAN 2 zeigte eine leicht verringerte Wirksamkeit von Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/2 % Alcapur® (Abbildung 17 C). So reduzierte diese Desinfektionsmittellösung *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen um $5,66 \pm 0,63 \log_{10}$ -Stufen nach 5-minütiger Einwirkzeit. Hingegen konnte auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T eine Reduktion von $6,44 \pm 0,52 \log_{10}$ -Stufen bei gleicher Einwirkzeit nachgewiesen werden. Dies könnte in der höheren Konzentration des alkalischen Pufferadditivs Alcapur® begründet liegen, welche zu einem basischeren pH-Wert führt und damit die Wirksamkeit verringert. Zudem gestaltete sich eine mechanische Verteilung des Desinfektionsmittels durch die Unebenheit des Materials teilweise als schwierig.

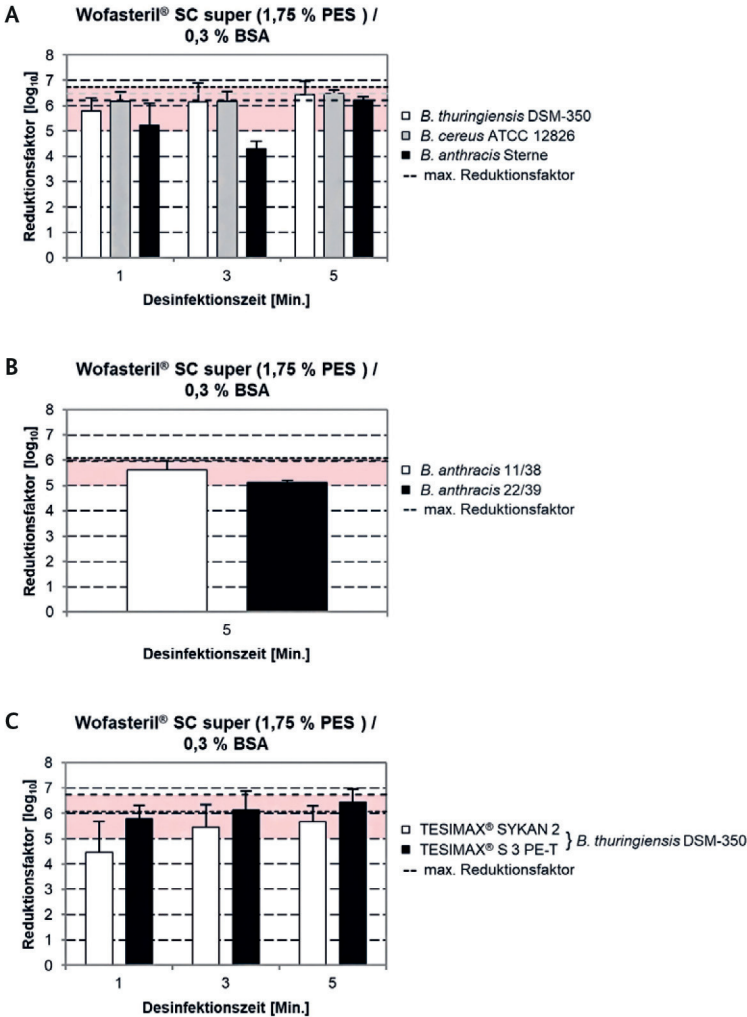


Abbildung 17: Wirksamkeit von Wofasteril® SC super gegenüber *Bacillus*-Sporen bei organischer Verschmutzung der PSA mit 0,3 % BSA. Dargestellt sind die Reduktionsfaktoren [\log_{10} -Stufen] von 1,75 % Peressigsäure (PES) in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® unter Verwendung des Prüfverfahrens „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung (n = 3). *Bacillus*-Sporen wurden für die Wirksamkeitsanalyse mit 0,3 % BSA versetzt. Diagramm (A) zeigt die zeitabhängige Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppen 1 und 2 auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE T. Unter (B) ist die Wirksamkeit gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppe 3 auf der PSA TESIMAX® S 3 PE-T nach 5 Minuten Einwirkzeit dargestellt. Graph (C) zeigt vergleichend die zeitabhängige Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf den Keimträgermaterialien TESIMAX® SYKAN 2 und TESIMAX® S 3 PE-T. Eigene Darstellung.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die oxidierende Wirkung von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® gegenüber *Bacillus*-Sporen kaum durch eine Proteinzugabe beeinflusst wird. So reduzierte sich nur geringfügig die Abtötung von *B. anthracis*-Sterne- und *B. anthracis*-22/39-Sporen. Auch wenn nach Herstellerangaben ein „Vermischen mit organischen Produkten je nach Umfang der Verunreinigung zu einer langsamen bis stürmischen Zersetzung unter Sauerstoffabspaltung“ führen kann (Kesla Hygiene AG, 2014), so spiegelt sich dies in den vorliegenden Ergebnissen nicht wider.

Einfluss von Temperaturveränderungen auf die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G. Um Aufschluss darüber zu erhalten, ob Temperaturschwankungen einen Einfluss auf die Wirkung von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® haben, erfolgte eine Untersuchung bei Temperaturbedingungen von 4 °C, 20 °C und 35 °C. Diese Prüfung wurde auf den PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T sowie TESIMAX® SYKAN 2 bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten und sicherheitsbedingt ausschließlich mit den gemäß Tenazitätsversuch widerstandsfähigen *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (Abbildung 8 C) unter S2-Bedingungen durchgeführt.

Zunächst wurde die Wirksamkeit auf dem Anzugmaterial TESIMAX® S 3 PE-T bei einer Temperaturabsenkung auf 4 °C (* 5,0 °C) gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen untersucht (Abbildung 18 A). Eine Konzentration von 1,5 % Chlor erzielte hierbei eine ausreichende Sporenreduktion von $5,94 \pm 0,42 \log_{10}$ -Stufen. Darüber hinaus blieb die Wirkung von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® auch bei einer Temperaturabsenkung auf -20 °C (* -17,0 °C) relativ stabil (Abbildung 18 B). Nach 5 Minuten erreichte auch hier eine Desinfektionsmittellösung mit 1 % Chlor eine leicht höhere Reduktion keimungsfähiger Sporen ($6,56 \pm 0,04 \log_{10}$ -Stufen) gegenüber der höher konzentrierten Lösung mit 1,5 % Chlor ($6,27 \pm 0,40 \log_{10}$ -Stufen). Die vergleichende Überprüfung der Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® auf dem Anzugmaterial TESIMAX® SYKAN 2 zeigte ebenfalls diesen Effekt. Obgleich die Wirksamkeit von sowohl 1 % Chlor ($6,26 \pm 0,39 \log_{10}$ -Stufen) als auch 1,5 % Chlor ($5,66 \pm 0,03 \log_{10}$ -Stufen) hier ausreichend hoch war, so war sie jedoch gegenüber TESIMAX® S 3 PE-T tendenziell geringer.

Interessanterweise zeigte eine Gebrauchslösung mit 1 % Chlor bei einer Temperaturerhöhung auf 35 °C (* 35,7 °C) eine ausreichende Wirksamkeit ($5,23 \pm 0,38 \log_{10}$ -Stufen) auf dem Material TESIMAX® S 3 PE-T (Abbildung 18 C), diese war jedoch gegenüber den niedrigen Temperaturen reduziert. Mit einer Erhöhung der Chlor-Konzentration auf 1,5 % ließ sich die Reduktion von keimungsfähigen Sporen durch Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur® jedoch auf $6,42 \pm 0,25 \log_{10}$ -Stufen verbessern. Eine vergleichende Analyse auf dem Material TESIMAX® SYKAN 2 ergab hingegen einen tendenziell entgegengesetzten Effekt. So erzielte die

Desinfektionsmittellösung mit 1 % Chlor eine Reduktion von $6,07 \pm 0,35 \log_{10}$ -Stufen. Diese lag jedoch bei 1,5 % Chlor mit $5,74 \pm 0,47 \log_{10}$ -Stufen etwas niedriger.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die oxidierende Wirkung von Hypochlorit-CA G/Alcapur® gegenüber *Bacillus*-Sporen nur geringfügig bei niedrigen Temperaturen beeinflusst wird. Der Wirksamkeitsverlust bei höheren Temperaturen ist vermutlich auf einen schnelleren Zerfall von Hypochlorit in Lösung zurückzuführen. So kann laut Hersteller eine Temperaturerhöhung auf über 35 °C zu einer schnellen Zersetzung des Mittels führen (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Hierdurch kann es zudem verstärkt zu einer Selbstoxidation von Hypochlorit kommen, wodurch in der Folge höhere Konzentrationen verwendet werden müssen, um die Wirksamkeit aufrechtzuerhalten. Die Unterschiede zwischen den PSA-Materialien lassen sich vermutlich eher auf die Materialbeschaffenheit und versuchsbedingte Schwankungen als auf die Desinfektionsmittelwirkung selbst zurückführen.

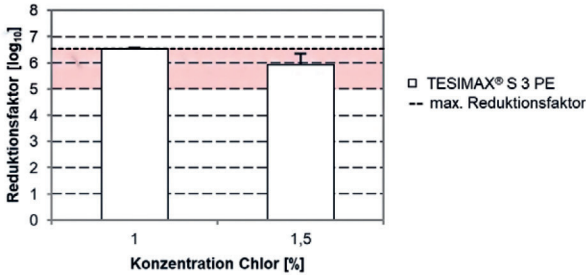
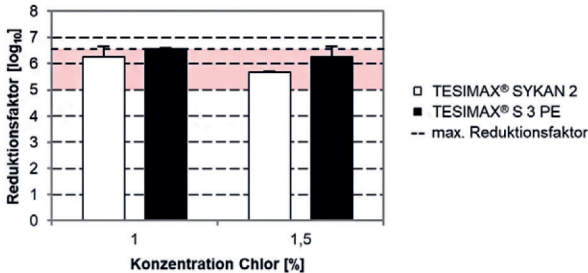
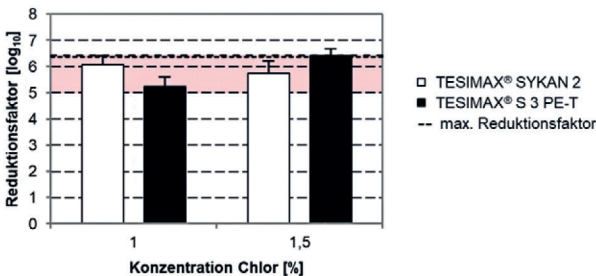
A Hypochlorit-CA G / ohne Tensid / 4°C**B Hypochlorit-CA G / ohne Tensid / -20°C****C Hypochlorit-CA G / ohne Tensid / 35°C**

Abbildung 18: Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G gegenüber *B. thuringiensis* DSM-350 bei unterschiedlichen Temperaturen. Die Bestimmung der Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] erfolgte im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung (n = 3). Vergleichend wurden eine Konzentration von 1% und 1,5% Chlor in Hypochlorit-CA G/0,5% Alcapur® bei einer Desinfektionszeit von jeweils 5 Minuten untersucht. Die Wirksamkeitsanalyse erfolgte auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T bzw. TESIMAX® SYKAN 2 bei (A) 4 °C (* 5,0 °C), (B) -20 °C (* -17,0 °C) sowie (C) 35 °C (* 35,7 °C). * kennzeichnet die im versuch tatsächlich gemessenen Temperaturwerte. Eigene Darstellung.

Einfluss von Temperaturveränderungen auf die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super. Nach Überprüfung der Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/Alcapur® gegenüber *Bacillus*-Sporen bei Raumtemperatur und einer möglichen Verschmutzung der PSA mit Proteinen sollte nun auch der Einfluss von Temperaturunterschieden untersucht werden. Die Analyse erfolgte bei Temperaturbedingungen von 4 °C, -20 °C und 35 °C. Hierfür wurden die PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T sowie TESIMAX® SYKAN 2, eine Einwirkzeit von 5 Minuten und sicherheitsbedingt ausschließlich Sporen des gemäß Tenazitätsversuchs (Abbildung 8 C) widerstandsfähigeren *B. thuringiensis* DSM-350 verwendet. Darüber hinaus fand ein direkter Vergleich von Wofasteril® SC super mit dem aktuell in biologischen Gefahrenlagen verwendeten Wofasteril® statt, um mögliche Vor- und Nachteile beider Desinfektionsmittel nebeneinander abzubilden.

Zunächst wurde die sporenreduzierende Wirkung von Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur® auf dem Anzugmaterial TESIMAX® S 3 PE-T und bei einer Temperaturabsenkung auf 4 °C (*4,2 °C) untersucht. Bei 4 °C verringerte sich die Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen (Abbildung 19 A). So lag die Reduktion bei nur noch $4,48 \pm 0,63 \log_{10}$ -Stufen im Vergleich zu $6,81 \pm 0,01 \log_{10}$ -Stufen bei Raumtemperatur (Abbildung 15 B). Durch eine Erhöhung der Peressigsäure-Konzentration auf 2,75 % konnte der Wirksamkeitsverlust jedoch ausgeglichen und eine Sporenreduktion von $6,22 \pm 0,35 \log_{10}$ -Stufen erzielt werden. Zusätzlich wurde eine vergleichende Analyse mit 1,75 % und 2 % Peressigsäure in Wofasteril®/0,5 % Alcapur® N durchgeführt. Beide Gebrauchslösungen erzielten eine bessere Wirksamkeit (1,75 %: $4,83 \pm 0,27$; 2 %: $5,53 \pm 0,62 \log_{10}$ -Stufen) gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen als 1,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur®. Dennoch erwies sich bei 4 °C (*4,2 °C) eine Konzentration von 2,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® als tendenziell wirksamer gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen ($6,22 \pm 0,35 \log_{10}$ -Stufen).

Die vergleichende Wirksamkeitsanalyse von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® auf dem PSA-Material TESIMAX® SYKAN 2 bei 4 °C (*4,2 °C) ergab keine wesentlichen Unterschiede (Abbildung 19 B). Auch hier erzielte die Desinfektionsmittellösung mit 2,75 % Peressigsäure-Anteil eine ausreichende Reduktion von $6,58 \pm 0,04 \log_{10}$ -Stufen. Eine Peressigsäure-Konzentration von 1,75 % in Wofasteril® SC super/2 % Alcapur® erreichte hingegen lediglich eine Sporenreduktion von $4,86 \pm 0,47 \log_{10}$ -Stufen.

Die weitere Temperaturabsenkung auf -20 °C (*-15,4 °C) reduzierte die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/2 % Alcapur® weiter (Abbildung 19 C, links). So erreichten 1,75 % und 2,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® nach 5 Minuten Einwirkzeit nur noch Sporenreduktionen von $3,72 \pm 0,05$ und

$5,08 \pm 0,50 \log_{10}$ -Stufen. Ein Vergleich mit Wofasteril®/0,5 % Alcapur® zeigte vergleichbar niedrige Reduktionsfaktoren für 2 % ($4,60 \pm 0,47 \log_{10}$ -Stufen) und 2,75 % Peressigsäure ($4,67 \pm 0,40 \log_{10}$ -Stufen). Um dennoch eine ausreichende Abtötung von Sporen auch bei Minusgraden gewährleisten zu können, wurde die Wirksamkeit von 1,75 % und 2,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® bei verlängerter Einwirkzeit von 10 Minuten getestet (Abbildung 19 C, rechts). Durch diese Maßnahme konnte eine ausreichende Wirksamkeit von 2,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® erzielt werden ($5,48 \pm 0,41 \log_{10}$ -Stufen) (* $-16,7^\circ\text{C}$).

Eine Temperaturerhöhung auf 35°C (* $35,7^\circ\text{C}$) hatte hingegen keinen Einfluss auf die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super (1,75 %)/1,5 % Alcapur® (Abbildung 19 D). So konnten bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten alle keimungsfähigen Sporen abgetötet werden ($6,60 \pm 0,20 \log_{10}$ -Stufen). Die vergleichende Analyse der Wirksamkeit von 1,75 % und 2 % Peressigsäure in Wofasteril®/0,5 % Alcapur® zeigte eine ähnlich hohe Effizienz für diese Gebrauchslösungen. So lagen die Reduktionsfaktoren hier bei $6,50 \pm 0,44$ (2 %) und $6,14 \pm 0,49 \log_{10}$ -Stufen (2,75 %).

Diese Ergebnisse zeigen nicht nur temperaturbedingte Wirksamkeitsschwankungen der Gebrauchslösungen von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur®, sondern auch des aktuell verwendeten Wofasteril®/0,5 % Alcapur®. So führte eine Verringerung der Temperatur zu einer Verschlechterung der oxidierenden Wirkung dieser beiden Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittel. Es ist anzunehmen, dass die Reaktivität der Peressigsäure selbst im Reaktionsgleichgewicht herabgesetzt ist, wodurch weniger Peressigsäure nachgebildet werden kann. Durch Erhöhung der Peressigsäure-Konzentrationen sowie der Einwirkzeit kann diesem Effekt jedoch entgegengewirkt und eine ausreichende Sporeninaktivierung erzielt werden. Es wurde zudem ein Gefrieren der Gebrauchslösung bei -20°C beobachtet. Bei höheren Temperaturen von bis zu 35°C hingegen ist die oxidierende Wirkung von Peressigsäure uneingeschränkt, was mit einer höheren Reaktionsgeschwindigkeit begründbar sein könnte. Die Unterschiede zwischen den PSA-Materialien lassen sich vermutlich eher auf die Materialbeschaffenheit und versuchsbedingte Schwankungen als auf die Desinfektionsmittelwirkung selbst zurückführen.

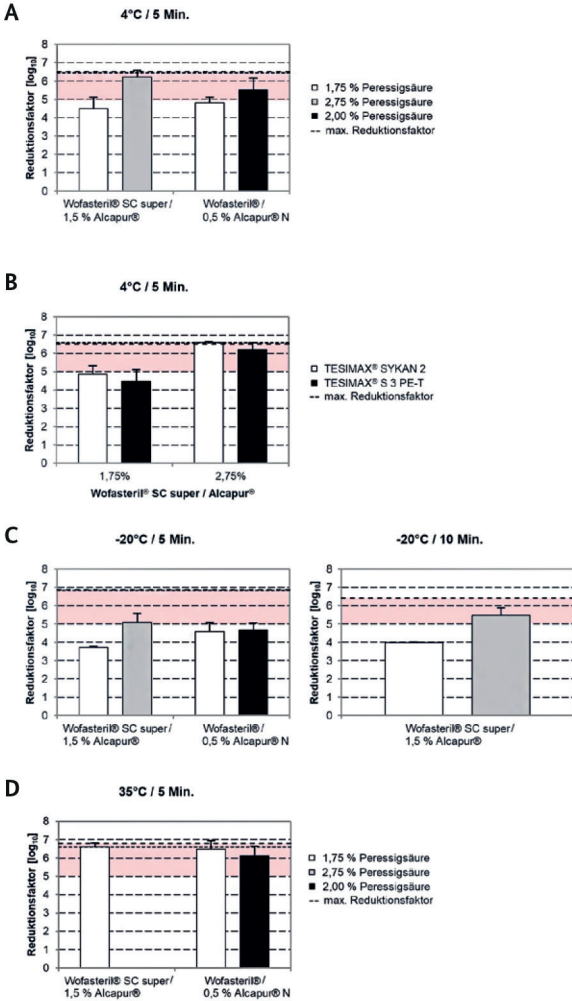


Abbildung 19: Wirksamkeit von Wofasteril® SC super gegenüber *B. thuringiensis* DSM-350 bei unterschiedlichen Temperaturen. Die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] wurden auf dem Keimträgermaterial im Prüfverfahren „Überschichtung mit Mechanik“ nach 48 Std. Kultivierung ermittelt (n = 3). Die Wirksamkeitsprüfung unterschiedlicher Peressigsäure-Konzentrationen erfolgte vergleichend mit den Produkten Wofasteril® SC super/Alcapur® sowie Wofasteril®/0,5 % Alcapur® N. Die Überprüfung erfolgte auf dem Keimträgermaterial TESIMAX® S 3 PE-T bei (A) 4 °C (*4,2 °C), (C, links) -20 °C (*-15,4 °C) sowie (D) 35 °C (*35,7 °C) mit einer Einwirkzeit von 5 Minuten sowie 10 Minuten (C, rechts) bei -20 °C (*-16,7 °C). Zusätzlich wurde vergleichend die Sporenreduktion auf den PSA-Materialien TESIMAX® S 3 PE-T und TESIMAX® SYKAN 2 bei (B) 4 °C (*4,2 °C) und einer Einwirkzeit von 5 Minuten überprüft. * kennzeichnet die im Versuch tatsächlich gemessenen Temperaturwerte. Eigene Darstellung.

Ziel des Projektes GranuTa – Überprüfung der Einsetzbarkeit von Desinfektionsmittelgranulaten für die Desinfektion von Einsatzmaterialien durch eine Tauchbaddesinfektion – war es, über ein praxisnahes Prüfverfahren verschiedene Desinfektionsmittel auf deren Einsetzbarkeit für die Desinfektion von Einsatzmaterialien während biologischer Gefahrenlagen zu überprüfen. Für diese Untersuchung wurde eine Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“ (Lemmer et al., 2012) vorgenommen.

4.2.1 Anpassung und Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell 1 Tauchverfahren“

Überprüfung der Notwendigkeit einer Tensidverwendung. Trotz der Aufnahme von *B. thuringiensis*-Sporen in 0,1 % Triton X-100, um die Bildung von Sporennagregaten zu verhindern, sollte eine „Wiederverklumpung“ in den Testansätzen und Verdünnungsreihen des Prüfverfahrens ausgeschlossen werden. Für die Überprüfung wurde das Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ (Abschnitt 3.2.1) zu Grunde gelegt. Hierzu erfolgte die Zugabe verschiedener Tenside zu den Negativkontrollansätzen oder den Verdünnungsreihen der Versuchsproben.

Tensidzugabe in Testansätzen

Getestet wurde der Einfluss von 1 %, 1,5 % und 2,0 % Alcapur® sowie 0,5 % Alcapur® N in 1 ml ddH₂O im Vergleich zu Ansätzen ohne ein zusätzliches Tensid. Der Einfluss der Tensidzugabe wurde über die Bestimmung der absoluten Sporenzahl in den Negativkontrollen der Versuchsproben sowie der daraus resultierenden Wiederfindungsrate beurteilt. Es zeigte sich, dass der Einsatz eines Tensids Auswirkungen auf die absolute Sporenzahl und somit auf die Wiederfindungsrate im Prüfverfahren haben würde (Tabelle 6). So führte der Verzicht auf ein Tensid zu einer Reduktion der absoluten Sporenzahl von $2,88 \times 10^6 \pm 9,9 \times 10^4$ auf $1,36 \times 10^5 \pm 3,26 \times 10^4$ und damit zu einer Wiederfindungsrate von nur $4,7 \pm 1,1$ % der eingesetzten *B. thuringiensis*-Sporen. Die Zugabe von 0,5 % Alcapur® N zum Ansatz konnte eine „Wiederverklumpung“ nicht ausreichend verhindern und resultierte in einer Wiederfindungsrate von nur $43,7 \pm 10,3$ %. Die Zugabe des Tensids Alcapur® (1 % und 1,5 %) zeigte hingegen gute Wiederfindungsraten von $72,1 \pm 6,3$ % und

72,5 ± 15,5 %. Mit einer Konzentration von 2,0 % Alcapur® konnten 91,2 ± 7,9 % der eingesetzten Sporen im Versuch wiedergefunden werden.

Tabelle 6: Einfluss der Tensidzugabe in Testansätzen

| | Wiedergefundene Sporenzahl (von $2,88 \times 10^6 \pm 9,9 \times 10^4$) | Wiederfindungsrate [%] |
|------------------|---|------------------------|
| H ₂ O | $1,36 \times 10^5 \pm 3,26 \times 10^4$ | 4,7 ± 1,1 |
| 1,0 % Alcapur® | $2,09 \times 10^6 \pm 1,70 \times 10^5$ | 72,1 ± 6,3 |
| 1,5 % Alcapur® | $2,10 \times 10^6 \pm 4,24 \times 10^5$ | 72,5 ± 15,5 |
| 2,0 % Alcapur® | $2,64 \times 10^6 \pm 1,77 \times 10^5$ | 91,2 ± 7,9 |
| 0,5 % Alcapur® N | $1,36 \times 10^6 \pm 3,22 \times 10^5$ | 43,7 ± 10,3 |

Tensidzugabe in Verdünnungsreihen

Im vorangegangenen Abschnitt wurde der Einfluss der Tensidzugabe zu den Testansätzen auf die Bestimmung der Reduktionsfaktoren dargestellt. Ohne Verwendung von 2 % Alcapur® kann die exakte Ermittlung der Desinfektionsmittelwirksamkeit nicht gewährleistet werden. Als Alternative wurde deshalb zusätzlich die Zugabe von Triton X-100 zu den Verdünnungsröhrchen der Negativkontrollen in einer Konzentration von 0,1 % und 0,01 % unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad (ohne Tensid)“ (Abschnitt 3.2.1) getestet. Es zeigte sich, dass die Zugabe von Triton X-100 in beiden Konzentrationen keinen positiven Einfluss auf die KBE-Bestimmung und somit auf die Reduktionsfaktorberechnung hatte (Tabelle 7). Keine der Wiederfindungsraten überstieg dabei 20 %. Zudem konnte ein verzögertes Wachstum der *B. thuringiensis*-Sporen in den Verdünnungsröhrchen mit TSB/0,01 % Triton X-100 und ausbleibendes Wachstum in TSB/0,1 % Triton X-100 nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt). Vermutlich ist dies auf eine Abtötung bereits ausgekeimter Sporen im Neutralisationsmedium zurückzuführen. Für diese vegetativen Stadien ist Triton X-100 toxisch. Da neben der KBE-Bestimmung auch das Wachstum in den Verdünnungsröhrchen essentiell ist für die richtige Berechnung der Reduktionsfaktoren, ist die Zugabe von Triton X-100 zu den Verdünnungsreihen in diesem Prüfverfahren nicht geeignet.

Tabelle 7: Einfluss der Tensidzugabe in Verdünnungsröhrchen

| | Wiedergefundene Sporenzahl (von $1,11 \times 10^6$) | Wiederfindungsrate [%] |
|----------------------------|---|------------------------|
| TSB | $2,15 \times 10^5 \pm 5,3 \times 10^4$ | $19,3 \pm 4,8$ |
| 0,1 % Triton X-100 | $2,09 \times 10^5$ | 18,8 |
| 0,01 % Triton X-100 | $2,10 \times 10^5 \pm 2,1 \times 10^4$ | $18,9 \pm 1,9$ |

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Verwendung eines Tensids in den Versuchsansätzen notwendig ist, um korrekte Reduktionsfaktoren bestimmen und verlässliche Aussagen zur Effizienz der Desinfektionsmittel treffen zu können. Auf Basis der hier gewonnenen Ergebnisse wurde eine Verwendung von 2 % Alcapur® in ddH₂O als Kontrolle in den Versuchen zur Desinfektionsmitteltestung festgelegt (Negativkontrollansatz). Wenn kein Tensid Bestandteil des Desinfektionsmittels war, so wurden ebenfalls 2 % Alcapur® zur Gebrauchslösung der Desinfektionsmittel (Desinfektionsmittellösung) hinzugegeben (Tensidzugaben sind in den Abbildungen des Ergebnisteils vermerkt). Eine Verwendung von Triton X-100 in den Verdünnungsröhrchen erwies sich als nicht geeignet.

Validierung Modell A. Der Aufbau des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ (Abbildung 4) wurde in Anlehnung an das Prüfverfahren „Modell 1 Tauchverfahren“ nach Lemmer et al. (2012; Abbildung 3) entwickelt. Die Eignung als Prüfmodell zur Testung der Desinfektionsmittel im Tauchbad wurde hinsichtlich folgender Kriterien beurteilt: Wiederfindungsrate eingesetzter Sporen, Verteilung der Sporen im Versuchsansatz sowie Reduktionsfaktoren. Dieses Modell wurde sowohl mit als auch ohne Zugabe eines Tensids getestet. Hierfür erfolgte die Zugabe von 2 % Alcapur® zu den Desinfektionsmittel- und Negativkontrollansätzen auf Basis der oben dargestellten Ergebnisse. Für die Validierung wurden *B. thuringiensis*-Sporen sowie 0,075 % Peressigsäure (Wofasteril®) als Desinfektionsmittel verwendet.

Wiederfindungsrate eingesetzter Sporen

In Modell A ohne Tensidzugabe konnten $37,9 \pm 4,9$ % der ursprünglich eingesetzten Sporen in den Negativkontrollansätzen nachgewiesen werden (Tabelle 8). Vermutlich kommt es während der Inkubationszeit in 1 ml der Desinfektionsmittel- bzw. Negativkontrolllösung zur Wiederverklumpung der Sporen, wenn kein Tensid in den Testansätzen vorhanden ist. Hinweise darauf wurden bereits mit den obigen Ergebnissen dargestellt. Zusätzlich wird diese Schlussfolgerung durch die

Validierung von Modell A mit einer Zugabe von 2 % Alcapur® zu den Testansätzen unterstützt. Die Zugabe führte zu einer Wiederfindungsrate der eingesetzten *B. thuringiensis* Sporen von $80,0 \pm 3,2$ % in den Negativkontrollansätzen.

Tabelle 8: Wiederfindungsrate [%] eingesetzter Sporen im Prüfverfahren „Modell A und B Tauchbad“

| Ansatz | Wiederfindungsrate [%] |
|-----------------|------------------------|
| Modell A | |
| ohne Tensid | $37,9 \pm 4,9$ |
| 2 % Alcapur® | $80,0 \pm 3,2$ |
| Modell B | |
| ohne Tensid | $53,9 \pm 7,5$ |

Verteilung der Sporen im Versuchsansatz

In diesem Modell werden nach einer 10-minütigen Einwirkzeit inklusive vortexen 100 µl der Suspension in Neutralisationsmedium der Versuchsproben überführt. Die verbleibenden 900 µl sowie der Keimträger werden in Neutralisationsmedium der Kontrollproben transferiert. Im Idealfall sollte es zu einer Verteilung lebender und inaktiver Sporen von 1:10 in den jeweiligen Testansätzen kommen. In Modell A ohne Tensidzugabe konnten $7,9 \pm 1,1$ % der eingesetzten Sporen in den Versuchsproben der Negativkontrollen nachgewiesen werden (Abbildung 20, links). Abweichend wiesen die Desinfektionsmittelansätze der Versuchs- ($49,9 \pm 0,1$ %) und Kontrollproben ($50,1 \pm 0,1$ %) nahezu identische Werte auf, obwohl ebenfalls eine 1:10-Verteilung zu erwarten war. Die Zugabe von 2 % Alcapur® im Modell A resultierte in einer Wiederfindungsrate von $9,1 \pm 0,2$ % der Sporen in den Versuchsproben der Negativkontrollansätze (Abbildung 20, rechts). In den entsprechenden Versuchsproben der Desinfektionsmittelansätze konnten vergleichbar gute Ergebnisse von $7,7 \pm 2,4$ % erzielt werden.

Reduktionsfaktoren

Die zu erwartenden vergleichbaren Reduktionsfaktoren in den Desinfektionsmittelansätzen der Versuchs- und Kontrollproben mit 0,075 % Peressigsäure konnten in Modell A ohne Tensidzugabe nachgewiesen werden (Abbildung 20 C, links). Beide Ansätze wiesen einen Reduktionsfaktor von $2,18 \pm 0,0 \log_{10}$ -Stufen auf. Auch

Modell A mit Zugabe von 2 % Alcapur® zeigte vergleichbare Reduktionsfaktoren zwischen den Versuchs- und Kontrollproben von $0,05 \pm 0,06$ und $0,06 \pm 0,10 \log_{10}$ -Stufen (Abbildung 20 C, rechts). Die bessere Desinfektionsmittelwirkung von 0,075 % Peressigsäure (Wofasteril®) in Modell A ohne Tensidzugabe lässt sich vermutlich auf die fehlende Verwendung von 2 % Alcapur® zurückführen, welche zum einen die Bildung von Sporenaggregaten verhindert, aber auch den pH-Wert der Lösung in den basischen Bereich verschiebt.

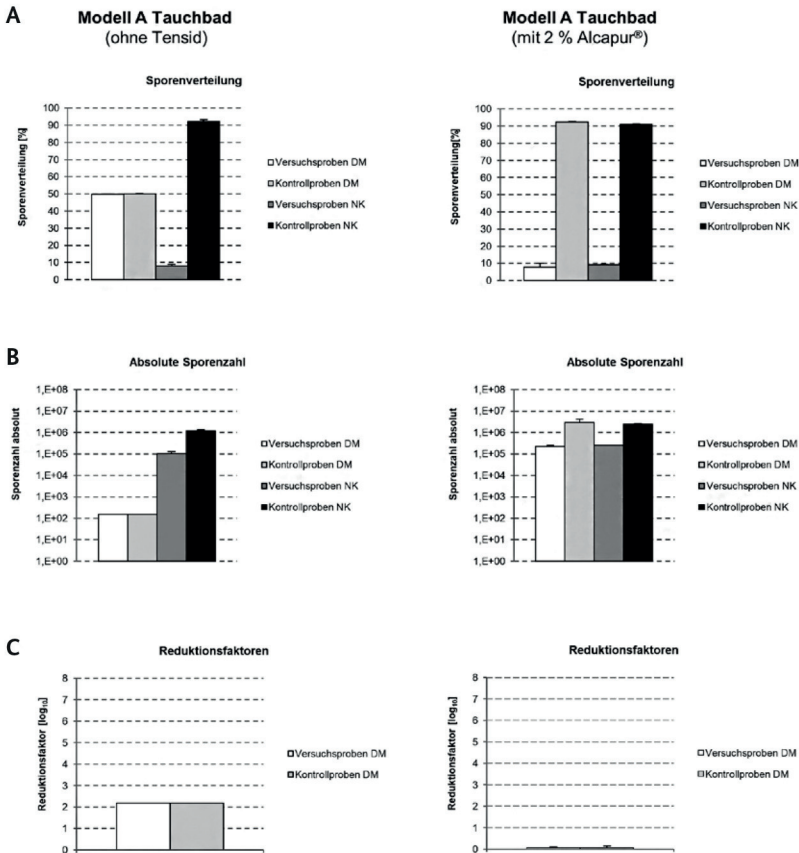


Abbildung 20: Validierung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“. Dargestellt ist die Validierung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ ohne Verwendung eines Tensids (links) und unter Verwendung von 2 % Alcapur® (rechts) nach den Kriterien Sporenverteilung im Versuch (A), absolute Sporenzahl (B) und Reduktionsfaktoren (C) ($n = 3$). Die Durchführung erfolgte unter Verwendung von *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen, dem Keimträgermaterial DEBASAFE™ Medical und Wofasteril® (0,075 % Peressigsäure). Die Kulturen wurden nach 48 Std. Kultivierung bewertet. bewertet. DM = Desinfektionsmittel, NK = Negativkontrolle. Eigene Darstellung.

Validierung Modell B. Der Aufbau des Prüfverfahrens Modell B (Abbildung 5) wurde in Anlehnung an DIN EN 14561 (Deutsches Institut für Normung e.V., 2006) entwickelt. Die Eignung als Prüfmethode zur Testung der Desinfektionsmittel im Tauchbad erfolgte hinsichtlich der Kriterien der Wiederfindungsrate eingesetzter Sporen, Verteilung der Sporen im Versuchsansatz sowie Reduktionsfaktoren. Für die Testung wurde zunächst kein Tensid verwendet. Als Desinfektionsmittel fand Wofasteril® mit einer Peressigsäure-Konzentration von 0,075 % sowie *B. thuringiensis*-Sporen Anwendung.

Wiederfindungsrate eingesetzter Sporen

In Modell B konnten lediglich $53,9 \pm 7,5$ % der eingesetzten Sporen wiedergefunden werden (Tabelle 8). Dies ist vermutlich auf ein fehlendes Tensid im Versuchsansatz zurückzuführen, was zu einer „Wiederverklumpung“ der Sporen führt. Die in den obigen Abschnitten dargelegten Ergebnisse geben bereits Hinweise darauf.

Verteilung der Sporen im Versuchsansatz

Das Überführen gespotteter Keimträger aus den Negativkontrollansätzen in das Neutralisationsmedium sollte zu einem vollständigen Transfer der Sporen führen. Es zeigte sich jedoch, dass lediglich $50,8 \pm 7,1$ % der eingesetzten Sporen im Neutralisationsmedium zu finden waren und der Rest im Ansatz verblieb (Abbildung 21 A und B). Die 10-minütige Inkubation im Desinfektionsmittel bzw. Negativkontrollansatz führt vermutlich zum Abschwemmen eines Teils der Sporen. In der Praxis würde dies kein Problem darstellen, limitiert aber die Aussagekraft zur Desinfektionsmittelwirksamkeit des Prüfverfahrens. Interessanterweise konnten im Desinfektionsmittelansatz der Versuchsproben anteilig mehr Sporen nachgewiesen werden ($86,4 \pm 0,7$ %).

Reduktionsfaktoren

Die zu erwartenden vergleichbaren Reduktionsfaktoren in den Desinfektionsmittelansätzen der Versuchs- und Kontrollproben konnten nicht nachgewiesen werden. So zeigte sich eine höhere Keimzahlreduktion in den Kontrollproben ($3,96 \pm 0,48$ \log_{10} -Stufen) gegenüber den Versuchsproben ($2,61 \pm 0,25$ \log_{10} -Stufen) (Abbildung 21 C). Diese Daten deuten auf eine verbesserte Desinfektionsmittelwirkung gegenüber den abgelösten, frei im Desinfektionsmittel schwimmenden Sporen hin, gegenüber denen, die fest am Keimträger haften.

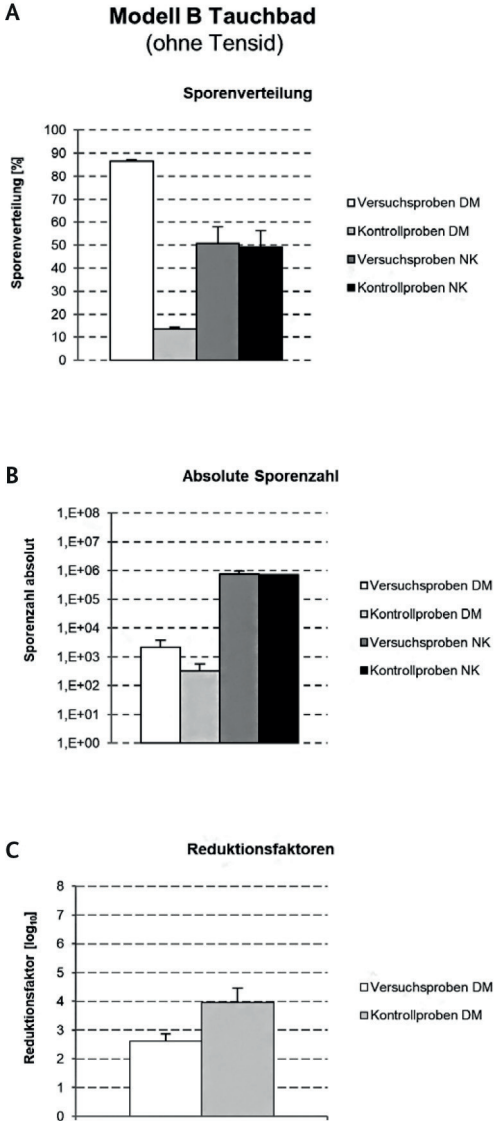


Abbildung 21: Validierung des Prüfverfahrens „Modell B Tauchbad“. Abgebildet ist die Validierung des Prüfverfahrens „Modell B Tauchbad“ nach den Kriterien Sporenverteilung im Versuch (A), absolute Sporenzahl (B) und Reduktionsfaktoren (C) (n = 3). Für die Durchführung wurden *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen, das Keimträgermaterial DEBASAFTTM Medical und Wofasteril[®] (0,075 % Peressigsäure)/ohne Tensid verwendet. Die Bewertung erfolgte nach 48 Std. Kultivierung. DM = Desinfektionsmittel, NK = Negativkontrolle. Eigene Darstellung.

Abschließend weisen die für die Validierung der Modelle A und B gewonnenen Daten darauf hin, dass die Verwendung eines Tensids (2 % Alcapur®) notwendig ist, um valide Daten für die Wirksamkeitsprüfung der Desinfektionsmittel im Tauchbad zu erhalten. Darüber hinaus erwies sich Modell A in Kombination mit 2 % Alcapur® als die geeignete Prüfmethode für die Wirksamkeitstestung. Dieses Verfahren wurde in diesem Projektabschnitt für die Vorversuche zur Identifikation sporizider sporizidwirksamer Desinfektionsmittel verwendet und wird folgend als Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ bezeichnet. Modell B konnte in der Validierung nicht als Prüfverfahren überzeugen.

4.2.2 Identifikation von im Tauchverfahren sporiziden Desinfektionsmitteln

Nach erfolgreicher Re-Etablierung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ erfolgte zunächst die Identifikation der Desinfektionsmittel, welche generell für die Desinfektion von Asservat-Behältern im Tauchbad geeignet sind. Insgesamt wurde die Wirksamkeit von elf Desinfektionsmittelgranulaten und einem flüssigen Präparat auf Basis von drei unterschiedlichen Wirkstoffen (Tabelle 1 und Tabelle 2) gegenüber den widerstandsfähigen *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen überprüft. In diesen Voruntersuchungen wurden zunächst die Gebrauchsverdünnungen nach Herstellerangaben (Tabelle 2) sowie mehrfache Konzentrationen auf dem Material DEBASAFTM Medical Transporttaschen untersucht.

Chlor abspaltende Desinfektionsmittel. Es wurden insgesamt vier Chlor-basierte Granulate hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen überprüft (Abbildung 22).

Nach Herstellerangaben enthält Hypochlorit-CA G zu 70 % den oxidierenden Feststoff Calciumhypochlorit (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2013, Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Eine nach Herstellervorgaben angesetzte Gebrauchslösung von 0,0015 % Hypochlorit-CA G sollte demnach einen Wirkstoffgehalt von 0,00105 % Chlor aufweisen. Eine Lösung Hypochlorit-CA G/2 % Alcapur® mit 0,00105 % und 0,0021 % Chlor zeigte nahezu keine sporenabtötende Wirkung (Abbildung 22 A). Die Reduktionsfaktoren lagen bei $0,00 \pm 0,10$ und $0,04 \pm 0,02 \log_{10}$ -Stufen. Abweichend von den Herstellerangaben wurde jedoch mit einer Erhöhung der Chlor-Konzentration auf bis zu 1,4 % und 1,75 % die gewünschte Mindestsporenreduktion von $> 5 \log_{10}$ -Stufen erreicht (Abbildung 22 B).

Das Granulat Chlorifix® besteht zu > 98 % aus dem Wirkstoff Natriumdichlorisocyanurat Dihydrat mit einer Chlor-Konzentration von 56 % (BAYROL Deutschland GmbH, 2018a). Eine Gebrauchslösung von 0,002 % nach Herstellerangaben weist

demnach 0,0112 % Chlor auf. Eine Lösung Chlorifix®/2 % Alcapur® mit 0,0112 % und 0,0224 % Chlor erzielte mit $0,06 \pm 0,01$ und $0,09 \pm 0,04$ \log_{10} -Stufen nahezu keine Reduktion von *B. thuringiensis*-Sporen (Abbildung 22 A).

Halamid® enthält Chloramin T Trihydrat in einer Konzentration von ≥ 98 % (Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH, 2018). Das Granulat wurde ohne Tensidzugabe in einer 2%igen Gebrauchslösung nach Herstellerangaben mit 0,25 % Chlor sowie einer 4%igen Lösung mit 0,5 % Chlor überprüft (Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH, 2008). Diese Konzentrationen erzielten lediglich Reduktionen keimungsfähiger Sporen von $0,56 \pm 0,09$ und $0,70 \pm 0,03$ \log_{10} -Stufen (Abbildung 22 A).

Mini Haz-Tabs weisen einen Wirkstoffgehalt an Natriumdichlorisocyanurat von 30 bis 60 % auf (Guest Medical Limited, 2017). Eine Gebrauchslösung von 1 Tab/2 Liter enthält nach Herstellerangaben 0,014 % Chlor. Mit einer Lösung Mini Haz-Tabs/2 % Alcapur® mit 0,014 % und 0,028 % Chlor konnte keine ausreichende Inaktivierung keimungsfähiger Sporen nachgewiesen werden (Abbildung 22 A). Die Reduktionen lagen bei $0,80 \pm 0,06$ und $0,95 \pm 0,13$ \log_{10} -Stufen. Eine Erhöhung der Chlor-Konzentration auf 0,504 % und 0,758 % führte jedoch zu einer ausreichenden Inaktivierung keimungsfähiger *B. thuringiensis*-Sporen von > 5 \log_{10} -Stufen (Abbildung 22 B).

Aus der Gruppe der Chlor abspaltenden Desinfektionsmittelgranulate wies keines in den zunächst getesteten Konzentrationen eine ausreichende Wirksamkeit im Tauchverfahren gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen auf. Die Granulate Hypochlorit-CA G und Mini Haz-Tabs konnten jedoch eine ausreichende Sporenreduktion bei entsprechender Erhöhung der Chlor-Konzentration erzielen. Es ist nicht auszuschließen, dass eine solche Erhöhung auch bei den Granulaten Chlorifix® und Halamid® zu einer Verbesserung der Wirksamkeit führen würde. Die beiden Desinfektionsmittel Hypochlorit-CA G und Mini Haz-Tabs wurden folgend eingehender auf ihre Wirksamkeit gegenüber hochpathogenen *Bacillus*-Sporen und bei veränderten Temperaturbedingungen untersucht.

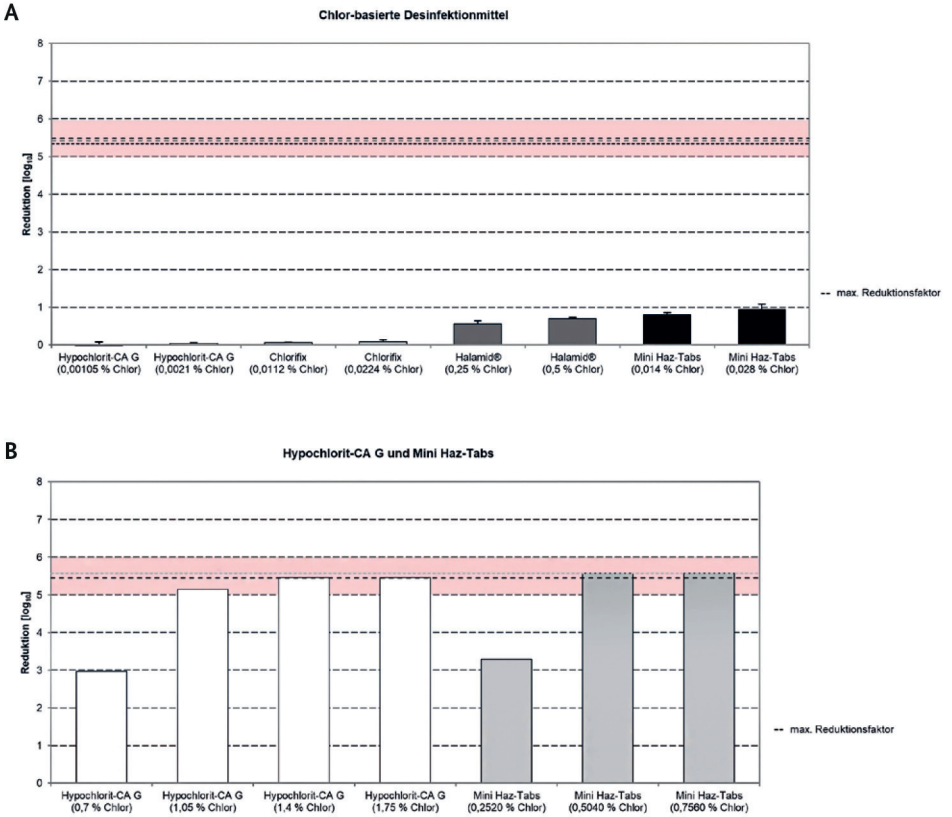


Abbildung 22: Wirksamkeit von Chlor-basierten Desinfektionsmittelgranulaten gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen bei Raumtemperatur und Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Abgebildet sind die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittelgranulate nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten mit dem Keimträgermaterial DEBASAPE™ Medical. Die Wirksamkeit wurde unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ nach 48 Std. Kultivierung bestimmt. In (A) ist die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G/2 % Alcapur®, Chlorifix®/2 % Alcapur®, Halamid®/ohne Tensid sowie Haz-Tabs/2 % Alcapur® in Abhängigkeit von der Chlor-Konzentration gezeigt (n = 3). Graph B zeigt die Wirksamkeit von Hypochlorit-CA G/2 % Alcapur® und Haz-Tabs/2 % Alcapur® bei aufsteigender Chlor-Konzentration (n = 1). Eigene Darstellung.

Peressigsäure-basierte Desinfektionsmittel. Zusätzlich zu drei Peressigsäure-basierten Granulaten wurde ein flüssiges Peressigsäure-Präparat auf die Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen im Tauchbad überprüft (Abbildung 23).

Das flüssige Peressigsäure-basierte Desinfektionsmittel Wofasteril® SC super enthält nach Herstellerangaben zwischen 11 und 15 % Peressigsäure (Kesla Hygiene AG, 2018). Eine entsprechende Gebrauchslösung aus 1,5 % Wofasteril® SC super mit 1,5 % Alcapur® (Kesla Hygiene AG, 2019a) weist demnach eine Peressigsäure-Konzentration von $\geq 0,165$ % auf. Für die Überprüfung im Tauchverfahren wurden eine für den Seuchenfall zu verwendende Lösung von 2 % Wofasteril® SC super (0,22 % Peressigsäure)/2 % Alcapur® (Kesla Hygiene AG, 2019a) sowie 4 % Wofasteril® SC super (0,44 % Peressigsäure)/2 % Alcapur® verwendet. Beide Konzentrationen erzielten hierbei eine ausreichende Reduktion keimungsfähiger Sporen von $5,18 \pm 0,55$ und $5,51 \pm 0,08$ \log_{10} -Stufen.

Nach Herstellerangaben weist das Granulat Sekusept™ aktiv, in einer 2%igen Anwendungslösung einen Peressigsäure-Gehalt von $> 0,1$ % auf (Ecolab Healthcare Europe, 2018). Die Lösung Sekusept™ aktiv (0,1 % Peressigsäure)/ohne Tensid erzielte bereits eine Sporenreduktion von $4,96 \pm 0,64$ \log_{10} -Stufen. Zusätzlich wurde eine für den Seuchenfall empfohlene 7%ige Gebrauchslösung Sekusept™ aktiv (0,35 % Peressigsäure)/ohne Tensid überprüft (Ecolab Healthcare Europe, 2018), mit der sich die Reduktion keimungsfähiger Sporen auf ausreichende $5,56 \pm 0,02$ \log_{10} -Stufen verbesserte.

Das Granulat neodisher® endo DIS active enthält in einer Gebrauchslösung von 2 % nach Herstellerangaben 0,3 % Peressigsäure (Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, 2017). Eine Lösung neodisher® endo DIS active (0,3 % Peressigsäure)/ohne Tensid erzielte bereits eine Sporenreduktion von $4,55 \pm 1,31$ \log_{10} -Stufen. Mit einer Aufkonzentrierung auf 0,6 % Peressigsäure konnte eine ausreichende Reduktion von *B. thuringiensis*-Sporen von $5,49 \pm 0,02$ \log_{10} -Stufen nachgewiesen werden.

Incidin™ Active enthält in einer 1%igen Anwenderlösung nach Herstellerangaben 0,06 % Peressigsäure (Ecolab Healthcare Europe, 2017). Eine nach RKI-Desinfektionsmittelliste empfohlene (Robert Koch-Institut, 2017, Robert Koch-Institut, 2018) 3%ige Gebrauchslösung Incidin™ Active (0,18 % Peressigsäure)/ohne Tensid zeigte bereits eine komplette Inaktivierung keimungsfähiger Sporen ($5,61 \pm 0,05$ \log_{10} -Stufen). Ein erwartungsgemäß vergleichbares Ergebnis konnte auch bei einer Peressigsäure-Konzentration von 0,36 % nachgewiesen werden.

In der Gruppe der Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittel zeigten alle im Tauchbad untersuchten Desinfektionsmittel eine ausreichende Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen. In Absprache mit dem BBK wurden nur zwei Granulate mit der besten Wirkung für die weiterführenden Untersuchungen zur Wirksamkeit gegenüber hochpathogenen *Bacillus*-Sporen und bei veränderten

Temperaturbedingungen ausgewählt. Dazu zählten aus dieser Gruppe Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active.

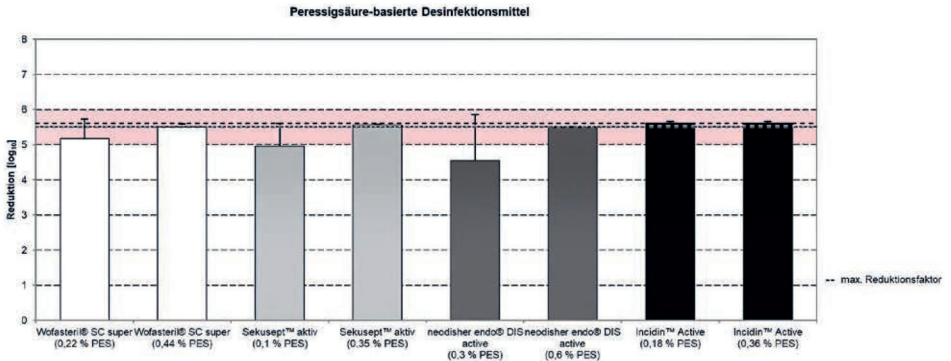


Abbildung 23: Wirksamkeit von Peressigsäure-basierten Desinfektionsmitteln gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen bei Raumtemperatur und Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Dargestellt sind die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittel nach 10-minütiger Einwirkzeit und mit dem Keimträgermaterial DEBAsAFE™ Medical (n = 3). Die Bestimmung der Wirksamkeit erfolgte unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ nach 48 Std. Kultivierung. Die Diagramme zeigen die Wirksamkeit von Wofasteril® SC super/2 % Alcapur®, Sekusept™ aktiv/ohne Tensid, neodisher® endo DIS active/ohne Tensid sowie Incidin™ Active/ohne Tensid in Abhängigkeit von der Konzentration an Peressigsäure. Eigene Darstellung.

Aktivsauerstoff-basierte Desinfektionsmittelgranulate. In der Gruppe der Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittel wurden insgesamt vier Granulate auf ihre Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen getestet (Abbildung 24).

Das Desinfektionsmittelgranulat Dismozon® plus enthält als Hauptwirkstoff Magnesium monoperoxyphthalat Hexahydrat, welches in einer Konzentration von ≥ 90 bis ≤ 100 % vorliegt (BODE Chemie GmbH, 2015). Es wurden Gebrauchslösungen Dismozon® plus/ohne Tensid mit Aktivsauerstoff-Konzentrationen von 0,13 % und 0,26 % auf ihre Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen überprüft (BODE Chemie GmbH, 2020). Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten erzielten diese Konzentrationen Reduktionsfaktoren von $2,57 \pm 0,21$ sowie ausreichende $5,40 \pm 0,01$ log₁₀-Stufen.

100 g des Granulats Perform® enthalten an wirksamen Bestandteilen 45 g Pentakalium-bis(peroxymonosulfat-) bis(sulfat) und 2 % Aktivsauerstoff (Schülke & Mayr GmbH, 2017, Schülke & Mayr GmbH, 2019). Mit Gebrauchslösungen von Perform®/

ohne Tensid, die einen Aktivsauerstoffgehalt von 0,06 % und 0,12 % aufwiesen, konnten gegenüber *B. thuringiensis* lediglich Sporenreduktionen von $0,64 \pm 0,14$ und $1,23 \pm 0,14 \log_{10}$ -Stufen nachgewiesen werden.

Das Granulat Virkon® S enthält als Hauptwirkstoff Pentakalium-bis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) in einer Konzentration zwischen 30 und 50 % (Antec International Limited, 2015). Nach Herstellerangaben weist eine 1%ige Gebrauchslösung 0,1035 % Aktivsauerstoff auf (AGRAVIS Raiffeisen AG, 2019). Mit einer Lösung Virkon® S/ohne Tensid und 0,1035 % sowie 0,2070 % Aktivsauerstoff konnten lediglich Reduktionen keimungsfähiger Sporen von $0,58 \pm 0,31$ und $0,96 \pm 0,22 \log_{10}$ -Stufen nachgewiesen werden.

Als Hauptbestandteil des Granulats Descogen®-I liegt Pentakalium-bis(peroxymonosulfat)-bis(sulfat) (Caroat) mit einer Konzentration von 60 g/100 g vor (ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2016). Caroat selbst weist einen Aktivsauerstoffgehalt von 4,5 % auf (ANTISEPTICA Dr. H.-J. Molitor GmbH, 2019). Die Aktivsauerstoff-Konzentration einer 1,5%igen Gebrauchslösung beträgt demnach 0,0405 %. Lösungen von Descogen®-I (0,0405 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid und Descogen®-I (0,081 % Aktivsauerstoff)/ohne Tensid erzielten lediglich Sporenreduktionen von $0,72 \pm 0,10$ und $1,29 \pm 0,25 \log_{10}$ -Stufen. Dieses Granulat war nahezu wirkungslos im Tauchverfahren gegenüber den *B. thuringiensis*-Sporen.

In der Gruppe der Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittel überzeugte nur das Granulat Dismozon® plus mit einer ausreichenden Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis* Sporen im Tauchbad. Dieses Granulat wurde in die weiterführenden Überprüfungen zur Wirksamkeit gegenüber hochpathogenen *Bacillus*-Sporen und bei veränderten Temperaturbedingungen aufgenommen.

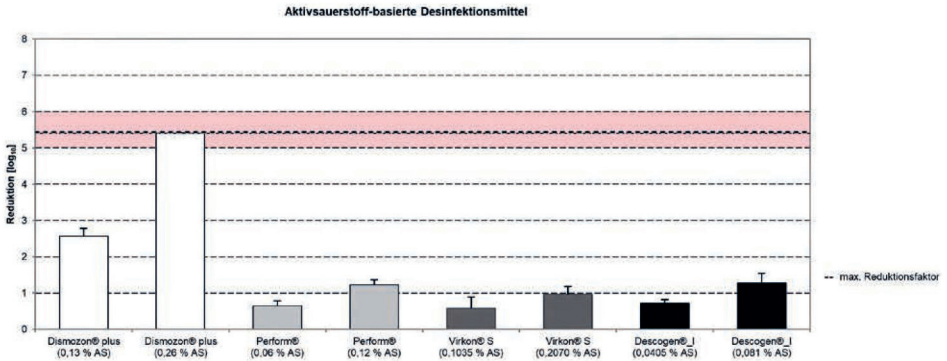


Abbildung 24: Wirksamkeit von Aktivsauerstoff-basierten Desinfektionsmittelgranulaten gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen bei Raumtemperatur und Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Die Diagramme zeigen die Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] unterschiedlicher Desinfektionsmittelgranulate bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten mit dem Keimträgermaterial DEBASAFTTM Medical (n = 3). Die Wirksamkeitsüberprüfung erfolgte unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ nach 48 Std. Kultivierung. Gezeigt ist die Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Aktivsauerstoffkonzentration in Dismozon® plus/ohne Tensid, Perform®/ohne Tensid, Virkon® S/ohne Tensid sowie Descogen®-I/ohne Tensid. Eigene Darstellung.

Die Daten dieser Voruntersuchung zeigen, dass die hier untersuchten Desinfektionsmittel unter Verwendung der Herstellerkonzentrationen in dem verwendeten Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ nicht ausreichend wirksam gegenüber *B. thuringiensis*-Sporen waren. Durch eine Erhöhung der Gebrauchskonzentration konnten jedoch in jeder Wirkstoffgruppe Desinfektionsmittel mit einer ausreichenden Sporenreduktion identifiziert werden. In Absprache mit dem BBK wurden folgende Desinfektionsmittelgranulate weiterführend untersucht: SekuseptTM aktiv, IncidinTM Active, Mini Haz-Tabs und Dismozon® plus.

4.2.3 Bestimmung sporizider Desinfektionsmittelkonzentrationen

Nach erfolgreicher Vortestung verschiedenster Desinfektionsmittelgranulate wurden in Absprache mit dem BBK vier Produkte für die weiterführenden Untersuchungen gegenüber hochpathogenen *B. anthracis*-11/38-Sporen ausgewählt. Dazu zählten SekuseptTM aktiv, IncidinTM Active, Mini Haz-Tabs und Dismozon® plus. Diese wurden im Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ unter S3-Bedingungen getestet (Abschnitt 3.2.1, Abbildung 6). Die Ergebnisse sind in Abbildung 25 dargestellt.

SekuseptTM aktiv/ohne Tensid zeigte in einer Gebrauchslösung mit 0,5 % und 0,6 % Peressigsäure Sporenreduktionen von $4,91 \pm 1,70$ und $6,10 \pm 0,01$ log₁₀-Stufen. Damit konnte dieses Desinfektionsmittel in der höchstmöglichen zu testenden

Konzentration von 12 % (Löslichkeitsgrenze) in der Tauchbaddesinfektion eine komplette Inaktivierung von *B. anthracis*-11/38-Sporen erzielen.

Die Anwendungslösungen Incidin™ Active/ohne Tensid mit Peressigsäure-Konzentrationen von 0,54 % und 0,72 % zeigten ebenfalls vollständige Reduktionen keimungsfähiger Sporen. So lagen die Reduktionsfaktoren hier bei $6,06 \pm 0,05$ und $6,04 \pm 0,03 \log_{10}$ -Stufen.

Für die Gebrauchslösungen Mini Haz-Tabs/2 % Alcapur® mit Chlor-Konzentrationen von 0,756 % und 1,008 % konnten ebenfalls ausreichende Inaktivierungen von *B. anthracis*-11/38-Sporen nachgewiesen werden. Die Reduktionsfaktoren betragen dabei $6,03 \pm 0,04$ und $6,02 \pm 0,04 \log_{10}$ -Stufen.

Die Lösungen Dismozon® plus/ohne Tensid mit Aktivsauerstoff-Konzentrationen von 0,46 % und 0,55 % konnten keine ausreichende Inaktivierung von *B. anthracis*-11/38-Sporen erzielen. Es wurden Reduktionsfaktoren von $3,65 \pm 0,60$ und $4,45 \pm 1,22 \log_{10}$ -Stufen nachgewiesen. Eine Erhöhung der Konzentration auf über 12 % war aus Gründen der Löslichkeitsgrenze nicht möglich.

Die Ergebnisse der Überprüfung ausgewählter Desinfektionsmittelgranulate im Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ unter S3-Bedingungen zeigen auch gegenüber Sporen des hochpathogenen *B. anthracis*-11/38-Stammes gute Wirksamkeiten. So erwiesen sich drei der vier eingehender getesteten Produkte als geeignet für die weiterführenden Untersuchungen bei veränderten Temperaturen. Dazu zählen die Peressigsäure-basierten Granulate Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active sowie das Chlor abspaltende Mittel Mini Haz-Tabs.

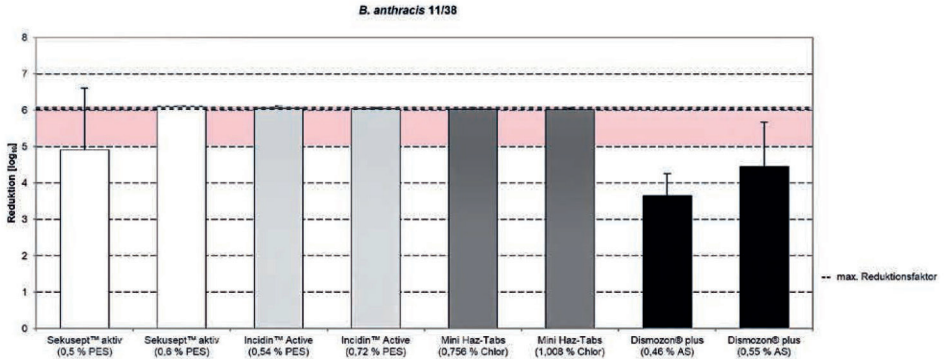


Abbildung 25: Wirksamkeit ausgewählter Desinfektionsmittelgranulate gegenüber *B. anthracis*-11/38-Sporen bei Raumtemperatur und Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ erfolgte die Bestimmung der Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] nach 48 Std. Kultivierung (n = 3). Gezeigt ist die Wirksamkeit mit dem Keimträgermaterial DEBASAFE™ Medical und einer Einwirkzeit von 10 Minuten für die Desinfektionsmittel Sekusept™ aktiv®/ohne Tensid, Incidin™ Active/ohne Tensid, Mini Haz-Tabs/2 % Alcapur® sowie Dismozon® plus/ohne Tensid. Eigene Darstellung.

4.2.4 Wirksamkeitsanalysen bei unterschiedlichen Temperaturen

Nach Überprüfung der Desinfektionsmittel gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350- sowie *B. anthracis*-11/38-Sporen bei Raumtemperatur sollten nun als ausreichend sporizid getestete Desinfektionsmittel auch bei veränderten Temperaturen untersucht werden. Die Analyse erfolgte bei Temperaturbedingungen von 4 °C und 35 °C. Hierfür wurden das Asservat-Behältermaterial DEBASAFE™ Medical bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten und Sporen des gemäß Tenazitätsversuchs widerstandsfähigen *B. thuringiensis* DSM-350 verwendet (Abbildung 8 C, Tabelle 3). Das Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ S2-Bedingungen wurde (wie unter Abschnitt 3.2.4 (Abbildung 6) beschrieben) abgewandelt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 26 dargestellt.

Eine Anwenderlösung Sekusept™ aktiv/ohne Tensid zeigte mit den Peressigsäure-Konzentrationen 0,5 % und 0,6 % bei niedrigen Temperaturen von 4 °C (* 3,7 °C) eine verringerte Wirksamkeit gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen. So konnten nur noch Sporenreduktionen von $3,91 \pm 1,03$ und $3,44 \pm 0,24$ log₁₀-Stufen nachgewiesen werden (Abbildung 26 A). Eine Erhöhung der Temperatur auf 35 °C (* 34,4 °C) hatte hingegen keine negativen Auswirkungen auf die Wirksamkeit des Granulats. So erzielte die Lösung Sekusept™ aktiv/ohne Tensid mit den

Peressigsäure-Konzentrationen 0,5 % und 0,6 % eine vollständige Inaktivierung mit Reduktionsfaktoren von $5,37 \pm 0,05$ und $5,37 \pm 0,05$ \log_{10} -Stufen (Abbildung 26 B).

Auch das Granulat Incidin™ Active zeigte verringerte Wirksamkeiten bei Absenkung der Temperatur auf 4 °C (* 3,8 °C). So zeigten Gebrauchslösungen Incidin™ Active/ohne Tensid mit Peressigsäure-Konzentrationen von 0,54 % und 0,72 % lediglich Reduktionsfaktoren von $4,57 \pm 1,42$ und $4,57 \pm 1,39$ \log_{10} -Stufen (Abbildung 26 A). Bei einer Erhöhung der Temperatur auf 35 °C (* 34,3 °C) konnte jedoch keine Verschlechterung der Wirksamkeit nachgewiesen werden. So erreichten beide untersuchten Anwendungslösungen eine vollständige Inaktivierung von *B. thuringiensis* DSM-350-Sporen in der Tauchbaddesinfektion. Die Reduktionsfaktoren lagen hierbei jeweils bei $5,54 \pm 0,08$ \log_{10} -Stufen (Abbildung 26 B).

Die Wirksamkeit von Mini Haz-Tabs mit einer Chlor-Konzentration von 0,756 % und 1,008 % blieb hingegen sowohl bei 4 °C (* 3,8 °C) als auch bei 35 °C (* 34,1 °C) unverändert (Abbildung 26). Es konnte bei beiden Temperaturen eine vollständige Inaktivierung von *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen nachgewiesen werden. Die Reduktionsfaktoren betragen bei 4 °C jeweils $5,43 \pm 0,02$ und bei 35 °C $5,34 \pm 0,01$ \log_{10} -Stufen.

Diese Daten weisen darauf hin, dass eine Verringerung der Temperatur auf 4 °C negative Auswirkungen auf die Wirksamkeit von Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittelgranulaten hat. Ein vergleichbarer Effekt konnte bereits im Projekt GranPSA für die ebenfalls Peressigsäure-basierten Produkte Wofasteril® und Wofasteril® SC super gezeigt werden (Abschnitt 4.1.3). So konnten im Projekt GranTa die Mittel Sekusept™ aktiv und Incidin™ Active keine ausreichende Sporenreduktion mehr im Tauchbad erzielen. Eine Erhöhung der Einwirkzeit könnte sich zwar möglicherweise positiv auf die Wirksamkeit der Produkte auswirken, jedoch ist eine Umsetzung längerer Einwirkzeiten über 10 Minuten in der Praxis fraglich. Die Wirksamkeit des Chlor-basierten Desinfektionsmittels Mini Haz-Tabs blieb hingegen sowohl bei Temperaturabsenkung (4 °C) als auch -erhöhung (35 °C) stabil. Dieses Desinfektionsmittel zeigte als einziges im hier verwendeten Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ bei allen getesteten Parametern eine ausreichende Inaktivierung von *Bacillus*-Sporen.

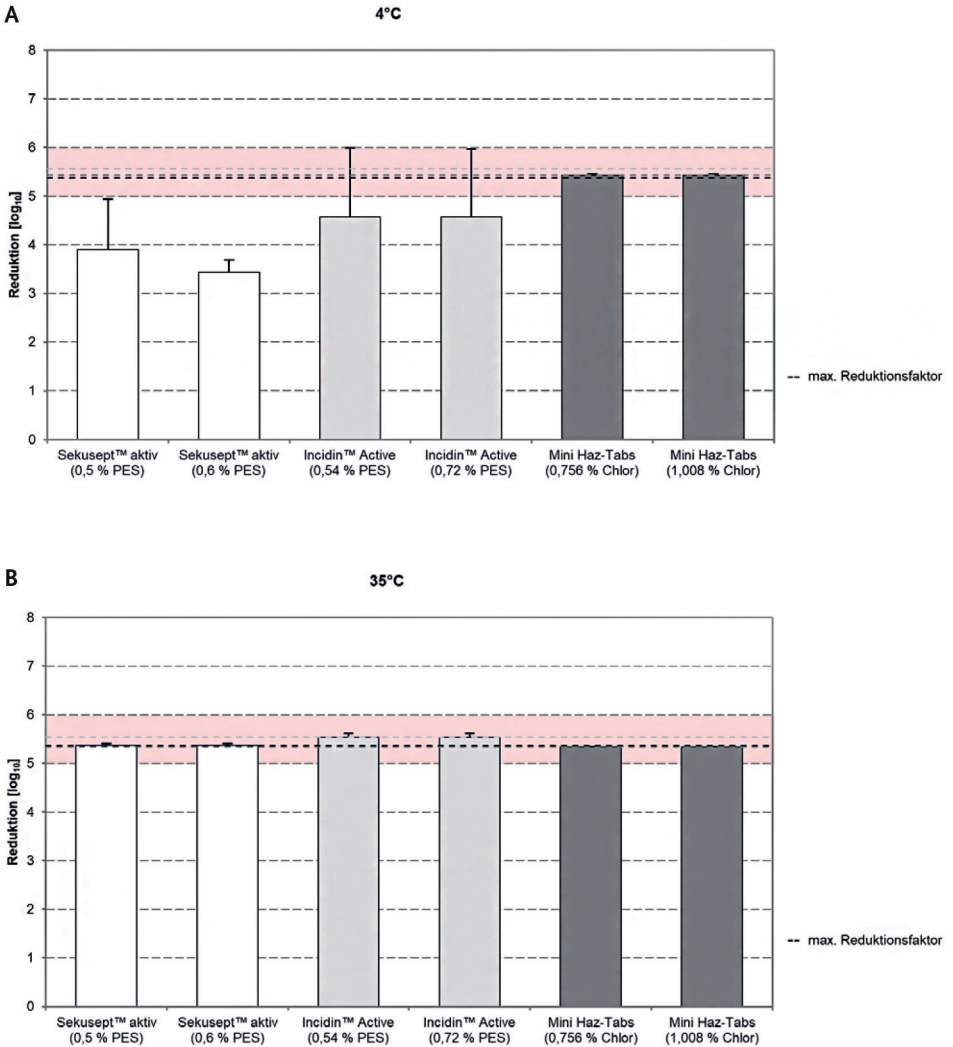


Abbildung 26: Wirksamkeit ausgewählter Desinfektionsmittelgranulate gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen bei Temperaturen von 4 °C und 35 °C sowie Verschmutzung mit 0,3 % BSA. Die Bestimmung der Reduktionsfaktoren [log₁₀-Stufen] erfolgte unter Verwendung des Prüfverfahrens „Modell A Tauchbad“ nach 48 Std. Kultivierung (n = 3). Gezeigt ist die Wirksamkeit der Mittel Sekusept™ aktiv/ohne Tensid (* 3,7 °C/* 34,4 °C), Incidin™ Active/ohne Tensid (* 3,8 °C/* 34,3 °C) sowie Mini Haz-Tabs/ohne 2 % Alcapur® (* 3,8 °C/* 34,1 °C) bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten mit dem Keimträgermaterial DEBASAFE™ Medical bei (A) 4 °C und (B) 35 °C. * kennzeichnet die im Versuch tatsächlich gemessenen Temperaturwerte. Eigene Darstellung.

4.3.1 Bestimmung der Wirkstoffkonzentrationen und Haltbarkeit

Im Ernstfall einer biologischen Gefahrenlage ist die genaue Wirkstoffkonzentration eingesetzter Desinfektionsmittellösungen entscheidend für den Erfolg der Desinfektion. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Lagerungsstabilität der Wirkstoffkonzentration. Aus diesem Grund wurden die Wirkstoffkonzentrationen in Hypochlorit-CA G und Wofasteril® SC super durch iodometrische Titration vor den jeweiligen Versuchen und über einen Zeitraum von mehreren Wochen bestimmt.

Wirkstoffkonzentration von Chlor in Hypochlorit-CA G. Hypochlorit-CA G lässt sich in die Gruppe der sogenannten Chlor abspaltenden Desinfektionsmittel einordnen. Dieses Produkt besteht zu 95 % aus Calciumhypochlorit, von denen anteilig ≥ 70 % in Wasser wirksame Chlorverbindungen darstellen (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2018a, Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Hauptsächlich basiert die Wirkung dieses Mittels auf der oxidierenden Aktivität der Chlorverbindungen. Durch iodometrische Titration konnte die genaue Konzentration an frei verfügbarem Chlor in einer 1%igen Gebrauchslösung von Hypochlorit-CA G über mehrere Wochen bestimmt werden (Abbildung 27). So wies Hypochlorit-CA G direkt nach der Öffnung des Gebindes eine den Herstellerangaben entsprechende Chlor-Konzentration von 73,69 % auf. Auch wenn der Wirkstoffgehalt kontinuierlich über den Zeitraum von 84 Tagen sank, so lag dieser am Ende noch bei 67,79 %. Dies entsprach einem Gesamtwirkstoffverlust von insgesamt 8,01 % Chlor. Auch wenn demnach die Öffnung des Gebindes nur langsam zu einem Wirkstoffverlust führte, so ist für den Einsatzfall stets die Verwendung eines frischen Gebindes zu empfehlen. Darüber hinaus wäre für die Bestimmung der genauen Chlor-Konzentration eine Laborausstattung notwendig. Aktuell ist das Granulat in Gebindegrößen von 1 kg, 5 kg und 10 kg erhältlich (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2018b). Das Pufferadditiv Alcapur® ist in einer Lieferbindegröße von 10 l und 20 l erhältlich (Kesla Hygiene AG). Eine abschließende Einsatzempfehlung für dieses Desinfektionsmittelgranulat ist in Abschnitt „Abschließende Bewertung“ beschrieben.

Titration Hypochlorit-CA G

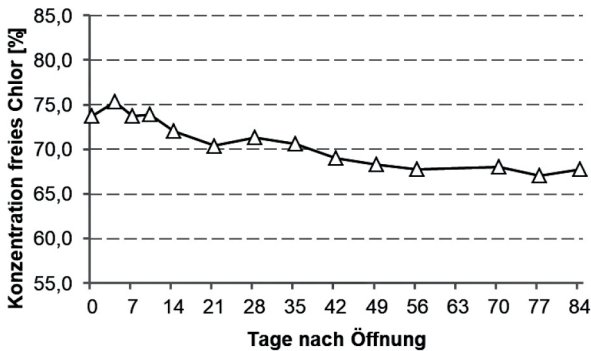


Abbildung 27: Wirkstoffkonzentration von Chlor in Hypochlorit-CA G im Zeitverlauf. Gezeigt ist die durch iodometrische Titration ermittelte Wirkstoffkonzentration von freiem Chlor in Hypochlorit-CA G über einen Zeitraum von 84 Tagen nach Öffnung des Gebindes. Die Titration erfolgte zu jedem Zeitpunkt standardisiert und in Dreifachbestimmung. Eigene Darstellung.

Die Wirkstoffkonzentration von Peressigsäure in Wofasteril® SC super.

Wofasteril® SC super kann der Gruppe der Peressigsäure-basierten Desinfektionsmittel zugeordnet werden. Die chemische Zusammensetzung der Gleichgewichts-Peroxyessigsäure in einem organischen Lösungsmittel (Solvent-Cage-Typ) ist wie folgt: Wasserstoffperoxid (1–35 %), Essigsäure (1–10 %) und Peroxyessigsäure (10–25 %) (Kesla Hygiene AG, 2014). Das Pufferadditiv Alcapur® besteht zu < 15 % aus Natriumhydroxid und zwischen 5 % und 15 % aus anionischen Tensiden. Durch iodometrische Titration erfolgte die genaue Bestimmung der Peressigsäure-Konzentration in einer 10%igen Gebrauchslösung 1 : 1 Wofasteril® SC super/Alcapur®. So wies diese Lösung 3 Tage nach Öffnung eine Konzentration von 16,02 % auf und betrug nach 83 Tagen 14,98 % (Abbildung 28). Dies entsprach einem Abfall der Peressigsäure-Konzentration von 1,04 % und damit einem Gesamtwirkstoffverlust von 6,49 %. Die hier für diesen Zeitraum gemessenen Peressigsäure-Konzentrationen liegen demnach innerhalb der vom Hersteller festgelegten Freigabespezifikationen von 11 bis 15 % (Kesla Hygiene AG, 2018). Auch wenn es nach Öffnung des Gebindes nur langsam zu einem Wirkstoffverlust kommt, so ist für den Einsatzfall stets die Verwendung eines frischen Gebindes zu empfehlen. Zudem wäre für die Bestimmung der genauen Peressigsäure-Konzentration eine Laborausstattung notwendig. Aktuell sind Wofasteril® SC super und das Pufferadditiv Alcapur® in Liefergebindegrößen von 10 l und 20 l erhältlich (Kesla Hygiene AG, 2019a).

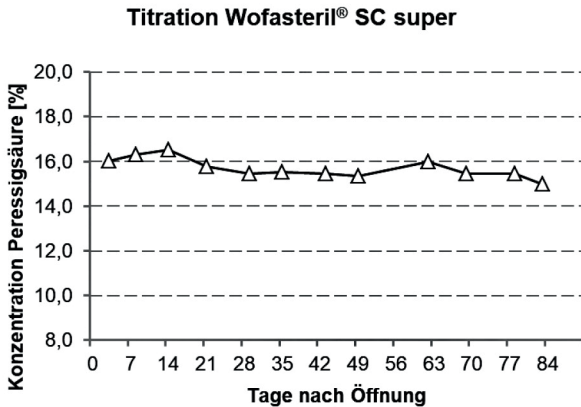


Abbildung 28: Wirkstoffkonzentration von Peressigsäure in Wofasteril® SC super im Zeitverlauf. Der Graph zeigt die durch iodometrische Titration ermittelte Wirkstoffkonzentration von Peressigsäure in Wofasteril® SC super über einem Zeitraum von 84 Tagen. Die Titration erfolgte zu jedem Zeitpunkt standardisiert und in Dreifachbestimmung. Eigene Darstellung.

4.3.2 Verträglichkeit der Desinfektionsmittel für Umwelt, Mensch und Material

Neben der Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels ist auch seine Verträglichkeit für Umwelt, Mensch und Material entscheidend. Dabei müssen Geruchsentwicklung und Begleiterscheinungen wie Schleimhaut- und Augenreizungen, Entsorgung sowie mögliche Materialbeschädigungen während und nach dem Einsatz zur Desinfektion berücksichtigt werden.

Verträglichkeit von Hypochlorit-CA G. Hypochlorit-CA G wird für die Desinfektion von Schwimmbadwasser eingesetzt (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2018b). Es ist in die Wassergefährdungsklasse 2 (Selbsteinstufung) als wassergefährdend eingestuft und sollte nicht in das Grundwasser, in Gewässer oder in die Kanalisation gelangen. Darüber hinaus ist das unverdünnte bzw. nicht neutralisierte Ableiten ins Abwasser bzw. in den Vorfluter zu vermeiden. So besteht bereits eine Trinkwassergefährdung beim Auslaufen geringer Mengen. Zudem besteht eine Giftigkeit von Hypochlorit-CA G gegenüber Fischen und Plankton sowie anderen Wasserorganismen.

Neben der Verträglichkeit von Hypochlorit-CA G für die Umwelt sind auch Gefahren für den Menschen zu bewerten und entsprechende Schutzmaßnahmen bei der Anwendung zu treffen. Ein wichtiger Punkt ist u. a. die Geruchsbelastung der Gebrauchslösung für den Anwender. Das weiße Granulat weist beim Öffnen

des Gebindes den klassischen Geruch nach Chlor auf. Eine Geruchsschwelle ist im Sicherheitsdatenblatt nicht vermerkt (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Um einen Eindruck von der Geruchsintensität für einen möglichen Einsatz im Feld zu bekommen, wurde eine vergleichende Analyse der Gebrauchslösung Hypochlorit-CA G/Alcapur® mit Mitarbeitenden des RKI durchgeführt. Diese sollten nach der Richtlinie „Olfaktometrie. Bestimmung der Geruchsintensität“ (Verband Deutscher Ingenieure, 1992) vergleichend die Desinfektionsmittellösungen Hypochlorit-CA G/Alcapur®, Wofasteril® SC super/Alcapur® sowie Wofasteril®/Alcapur® N in der jeweiligen Gebrauchskonzentration bewerten (Tabelle 5; Abbildung 29). Hierbei zeigte sich, dass eine Lösung Hypochlorit-CA G/0,5 % Alcapur mit 2 % Chlor tendenziell die geringste Geruchsintensität ($2,64 \pm 1,34$) der untersuchten Desinfektionsmittel aufwies. Darüber hinaus stieg die wahrgenommene Geruchsintensität der Peressigsäure-basierten Produkte erwartungsgemäß mit steigender Peressigsäure-Konzentration an. Diese Daten deuten darauf hin, dass die Verwendung von 2 % Chlor in Hypochlorit-CA G durch die Einsatzkräfte eine Verbesserung in Bezug auf die Geruchsintensität darstellen könnte. Im Umgang mit der Gebrauchslösung sind nach Herstellerangaben Schutzmaßnahmen zur sicheren Handhabung zu treffen (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). So ist Chlor ein Bestandteil mit arbeitsplatzbezogenen, zu überwachenden Grenzwerten. Diese betragen $1,5 \text{ mg/m}^3$ bzw. $0,5 \text{ ml/m}^3$ (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), 2006, Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Während der Anwendung sind demnach Schutzbrille oder Gesichtsschutzschild und Gummihandschuhe zu tragen. Zudem ist das Einatmen von Staub und Dämpfen zu vermeiden. Das Handschuhmaterial muss gegen den verwendeten Stoff ausreichend undurchlässig und beständig sein. Für die Verwendung einer wässrigen, gesättigten Lösung des Salzes sind Handschuhe aus folgenden Materialien (Durchbruchzeit ≥ 8 Stunden) geeignet: Naturkautschuk/Naturlatex – NR (0,5 mm) (ungepuderte und allergenfreie Produkte verwenden), Polychloropren – CR (0,5 mm) Nitrilkautschuk/Nitrillatex – NBR (0,35 mm), Butylkautschuk – Butyl (0,5 mm), Fluorkautschuk – FKM (0,4 mm) und Polyvinylchlorid – PVC (0,5 mm) (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016).

Überprüfungen zur Materialverträglichkeit von Hypochlorit-CA G gegenüber anderen Materialien als die der PSA waren nicht Bestandteil dieses Projektes. Es konnten im Zusammenhang mit der verwendeten Methode „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) keine Schäden an den PSA-Materialien TESI-MAX® SYKAN 2 und TESIMAX® S 3 PE-T beobachtet werden. Es waren lediglich weiße Rückstände auf dem PSA-Material TESIMAX® S 3 PE-T nach Trocknung des Desinfektionsmittels sichtbar. Diese sind vermutlich auf ausgefallenes Calciumchlorit (CaCl_2) zurückzuführen. Obgleich keine offensichtlichen Schäden

am Keimträgermaterial während des Versuchs beobachtet wurden, so kann eine Wechselwirkung jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Es wird empfohlen, die Verträglichkeit möglicher im Einsatz verwendeter Materialien sowie die Langzeitverwendung des wiederverwendbaren TESIMAX® SYKAN 2 gegenüber Hypochlorit-CA G zu testen. So greift dieses oxidierende Desinfektionsmittel organische Stoffe wie Holz, Papier, Fette und Öle an (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH, 2016). Darüber hinaus sind folgende unverträgliche Materialien angegeben: Alkalimetalle, saure Materialien, Oxidationsmittel, Reduktionsmittel, brennbare Stoffe, organische Stoffe, Anthracen und Diethylenglykolmonomethylether.

Verträglichkeit von Wofasteril® SC super. Wofasteril® SC super, ein 2-Komponenten-Desinfektionsmittel, findet Einsatz bei der Desinfektion in verschiedenen Bereichen wie bspw. Einrichtungen und Geräte in der Tierhaltung, im Lebensmittelbereich sowie im Krankenhaus (Kesla Hygiene AG, 2019a). Es wird als „ökologisch optimales Desinfektionsmittel“ vertrieben. So erfolgt eine rasche Reduktion oder Zersetzung aller im Gemisch enthaltenen Stoffe zu Sauerstoff, Wasser und Essigsäure (Kesla Hygiene AG, 2014). Dabei ist die entstehende Essigsäure leicht und vollständig biologisch abbaubar. Dennoch ist u. a. „das Eindringen des unverdünnten Konzentrates und größerer Mengen der Gebrauchslösung in die Kanalisation, in Oberflächen- und Grundwasser sowie in den Boden zu vermeiden“.

Ogleich die Zerfallsprodukte von Wofasteril® SC super biologisch abbaubar sind, so geht die Verwendung von Peressigsäure-basierten Produkten häufig mit einer starken Geruchsbelastung einher. Sowohl für Wofasteril® SC super (Kesla Hygiene AG, 2014) als auch für Wofasteril® (Kesla Hygiene AG, 2019b) ist eine Geruchsschwelle von 1 mg/m^3 angegeben. Um einen „persönlichen“ Eindruck von der Geruchsintensität dieses Desinfektionsmittels im Vergleich zu dem aktuell von den Einsatzkräften verwendeten Wofasteril® (2 % Peressigsäure/0,2 % Tensid) zu bekommen, wurde ein entsprechendes Experiment mit Kollegen des RKI durchgeführt. Diese sollten nach der Richtlinie „Olfaktometrie. Bestimmung der Geruchsintensität“ (Verband Deutscher Ingenieure, 1992) (Tabelle 5) die Desinfektionsmittellösungen Hypochlorit-CA G/Alcapur®, Wofasteril® SC super/Alcapur® und Wofasteril®/Alcapur® N vergleichend bewerten (Abbildung 29). Hierbei zeigte sich, dass der Geruch von 1,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super ($3,93 \pm 1,21$) vergleichbar stark wahrgenommen wird wie 2 % Peressigsäure in Wofasteril® ($4,01 \pm 1,21$). Jedoch werden die 2,75 % Peressigsäure in Wofasteril® SC super ($4,5 \pm 1,16$) als tendenziell intensiver wahrgenommen. Demnach steigt die wahrgenommene Geruchsintensität dieser Produkte erwartungsgemäß mit steigender Peressigsäure-Konzentration. Diese Daten deuten darauf hin, dass eine

Verbesserung durch die Verwendung von Wofasteril® SC super in Bezug auf die Geruchsintensität fraglich ist.

Beim Umgang mit der Gebrauchslösung sind nach Herstellerangaben (Kesla Hygiene AG, 2014) die allgemeinen Arbeitsschutzregeln einzuhalten: Verwendung einer Schutzbrille bei Spritzgefahr und flüssigkeitsdichte Handschuhe. Empfohlen werden Einmalschutzhandschuhe aus Nitril mit einer Schichtstärke von 0,1 mm bzw. bei höherer mechanischer Beanspruchung mit einer Schichtstärke von 0,2 mm. Bei einer Anwendung ohne Spritz- bzw. Schaumverfahren ohne Gefahr einer Aerosolbildung und ausreichender Belüftung ist ein Atemschutz nicht erforderlich. In Ausnahmesituationen wie bspw. Vernebelung oder unbeabsichtigter Freisetzung sollten Partikelfilter P2 (mittleres) oder P3 (hohes Abscheidevermögen) je nach Tragezeit verwendet werden. Für die Bestandteile in Wofasteril® SC super sind Arbeitsplatzgrenzwerte wie folgt festgelegt: Essigsäure (10 ml/m³ (ppm) und 25 mg/m³), Wasserstoffperoxid (keine), Peressigsäure (keine) (Kesla Hygiene AG, 2014, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), 2006).

Untersuchungen zur Materialverträglichkeit von Wofasteril® SC super gegenüber anderen Materialien als die der PSA waren nicht Bestandteil dieses Projektes. So kann es aber „beim Vermischen mit Alkalien, Schwermetallen und deren Verbindungen, mechanischen Verunreinigungen und organischen Produkten je nach Umfang der Verunreinigung zur langsamen bis stürmischen Zersetzung unter Sauerstoffabspaltung (im Extremfall Selbstentzündung möglich)“ kommen (Kesla Hygiene AG, 2014). In diesem Projekt konnten jedoch in Zusammenhang mit der verwendeten Methode „Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) keine Schäden an den PSA-Materialien TESIMAX® SYKAN 2 und TESIMAX® S 3 PE-T beobachtet werden. Es wird jedoch empfohlen, die Verträglichkeit von möglichen im Einsatz verwendeten Materialien sowie die Langzeitverwendung des wiederverwendbaren TESIMAX® SYKAN 2 zu überprüfen. Als unverträgliche Materialien sind unedle und Buntmetalle, wie ungeschütztes Eisen, Messing oder Kupfer, für Wofasteril® SC super sowie Aluminium, Blei, Zinn und Zink und deren Legierungen für Alcapur® gelistet (Kesla Hygiene AG, 2014).

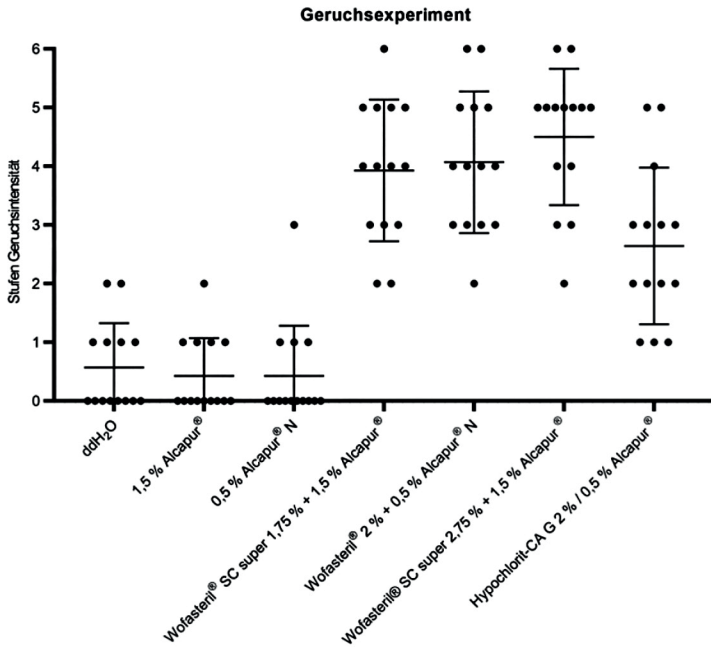


Abbildung 29: Vergleichende Bestimmung der Geruchsintensität von Wofasteril® SC super und Wofasteril®. Im Graphen sind vergleichend die Stufen der Geruchsintensität (0 bis 6) für die Gebrauchslösungen Wofasteril® SC super (1,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur®, Wofasteril® (2 % Peressigsäure)/0,5 % Alcapur® N, Wofasteril® SC super (2,75 % Peressigsäure)/1,5 % Alcapur®, Hypochlorit-CA G (2 % Chlor)/0,5 % Alcapur® sowie entsprechende Kontrolllösungen dargestellt (ddH₂O, 1,5 % Alcapur® und 0,5 % Alcapur® N) (n = 14). Eigene Darstellung.

Abschließende Bewertung und Empfehlung

5



In biologischen Gefahrenlagen müssen eingesetzte Desinfektionsmittel eine hohe Wirksamkeit gegenüber freigesetzten pathogenen Agenzien aufweisen. Im vorliegenden Bericht sind die Ergebnisse zweier Projekte dargestellt, die praxisnah die Einsetzbarkeit ausgewählter Desinfektionsmittel für die Desinfektion in diesen Gefahrensituationen untersuchen. Der Fokus lag dabei auf der Untersuchung von Desinfektionsmittelgranulaten und einer möglichen Kontamination mit *Bacillus*-Sporen.

1. Im Projekt GranPSA sollten ausgewählte Desinfektionsmittel auf ihre Einsetzbarkeit für die Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung (PSA) überprüft werden. Hierfür wurde das Prüfverfahren „Modell 3 Überschichtung mit Mechanik“ (Lemmer et al., 2012) angewendet.
2. Im Projekt GranuTa wurde eine Auswahl an Desinfektionsmitteln auf ihre Einsetzbarkeit für die Desinfektion von Einsatzmaterialien durch eine Tauchbadesinfektion untersucht. Hierfür kam das re-etablierte Prüfverfahren „Modell A Tauchbad“ zum Einsatz.

Bewertung und Empfehlung GranPSA

Zwei der zehn im Projekt GranPSA untersuchten Desinfektionsmittel konnten als vielversprechend für eine schnelle und effektive Desinfektion der PSA von *Bacillus*-Sporen identifiziert werden. Es handelt sich hierbei um das Granulat Hypochlorit-CA G (Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH) und das flüssige Präparat Wofasteril® SC super (Kesla Hygiene AG). Im Folgenden sind die Einschätzungen beider Desinfektionsmittel für den Einsatz in biologischen Gefahrenlagen bei potenzieller Kontamination der PSA mit bakteriellen Sporen dargestellt (Tabelle 9):

Einschätzung Hypochlorit-CA G. Eine Gebrauchslösung Hypochlorit-CA G (1,5 %)/0,5 % Alcapur® erwies sich bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten als ausreichend wirksam gegenüber Sporen der Risikogruppen 1 und 2. Die Wirksamkeit kann auch bei unterschiedlichen Bedingungen wie schwankender Umgebungstemperatur und Verschmutzung der PSA gewährleistet werden. Jedoch konnten

trotz einer Erhöhung der Chlor-Konzentration auf 2 % hochpathogene *Bacillus*-Sporen nicht zuverlässig inaktiviert werden. Aus diesem Grund kann das Mittel aktuell nicht uneingeschränkt für die Desinfektion von PSA empfohlen werden. Zukünftige Experimente sollten in diesem Zusammenhang sicherstellen, dass das Desinfektionsmittelgranulat auch Sporen der vollvirulenten Risikogruppe-3-*B. anthracis*-Stämme zuverlässig inaktivieren kann.

Für das Ansetzen einer Gebrauchslösung im Einsatzfall wäre die minimale Freigabespezifikation des Herstellers für Calciumhypochlorit als Berechnungsgrundlage zu beachten. Diese beträgt im Originalgebinde $\geq 70\%$ und ist dem jeweiligen chargenabhängigen Prüfzertifikat zu entnehmen.

Einschätzung Wofasteril® SC super. Eine Gebrauchslösung von Wofasteril® SC super/1,5 % Alcapur® mit einer Peressigsäure-Konzentration von 1,75 % bis 2 % zeigte bei einer Einwirkzeit von 5 Minuten eine ausreichende Wirksamkeit sowohl gegenüber Risikogruppen-1- und -2- als auch -3-*Bacillus*-Sporen. Die Wirksamkeit dieser Lösung ist zudem auch bei Verschmutzung der PSA gegeben. Obgleich mit dieser Gebrauchslösung eine Sporenreduktion von $\geq 5 \log_{10}$ -Stufen auch gegenüber den hochpathogenen *B. anthracis*-Stämmen zuverlässig erreicht wurde, konnte keine vollständige Inaktivierung der Sporen mit 1,75 % Peressigsäure nach 5 Minuten nachgewiesen werden. Bei niedrigen Umgebungstemperaturen von unter 4 °C müssen die Peressigsäure-Konzentration und Einwirkzeiten zudem auf 2,75 % und 10 Minuten erhöht werden.

Für das Ansetzen einer Gebrauchslösung im Einsatzfall wären die minimalen Freigabespezifikationen des Herstellers für Peressigsäure in Wofasteril® SC super als Berechnungsgrundlage zu beachten. Diese betragen zwischen 11 % und 15 % und sind dem jeweiligen chargenabhängigen Prüfzertifikat des Herstellers zu entnehmen.

Tabelle 9: Wirksamkeit empfohlener Desinfektionsmittel Projekt GranPSA gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf TESIMAX® S3 PE-T

| | Reduktionsfaktor [\log_{10} -Stufen] | | | |
|---|---|--|-------------|-------------|
| | 35 °C | 21 °C (0,3 % BSA) | 4 °C | -20 °C |
| 5 Min. Einwirkzeit | | | | |
| Hypochlorit-CA G (1,5 % Chlor)/0,5 % Alcapur® | 6,42 ± 0,25 | 6,54 ± 0,05 | 5,94 ± 0,42 | 6,27 ± 0,40 |
| Hypochlorit-CA G (2 % Chlor)/0,5 % Alcapur® | – | 4,09 ± 1,04 ¹ 5,66 ± 0,45 ² | – | – |
| Wofasteril® SC super (1,75 % PES)/1,5 % Alcapur® | 6,60 ± 0,20 | 6,44 ± 0,52 ^{3,4} | 4,48 ± 0,63 | 3,72 ± 0,05 |
| Wofasteril® SC super (2,75 % PES)/1,5 % Alcapur® | – | – | 6,22 ± 0,35 | 5,08 ± 0,50 |
| 10 Min. Einwirkzeit | | | | |
| Wofasteril® SC super (1,75 % PES)/1,5 % Alcapur® | – | – | – | 3,99 ± 0,04 |
| Wofasteril® SC super (2,75 % PES)/1,5 % Alcapur® | – | – | – | 5,48 ± 0,41 |

PES – Peressigsäure; – nicht getestet

¹ *B. anthracis* 11/38

² *B. anthracis* 22/39

³ *B. anthracis* 11/38 – 5,61 ± 0,36 \log_{10} -Stufen

⁴ *B. anthracis* 11/38 – 5,12 ± 0,08 \log_{10} -Stufen

Bewertung und Empfehlung GranuTa

Von zwölf im Projekt GranuTa untersuchten Desinfektionsmitteln konnte ein Produkt als vielversprechend wirksam in der Tauchbadesinfektion von Asservat-Behältern identifiziert werden. Hierbei handelt es sich um das Desinfektionsmittel Mini Haz-Tabs (Guest Medical Limited). Nachstehend ist die Einschätzung des Desinfektionsmittels für den Einsatz in biologischen Gefahrenlagen zur Tauchbadesinfektion bei potenziell mit *Bacillus*-Sporen kontaminierten Asservat-Behältern beschrieben (Tabelle 10):

Einschätzung Mini Haz-Tabs. Eine Gebrauchslösung Mini Haz-Tabs/2 % Alcapur® mit einer Konzentration von 0,756 % und 1,01 % Chlor erwies sich als ausreichend wirksam gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppe 3 bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten. Die Wirksamkeit ist auch bei unterschiedlichen Bedingungen wie schwankender Umgebungstemperatur zwischen 4 ° und 35 °C sowie Verschmutzung der Asservat-Behälter gegenüber *Bacillus*-Sporen der Risikogruppe 1 gewährleistet.

Für das Ansetzen einer Gebrauchslösung im Einsatzfall wäre die minimale Freigabespezifikation des Herstellers für Natriumdichlorisocyanurat als Berechnungsgrundlage zu beachten. Diese beträgt 500 mg pro Tablette was einer Chlor-Konzentration von 0,0140 % pro 2 Litern entspricht.

Tabelle 10: Wirksamkeit empfohlener Desinfektionsmittel Projekt GranuTa gegenüber *B. thuringiensis*-DSM-350-Sporen auf Debasafe™ Medical Transporttaschen

| 10 Min. Einwirkzeit | Reduktionsfaktor [\log_{10} -Stufen] | | |
|--|---|----------------------|---------------------|
| | 35 °C (0,3 % BSA) | 21 °C (0,3 % BSA) | 4 °C (0,3 % BSA) |
| Mini Haz-Tabs (0,756 % Chlor)/2 % Alcapur® | 5,34 ± 0,01 | 5,57 ¹ | 5,43 ± 0,02 |

¹ *B. anthracis* 11/38 – 6,03 ± 0,04 \log_{10} -Stufen

Abschließende Einschätzung

Hypochlorit-CA G und Wofasteril® SC super bzw. Mini Haz-Tabs erwiesen sich in den jeweiligen Projekten als vielversprechende Kandidaten für die Oberflächendesinfektion von PSA bzw. Asservat-Behältern in der Tauchbaddesinfektion. Ihre Wirksamkeit kann nach bisherigem Wissenstand nur für die Desinfektion im jeweiligen Verfahren („Überschichtung“ mit Mechanik oder „Tauchbad“) und bei bekannter Kontamination mit *Bacillus*-Sporen begrenzt empfohlen werden. Eine Wirksamkeit der Desinfektionsmittel für den jeweils anderen Desinfektionsbereich ist denkbar, wurde im Rahmen dieser Projekte jedoch nicht getestet und kann daher nicht uneingeschränkt empfohlen werden.

Neben bakteriellen Sporen können auch Viren oder Toxine zu den Bedrohungen in biologischen Gefahrenlagen zählen, wobei das freigesetzte pathogene Agens häufig zunächst unbekannt ist. Untersuchungen zur Wirksamkeit der drei sporiziden

Desinfektionsmittel gegenüber Viren und Toxinen waren jedoch nicht Bestandteil dieses Projektauftrags und sind als Gegenstand zukünftiger Untersuchungen zu betrachten. Feldversuche, wie Lemmer et al. 2012 beschrieben, sollten zudem zukünftig die Praxistauglichkeit der in den hier vorgestellten Projekten als potenziell für biologische Gefahrenlagen geeigneten Desinfektionsmittel bestätigen.

Danksagung

6



Unser besonderer Dank geht dabei an die Personen, die die exzellente Vorarbeit im Rahmen des vorangegangenen Projektes „Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung“ im ZBS 2 geleistet haben. Insbesondere möchten wir uns hier bei Frau Dr. Karin Lemmer und Frau Sabine Howaldt bedanken, die mit ihrem großen Erfahrungsschatz fachlich beratend unterstützt haben.

Außerdem möchten wir unseren Kolleginnen Frau Silke Becker und Frau Petra Lochau ganz herzlich für den Erfahrungsaustausch und die technische Assistenz danken. Ein großer Dank richtet sich auch an Herrn Dr. Alexander Rohde für die fachliche und mathematische Unterstützung im Projekt.

Danken möchten wir außerdem Frau Dr. Ingeborg Schwebke und Frau Ricarda Andrich aus dem Fachgebiet 14 sowie Herrn Andy Schneider aus dem Fachgebiet ZBS 6 am RKI für die fachliche Unterstützung im Bereich der Desinfektionsmittelanalysen und deren chemischer Wirkungsweise.

Frau Carina Jahnke und Frau Andrea Schnartendorff danken wir als Mitglied des Fotolabors am RKI für die Erstellung der illustrierenden Laboraufnahmen.

Frau Nahid Derakshani danken wir für die Betreuung vonseiten des Bundesamtes für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe.

Der Firma TESIMAX® Altinger GmbH danken wir für Bereitstellung der PSA-Materialproben.

Anhang

7



Literatur

Agravis Raiffeisen AG 2014. *Produktinformationsblatt Virkon® S.* 02/14.

Agravis Raiffeisen AG 2019. *Re: Persönl. Mitteilung – Aktivsauerstoffgehalt in Virkon® S.* 05.12.2019

Almeida, J. L., Harper, B. & Cole, K. D. 2008. *Bacillus anthracis spore suspensions: determination of stability and comparison of enumeration techniques.* J Appl Microbiol, 104, 1442–8.

Antec International Limited 2015. *Sicherheitsdatenblatt Virkon® S.* 5/2015.

Antiseptica Dr. H.-J. Molitor GmbH 2016. *Produktinformation Descogen® I Granulat auf der Wirkstoffbasis aktiven Sauerstoffs zur manuellen Desinfektion von medizinischen Instrumenten.* 06/2016.

Antiseptica Dr. H.-J. Molitor GmbH.2019. *Re: Persönl. Mitteilung – Aktivsauerstoffgehalt in Descogen®-I.* 12.12.2019

Barras, V. & Greub, G. 2014. *History of biological warfare and bioterrorism.* Clin Microbiol Infect, 20, 497–502.

Bayrol Deutschland GmbH 2018a. *Re: Aw: „Wirkstoffgehalt und Sicherheitsdatenblatt Chlorifix“.* 12.11.2018

Bayrol Deutschland GmbH 2018b. *Produktmerkblatt Chlorifix.*

Bode Chemie GmbH 2015. *Produktinformation Flächendesinfektion Dismozon® plus.* 03/2015.

Bode Chemie GmbH 2020. *Re: Aw: „Wirkstoffgehalt Dismozon® plus“.* 14.01.2020, persönliche Kommunikation

Bodenschatz, W. 2006. *Kompaktwissen Desinfektion: das Handbuch für Ausbildung und Praxis.* Hamburg, Behr's Verlag.

- Buhr, T. L., Wells, C. M., Young, A. A., Minter, Z. A., Johnson, C. A., Payne, A. N. & McPherson, D. C. 2013.** *Decontamination of materials contaminated with Bacillus anthracis and Bacillus thuringiensis Al Hakam spores using PES-Solid, a solid source of peracetic acid.* J Appl Microbiol, 115, 398–408.
- Buhr, T. L., Young, A. A., Minter, Z. A., Wells, C. M., McPherson, D. C., Hooban, C. L., Johnson, C. A., Prokop, E. J. & Crigler, J. R. 2012.** *Test method development to evaluate hot, humid air decontamination of materials contaminated with Bacillus anthracis Sterne and B. thuringiensis Al Hakam spores.* J Appl Microbiol, 113, 1037–51.
- Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA) 2006.** *Technische Regel für Gefahrstoffe (TRGS) 900 „Arbeitsplatzgrenzwerte“.* Bundesarbeitsblatt – Heft 1/2006
- Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG 2017.** *Produktmerkblatt neodisher® endo DIS active.* 05/2017.
- D’amelio, E., Gentile, B., Lista, F. & D’Amelio, R. 2015.** *Historical evolution of human anthrax from occupational disease to potentially global threat as bioweapon.* Environ Int, 85, 133–46.
- Deutsches Institut für Normung e.V. 2005.** *DIN EN 14347:2005-08 – Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Sporizide Wirkung (Basistest) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1); deutsche Fassung EN 14347:2005.* Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e.V. 2006.** *DIN EN 14561:2006-08 – Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Keimträgerversuch zur Prüfung der bakteriziden Wirkung für Instrumente im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2).* Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung e.V. 2017.** *DIN EN 17126:2019-02 – Entwurf: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der sporiziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1).* Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Ecolab Healthcare Europe 2017.** *Produktinformation Incidin™ Active.* 6/2017.
- Ecolab Healthcare Europe 2018.** *Produktblatt Manuelle Instrumentenaufbereitung, Sekusept™ aktiv.* 03/2018.

Friedrich-Loeffler-Institut 2015. *Tierseuchengeschehen – Milzbrand.* Friedrich-Loeffler-Institut, Riems, Deutschland. <https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/milzbrand/>. Zugriff am 07.10.2019

Furukawa, S., Narisawa, N., Watanabe, T., Kawarai, T., Myozen, K., Okazaki, S., Ogihara, H. & Yamasaki, M. 2005. *Formation of the spore clumps during heat treatment increases the heat resistance of bacterial spores.* Int J Food Microbiol, 102, 107–11.

Furukawa, S., Watanabe, T., Koyama, T., Hirata, J., Narisawa, N., Ogihara, H. & Yamasaki, M. 2006. *Effect of high pressure carbon dioxide on the clumping of the bacterial spores.* Int J Food Microbiol, 106, 95–8.

Guest Medical Limited 2017. *Sicherheitsdatenblatt Mini Haz-Tabs.* 10/2017.

Hilgren, J., Swanson, K. M., Diez-Gonzalez, F. & Cords, B. 2009. *Susceptibilities of Bacillus subtilis, Bacillus cereus, and avirulent Bacillus anthracis spores to liquid biocides.* J Food Prot, 72, 360-4.

Jansen, H. J., Breeveld, F. J., Stijnis, C. & Grobusch, M. P. 2014. *Biological warfare, bioterrorism, and biocrime.* Clin Microbiol Infect, 20, 488–96.

Kesla Hygiene AG 2014. *Sicherheitsdatenblatt Wofasteril® SC super.* 05/2014.

Kesla Hygiene AG 2018. *Prüfzertifikat 1 + 1 Wofasteril® SC super – Komponente Wofasteril.* Chargenbezeichnung 0545.18.

Kesla Hygiene AG 2019a. *Produktinformation 1 + 1 Wofasteril® SC super – Hocheffektives mikrobizides Kombiverfahren.* 08/2019.

Kesla Hygiene AG 2019b. *Sicherheitsdatenblatt Wofasteril®.* 05/2019.

Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH 2008. *Produktblatt Halamid® in der Geflügelhaltung, 2008.*

Laboratorium Buchrucker Hygiene GmbH 2018. *Aw: „Wirkstoffgehalt Halamid®“.*

Lemmer, K., Howaldt, S., Heinrich, R., Roder, A., Pauli, G., Dorner, B. G., Pauly, D., Mielke, M., Schwebke, I. & Grunow, R. 2017. *Test methods for estimating the efficacy of the fast-acting disinfectant peracetic acid on surfaces of personal protective equipment.* J Appl Microbiol, 123, 1168–1183.

Lemma, K., Roder, A., Nattermann, H., Schwebke, I., Mielke, M., Dorner, B., Pauli, G. & Grunow, R. 2012. *Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung – Methodenentwicklung zur standardisierten Untersuchung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Oberflächen der Persönlichen Schutzausrüstung gegen Sporen, Viren und Toxine unter praxisnahen Bedingungen und Anwendung der Untersuchungsmethoden am Beispiel von Peressigsäure.* Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe.

March, J. K., Pratt, M. D., Lowe, C. W., Cohen, M. N., Satterfield, B. A., Schaalje, B., O’Neill, K. L. & Robison, R. A. 2015. *The differential effects of heat-shocking on the viability of spores from Bacillus anthracis, Bacillus subtilis, and Clostridium sporogenes after treatment with peracetic acid- and glutaraldehyde-based disinfectants.* Microbiologyopen, 4, 764–773.

Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH 2013. *Sicherheitsdatenblatt Calciumhypochlorit.* 3/2013.

Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH 2016. *Sicherheitsdatenblatt Calciumhypochlorit.* 04/2016.

Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH 2018a. *Aw: „Wirkstoffgehalt von Hypochlorit-CA G“.*

Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH 2018b. *Katalog – Schwimmbäder und Zubehör 2017/18.* Haan: Meranus Gesellschaft für Schwimmbad- und Freizeitausrüstungen mbH.

Nattermann, H., Becker, S., Jacob, D., Klee, S. R., Schwebke, I. & Appel, B. 2005. *Effiziente Abtötung von Milzbrandsporen durch wässrige und alkoholische Peressigsäure-Lösungen.* Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 48, 939–950.

Robert Koch-Institut 2013. *Dekontamination/Desinfektion in B-Lagen – Praktische Hinweise des Robert Koch-Institutes.* Robert Koch-Institut, Berlin, Deutschland. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Dekontamination/Dekontamination_Empfehlung_RKI.pdf?__blob=publicationFile. Zugriff am 07.10.2019.

Robert Koch-Institut 2017. *Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren.* Bundesgesundheitsblatt, 60, 1274–1297.

Robert Koch-Institut 2018. *Erratum zu: Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren.* Robert Koch-Institut, Berlin, Deutschland.

Rutala, W. A., Weber, D. J. & Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (Hicpac) 2008. *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare.* Facilities Center for Disease Control (CDC).

Schülke & Mayr GmbH 2017. *Produktinformationsblatt Perform.* 5/2017.

Schülke & Mayr GmbH 2019. *Sicherheitsdatenblatt Perform.* 7/2019.

Setlow, P. 2014. *Spore Resistance Properties.* Microbiol Spectr, 2.

Setlow, P. 2019. *Observations on research with spores of Bacillales and Clostridiales species.* J Appl Microbiol, 126, 348–358.

United States Environmental Protection Agency (Epa) 2008. *Peracetic Acid (CAS Reg. No. 79-21-0) Acute Exposure Guideline Levels (AEGs) Interm.* NEPIS, United States Environmental Protection Agency (EPA).

Verband Deutscher Ingenieure 1992. *Olfaktometrie. Bestimmung der Geruchsintensität – VDI 3882 Blatt 1.* Berlin: Beuth Verlag.

Verbund für angewandte Hygiene e.V. 2019. *Desinfektionsmittelliste.* Wiesbaden, Deutschland: mhp Verlag GmbH.



Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------------|--|
| AS | Aktivsauerstoff |
| B. | <i>Bacillus</i> |
| BBK | Bundesamt für Bevölkerungsschutz und Katastrophenhilfe |
| BSA | Bovines Serumalbumin |
| ddH₂O | Doppelt destilliertes Wasser |
| DM | Desinfektionsmittel |
| DIN | Deutsches Institut für Normung |
| KT | Keimträger |
| KBE/ml | Koloniebildende Einheiten pro Milliliter |
| NM | Neutralisationsmedium |
| NK | Negativkontrolle |
| PES | Peressigsäure |
| PSA | Persönliche Schutzausrüstung |
| RF | Reduktionsfaktor |
| RKI | Robert Koch-Institut |
| S | Sicherheitsstufe Sicherheitslabor |
| SDS | <i>Sodium dodecyl sulfate</i> -Natriumlaurylsulfat |
| TSA | Trypton-Soja-Agar |
| TSB | Trypton-Soja-Bouillon |
| VAH | Verbund für Angewandte Hygiene e.V. |
| ZBS | Zentrum für biologische Gefahren und spezielle Pathogene |

Bisherige Publikationen

8

Forschung im Bevölkerungsschutz

-
- 1 **Band 1 – Netzwerk Psychosoziale Notfallversorgung – Umsetzungsrahmenpläne
Entwicklung | Datenbank | Task-Force | Finanzierung**
I. Beerlage, T. Hering, S. Springer, D. Arndt, L. Nörenberg/2008 ISBN-10: 3-939347-02-7 bzw.
ISBN-13: 978-3-939347-02-6
-
- 2 **Band 2 – Netzwerk Psychosoziale Notfallversorgung – Umsetzungsrahmenpläne
Qualität in Aus- und Fortbildung**
I. Beerlage, S. Springer, T. Hering, L. Nörenberg, D. Arndt/2008
ISBN-10: 3-939347-03-5 bzw. ISBN-13: 978-3-939347-03-3
-
- 3 **Band 3 – Netzwerk Psychosoziale Notfallversorgung – Umsetzungsrahmenpläne
Belastungen und Belastungsfolgen in der Bundespolizei**
I. Beerlage, D. Arndt, T. Hering, L. Nörenberg, S. Springer/2009
ISBN-10: 3-939347-04-3 bzw. ISBN-13: 978-3-939347-04-0
-
- 4 **Band 4 – Vulnerabilität Kritischer Infrastrukturen**
S. Lenz (Dipl.-Geogr., M.Sc.)/2009
ISBN-13: 978-3-939347-11-8
-
- 5 **Band 5 – 2. Auflage – Empfehlungen für die Probenahme zur Gefahrenabwehr
im Bevölkerungsschutz**
U. Bachmann, N. Derakshani, M. Drobig, J. Eisheh, M. König, J. Mentfewitz, B. Niederwöh-
rmeier, H. Prast, D. Sebastian, G. Uelpenich, M. Vidmayer, S. Wilbert, M. Wolf/2016
ISBN-13: 978-3-939347-15-6
-
- 6 **Band 6 – Proceedings: Biologische Gefahren in Deutschland – Kongressbericht der
GERMANBIOSAFTEY 2005**
2011
ISBN-13: 978-3-939347-05-7
-
- 7 **Band 7 – Städtebauliche Gefährdungsanalyse**
C. Mayrhofer/2010
ISBN-13: 978-3-939347-08-8
-
- 8 **Band 8 – Sekundäre Prävention einsatzbedingter Belastungsreaktionen und -störungen**
W. Butollo, R. Karl, M. Krüsmann/2012
ISBN: 978-3-939347-09-5
-

- 9 **Band 9 – Dekontamination von Verletzten im Krankenhaus bei ABC-Gefahrenlagen**
F. Martens/2009
ISBN-13: 978-3-939347-20-0
-
- 10 **Band 10 – Entwicklung eines zeitgemäßen ABC-Selbsthilfe-Sets für den Katastrophenschutz**
M. Müller, K. Schmiechen/2009
ISBN-13: 978-3-939347-22-4
-
- 11 **Band 11 – Bevölkerungsverhalten und Möglichkeiten des Krisenmanagements und Katastrophenmanagements in multikulturellen Gesellschaften**
E. Geenen/2010
ISBN-13: 978-3-939347-26-2
-
- 12 **Band 12 – Vulnerabilität der Kritischen Infrastruktur Wasserversorgung gegenüber Naturkatastrophen**
A. Braubach/2010
ISBN-13: 978-3-939347-30-9
-
- 13 **Band 13 – Indikatoren zur Abschätzung von Vulnerabilität und Bewältigungspotenzialen am Beispiel von wasserbezogenen Naturgefahren in urbanen Räumen**
J. Birkmann, S. Krings, M. Vollmer, J. Wolfertz, T. Welle, W. Kühling, K. Meisel, M. Wurm, H. Taubenböck, M. Gähler, H. Zwenzner, A. Roth, S. Voigt & S. Dech/2011
ISBN-13: 978-3-939347-31-6
-
- 14 **Band 14 – Infrarot-Gefahrstoffkamera**
R. Harig, P. Rusch/2011
ISBN-13: 978-3-939347-32-3
-
- 15 **Band 15 – Empirische Untersuchung der Realisierbarkeit von Maßnahmen zur Erhöhung der Selbstschutzzfähigkeit der Bevölkerung**
H. G. Goersch, U. Werner/2011
ISBN-13: 978-3-939347-36-1
-
- 16 **Band 16 – Humanbiomonitoring im Bevölkerungsschutz**
M. Müller, K. Schmiechen/2012
ISBN-13: 978-3-939347-39-2
-
- 17 **Band 17 – Desinfektion von Persönlicher Schutzausrüstung**
K. Lemmer, A. Roder, H. Nattermann, I. Schwebke, M. Mielke, B. Dorner, G. Pauli, R. Grunow/2012
ISBN-13: 978-3-939347-42-2
-

- 18 **Band 18 – CT-Analyst; Ausbreitungsprognose bei Gefahrstofffreisetzung in bebauter Umgebung**
Schlussbericht zum Forschungsvorhaben
B. Leitl, D. Hertwig, F. Harms und M. Schatzmann/2017
ISBN: 978-3-939347-74-3
-
- 19 **Band 19 – i. V.**
-
- 20 **Band 20 – Interkulturelle Kompetenz im Bevölkerungsschutz**
S. Schmidt, C. Hannig, D. Kietzmann, D. Knuth, M. Mösko und M. Schönefeld/2018
ISBN-13: 978-3-939347-82-8
-
- 21 **Band 21 – Führungskräfte PSNV, Anforderungen und Qualifizierung**
M. Mähler, G. Hofinger, L. Künzer, R. Zinke und F. Kather/2019
ISBN-13: 978-3-939374-87-3
-
- 22 **Band 22 – Lebensmittelversorgung in Krisen und Katastrophen**
L. Gerhold, K. Cortez Garcia und A. Guerrero Lara/2019
ISBN-13: 978-3-939347-89-7
-
- 23 **Band 23 – Konzept zur grenzüberschreitenden großräumigen Evakuierungsplanung am Beispiel Deutschland – Schweiz. Ergebnisse des Projektes ECHD**
U. Pohl-Meuthen, S. Schäfer, P. Blatt und F. Steyer/2018
ISBN-13: 978-3-939347-90-3
-

Zivilschutzforschung, Neue Folge

ISSN 0343-5164

-
- 24 **Band 1 – vergriffen –**
Zur Akzeptanz staatlicher Informationspolitik bei technischen Großunfällen und Katastrophen
L. Clausen und W. R. Dombrowsky
1990, 115 Seiten
-
- 25 **Band 2 – vergriffen –**
Gammastrahlung aus radioaktivem Niederschlag – Berechnung von Schutzfaktoren
G. Hehn
1990, 66 Seiten
-

- 26 **Band 3 – vergriffen –**
Der Nachweis schneller Neutronen in der Katastrophendosimetrie mit Hilfe von Ausweisen aus Plastikmaterial
B. Lommler, E. Pitt, A. Scharmann und R. Simmer
1990, 66 Seiten
-
- 27 **Band 4 – vergriffen –**
Computereinsatz im Zivil- und Katastrophenschutz – Möglichkeiten und Grenzen
W. R. Dombrowsky
1991, 94 Seiten
-
- 28 **Band 5 – vergriffen –**
Strahlenexposition durch Ingestion von radioaktiv kontaminiertem Trinkwasser
R. E. Grillmaier und F. Kettenbaum
1991, 104 Seiten
-
- 29 **Band 6 – vergriffen –**
Neutronenschäden. Untersuchungen zur Pathophysiologie, Diagnostik, Prophylaxe und Therapie
O. Messerschmidt und A. Bitter
1991, 96 Seiten
-
- 30 **Band 7 – vergriffen –**
Das Schädel-Hirn-Trauma
Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenese und neuen Behandlungsansätzen im Rahmen der Katastrophenmedizin
E. Pfenninger und F. W. Ahnefeld
1991, 208 Seiten
-
- 31 **Band 8 – vergriffen –**
Beiträge zur dezentralen Trinkwasserversorgung in Notfällen
Teil I: K. Haberer und U. Stürzer: Einfache anorganische und radiologische Methoden zur Wasseruntersuchung an Ort und Stelle
1991, 78 Seiten
-
- 32 **Band 9 – vergriffen –**
39. und 40. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
1993, 264 Seiten
-

- 33 **Band 10 – vergriffen –**
Bürgerkonzeptionierter Zivil- und Katastrophenschutz
Das Konzept einer Planungszelle Zivil- und Katastrophenschutz
W. R. Dombrowsky
1992, 79 Seiten
-
- 34 **Band 11 – vergriffen –**
Beiträge zur Katastrophenmedizin
1993, 135 Seiten
-
- 35 **Band 12 – vergriffen –**
Biologische Dosimetrie
I. – H. Mönig, W. Pohlit, E. L. Sattler: Einleitung: Dosisabschätzung mit Hilfe der Biologischen Dosimetrie
II. – H. J. Egner et al.: Ermittlung der Strahlenexposition aus Messungen an Retikulozyten
III. – H. Mönig, G. Konermann: Strahlenbedingte Änderung der Chemilumineszenz von Granulozyten als biologischer Dosisindikator
IV. – P. Bidon et al.: Zellmembranänderungen als biologische Dosisindikatoren. Strahleninduzierte Membranänderung im subletalen Bereich. Immunbindungsreaktionen an Lymphozyten
1993, 206 Seiten
-
- 36 **Band 13**
Modifikation der Strahlenwirkung und ihre Folgen für die Leber
H. Mönig, W. Oehlert, M. Oehlert, G. Konermann
1993, 90 Seiten
-
- 37 **Band 14 – vergriffen –**
Beiträge zu Strahlenschäden und Strahlenkrankheiten
I. – H. Schüßler: Strahleninduzierte Veränderungen an Säugetierzellen als Basis für die somatischen Strahlenschäden
II. – K. H. von Wangenheim, H.-P. Peterson, L. E. Feinendegen: Hämopoeseschaden, Therapieeffekte und Erholung
III. – T. M. Fliedner, W. Nothdurft: Präklinische Untersuchungen zur Beschleunigung der Erholungsvorgänge in der Blutzellbildung nach Strahleneinwirkung durch Beeinflussung von Regulationsmechanismen
IV. – G. B. Gerber: Radionuklid Transfer
1993, 268 Seiten
-

- 38 Band 15**
Beiträge zur dezentralen Trinkwasserversorgung in Notfällen
Teil II: K. Haberer und M. Drews
1. Einfache organische Analysenmethoden
2. Einfache Aufbereitungsverfahren
1993, 144 Seiten
-
- 39 Band 16**
Einfluß von Lipidmediatoren auf die Pathophysiologie der Verbrennungskrankheit
F. E. Müller, W. König, M. Köller
1993, 42 Seiten
-
- 40 Band 17 – vergriffen –**
41. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
1996, 197 Seiten
-
- 41 Band 18 – vergriffen –**
Deutsche Regelsysteme. Vernetzungen und Integrationsdefizite bei der Erstellung des öffentlichen Gutes Zivil- und Katastrophenschutz in Europa
L. Clausen, W. R. Dombrowsky, R. L. F. Strangmeier
1996, 130 Seiten
-
- 42 Band 19**
Radioaktive Strahlungen
I. – B. Kromer unter Mitarbeit von K. O. Münnich, W. Weiss und M. Zähringer:
Nuklidspezifische Kontaminationserfassung
II. – G. Hehn: Datenaufbereitung für den Notfallschutz
1996, 164 Seiten
-
- 43 Band 20**
Arbeiten aus dem Fachausschuß V
I. – D. Henschler: Langzeitwirkungen phosphororganischer Verbindungen
II. – H. Becht: Die zellvermittelte typübergreifende Immunantwort nach Infektion mit dem Influenzavirus
III. – F. Hoffmann, F. Vetterlein, G. Schmidt: Die Bedeutung vasculärer Reaktionen beim akuten Nierenversagen nach großen Weichteilverletzungen (Crush-Niere)
1996, 127 Seiten
-
- 44 Band 21**
Arbeiten aus dem Fachausschuß III: Strahlenwirkungen – Diagnostik und Therapie
1996, 135 Seiten
-

- 45 **Band 22**
Inkorporationsverminderung für radioaktive Stoffe im Katastrophenfall
B. Gloebel, C. Graf
1996, 206 Seiten
-
- 46 **Band 23 – vergriffen –**
Das Verhalten von Umweltchemikalien in Boden und Grundwasser
K. Haberer, U. Böttcher
1996, 235 Seiten
-
- 47 **Band 24 – vergriffen –**
42. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
1996, 205 Seiten
-
- 48 **Band 25**
Abschätzung der gesundheitlichen Folgen von Großbränden
– Literaturstudie – Teilbereich Toxikologie
K. Buff, H. Greim
1997, 138 Seiten
-
- 49 **Band 26 – vergriffen –**
43. und 44. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
1997, 326 Seiten
-
- 50 **Band 27**
Staatliche Risikokommunikation bei Katastrophen
Informationspolitik und Akzeptanz
G. Ruhrmann, M. Kohring
1996, 207 Seiten
-
- 51 **Band 28**
Wirkungen von Organophosphaten
R. Zech
1997, 110 Seiten
-
- 52 **Band 29**
Erfahrungen aus Abwehrmaßnahmen bei chemischen Unfällen
D. Hesel, H. Kopp und U. Roller
1997, 152 Seiten
-

- 53 **Band 30 – vergriffen –**
Untersuchung der Praxisanforderung an die Analytik bei der Bekämpfung großer Chemieunfälle
G. Matz
1998, 192 Seiten
-
- 54 **Band 31**
Beiträge zur Isolierung und Identifizierung von Clostridium sp. und Bacillus sp. sowie zum Nachweis deren Toxine
G. Schallehn und H. Brandis
1998, 80 Seiten
-
- 55 **Band 32**
Kriterien für Evakuierungsempfehlungen bei Chemikalienfreisetzungen
G. Müller
1998, 244 Seiten + Faltkarte
-
- 56 **Band 33**
Laserspektrometrischer Nachweis von Strontiumnukliden
J. Bernhardt, J. Haus, G. Hermann, G. Lasnitschka, G. Mahr, A. Scharmann
1998, 128 Seiten
-
- 57 **Band 34**
Untersuchung der Wirksamkeit von Selbstschutzausstattung bei Chemieunfällen
S. Bulheller, W. Heudorfer
2003, 278 Seiten
-
- 58 **Band 35**
Praxisanforderungen an Atem- und Körperschutzausstattung zur Bekämpfung von Chemieunfällen
K. Amman, A.-N. Kausch, A. Pasternack, J. Schlobohm, G. Bresser, P. Eulenburg
2003, 158 Seiten
-
- 59 **Band 36**
Biologische Indikatoren für die Beurteilung multifaktorieller Beanspruchung
Experimentelle, klinische und systemtechnische Untersuchung
M. Weiss, B. Fischer, U. Plappert und T. M. Fliedner
1998, 104 Seiten
-

- 60 **Band 37**
Entwicklung von Verfahren zur Abschätzung der gesundheitlichen Folgen von Großbränden
K.-J. Kohl, M. Kutz
-
- 61 **Band 38 – vergriffen –**
Rechnergestütztes Beratungssystem für das Krisenmanagement bei chemischen Unfällen (DISMA®)
W. Kaiser, M. Schindler
1999, 156 Seiten
-
- 62 **Band 39**
Optimierung des Schutzes vor luftgetragenen Schadstoffen in Wohngebäuden
TÜV Energie und Umwelt GmbH
2001, 108 Seiten
-
- 63 **Band 40 – vergriffen –**
Entwicklung von Dekontaminationsmitteln und -verfahren bei Austritt von Industriechemikalien
F. Schuppe
2001, 124 Seiten
-
- 64 **Band 41**
Einfluss von Zytokinen und Lipidmediatoren auf die Kontrolle und Regulation spezifischer Infektabwehr bei Brandverletzung
W. König, A. Drynda, B. König, R. Arnold, P. Wachtler, M. Köller
2001, 76 Seiten
-
- 65 **Band 42**
45., 46. und 48. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern – Vorträge –
2000, 344 Seiten
-
- 66 **Band 43**
Empirisch-psychologische Analyse des menschlichen Fehlverhaltens in Gefahrensituationen und seine verursachenden und modifizierenden Bedingungen sowie von Möglichkeiten zur Reduktion des Fehlverhaltens
D. Ungerer, U. Morgenroth
2001, 300 Seiten
-

- 67 **Band 44**
Medizinische Versorgung beim Massenanfall Verletzter bei Chemikalienfreisetzung
E. Pfenninger, D. Hauber
2001, 140 Seiten
-
- 68 **Band 45**
Technologische Möglichkeiten einer möglichst frühzeitigen Warnung der Bevölkerung – Kurzfassung –
Technological Options for an Early Alert of the Population – Short Version –
V. Held
2001, 144 Seiten
-
- 69 **Band 46**
Methoden der Bergung Verschütteter aus zerstörten Gebäuden
F. Gehbauer, S. Hirschberger, M. Markus
2001, 232 Seiten
-
- 70 **Band 47 – vergriffen –**
Organisation der Ernährungsnotfallvorsorge
J. Rasche, A. Schmidt, S. Schneider, S. Waldtmann
2001, 86 Seiten
-
- 71 **Band 48**
2. Gefahrenbericht
Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
2001, 92 Seiten
-
- 72 **Band 49 – vergriffen –**
Task Force für die Schnellanalytik bei großen Chemieunfällen und Bränden
G. Matz, A. Schillings, P. Rechenbach
2002, 268 Seiten
-
- 73 **Band 50**
Entgiftung von Organophosphaten durch Phosphorylphosphatasen und Ethanolamin
R. Zech
2002, 182 Seiten
-
- 74 **Band 51**
Erstellung eines Schutzdatenatlases
W. R. Dombrowsky, J. Horenczuk, W. Streitz
2003, 266 Seiten,
-

- 75 **Band 52**
49. und 50. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
2003, 212 Seiten
-
- 76 **Band 53**
Schwachstellenanalyse aus Anlass der Havarie der PALLAS
L. Clausen
2003, 220 Seiten
-
- 77 **Band 54**
**Untersuchung zur Einbindung des öffentlichen Gesundheitsdienstes in die
katastrophenmedizinische Versorgung in der Bundesrepublik Deutschland**
E. Pfenninger, S. Himmelseher, S. König
2005, 288 Seiten
-
- 78 **Band 55**
51. und 52. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
– Vorträge –
2005, 234 Seiten
-
- 79 **Band 56**
**Aufbau und Ablauf der Dekontamination und Notfallversorgung Verletzter
bei Zwischenfällen mit chemischen Gefahrstoffen**
2005, 260 Seiten
-
- 80 **Band 57**
**Entwicklungen von Standards und Empfehlungen für ein Netzwerk zur bundesweiten
Strukturierung und Organisation psychosozialer Notfallversorgung**
I. Beerlage, T. Hering, L. Nörenberg et al.
2006, 304 Seiten
-
- 81 **Band 58**
Infrarot-Fernerkundungssystem für die chemische Gefahrenabwehr
R. Harig, G. Matz, P. Rusch
2006, 134 Seiten
-
- 82 **Band 59**
Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
3. Gefahrenbericht
2006, 104 Seiten
-

Zivilschutzforschung, Alte Folge

-
- 83 **Schutzkommission beim Bundesminister des Innern.
25 Jahre Forschung für den Zivil- und Katastrophenschutz**
1975/ISBN 3-7894-0038-6/Druckversion vergriffen
-
- 84 **Beiträge zur Frage der Erholung von Strahlenschäden**
H. Muth, H. Pauly/1975/ISBN 3-7894-0039-4/ Druckversion vergriffen
-
- 85 **Strahlenempfindlichkeit und die akute und chronische Strahlenschädigung der Leber**
R. Lesch/1976/ISBN 3-7894-0048-3/Druckversion vergriffen
-
- 86 **Untersuchungen zu Therapie und Prognose des Kreislaufschocks beim Menschen**
H. Schönborn/1976/ISBN 3-7894-0048-3/Druckversion vergriffen
-
- 87 **Kombinationsschäden als Folge nuklearer Explosionen**
O. Messerschmidt/1977/ISBN 3-7894-0055-6/Druckversion vergriffen
-
- 88 **Literaturübersicht zur Frage der Erholung nach Ganzkörperbestrahlung**
A. Kindt, E.-L. Sattler/1977/ISBN 3-7894-0058-0/Druckversion vergriffen
-
- 89 **Bestimmung der Wasserdurchlässigkeit von Kiesbeton aus dem Wassereindringverhalten**
J. Steinert/1977/ISBN 3-7894-0056-4/Druckversion vergriffen
-
- 90 **Beiträge zur Neutronenwaffe**
A. Sittkus, H. Mönig/1978/ISBN 3-7894-0061-0/Druckversion vergriffen
-
- 91 **Veränderung von Befinden und Leistung bei einem Bunkerbelegungsversuch**
J. F. Dirr, J. Kugler, M. C. Laub, K. Schröder/1979/ISBN 3-7894-0062-9/Druckversion vergriffen
-
- 92 **Wirkungen des Luftstoßes von nuklearen und konventionellen Explosionen**
G. Weigel/1980/ISBN 3-7894-0078-5/Druckversion vergriffen
-
- 93 **Brandgefährdung von Wohngebieten durch Flächenbrände**
O. Carlowitz, T. Krone, R. Jeschar/1980/ISBN 3-7894-0079-3/Druckversion vergriffen
-
- 94 **Untersuchungen zum Strahlenrisiko**
H. Schüssler, H. Pauly, B. Glöbel, H. Glöbel, H. Muth, E. Oberhausen/1981/
ISBN 3-7894-0083-2/Druckversion vergriffen
-

- 95 **30 Jahre Schutzkommission – Ausgewählte Vorträge**
1981/ISBN 3-7894-0084-1/Druckversion vergriffen
-
- 96 **Einführung in die Soziologie der Katastrophen**
L. Clausen, W. R. Dombrowsky/1983/ISBN 3-7894-0090-4/Druckversion vergriffen
-
- 97 **Ulmer Vorträge, Festschrift für Franz Gross**
1983/ISBN 3-7894-0091-2/ Druckversion vergriffen
-
- 98 **Streß und Individuum**
M. Ackenheil, M. Albus, R. R. Engel, H. Hippus/1984/ISBN 3-7894-0092-0/Druckversion vergriffen
-
- 99 **Chemischer Strahlenschutz**
H. Mönig, O. Messerschmidt, C. Streffer/1984/ISBN 3-7894-0096-3/Druckversion vergriffen
-
- 100 **Forschungen für den Zivil- und Katastrophenschutz 1975–1985,**
Festschrift für Paul Wilhelm Kolb
1986/ISBN 3-7894-0097-1/Druckversion vergriffen
-
- 101 **Beiträge zur Wirkung von Kernwaffen**
A. Sittkus, G. Hehn, H. Mönig/1989/Druckversion vergriffen
-
- 102 **Beiträge zur Katastrophenmedizin**
1988/ Druckversion vergriffen
-
- 103 **Arbeiten aus dem Fachausschuß II: Radioaktive Niederschläge**
1988/Druckversion vergriffen
-
- 104 **Organophosphate Biochemie – Toxikologie – Therapie**
G. Schmidt, R. Zech et al./1988/Druckversion vergriffen
-

Sonderveröffentlichungen

-
- 105 **Notfall- und Katastrophenpharmazie I – Bevölkerungsschutz und
Medizinische Notfallversorgung**
2009/ISBN 978-3-939347-18-7
-
- 106 **Notfall- und Katastrophenpharmazie II – Pharmazeutisches Notfallmanagement**
2009/ISBN 978-3-939347-19-4
-
- 107 **Katastrophenmedizin – Leitfaden für die ärztliche Versorgung im Katastrophenfall**
2006/ISBN 3-939347-01-9 bzw. 978-3-939347-01-9
-
- 108 **Biologische Gefahren – Beiträge zum Bevölkerungsschutz, 2. Auflage**
2005/ISBN 3-00-016733-1/Druckversion vergriffen
-
- 109 **Biologische Gefahren I – Handbuch zum Bevölkerungsschutz,
3. vollständig überarbeitete Auflage**
2007/ISBN 3-939347-06-X bzw. 978-3-939347-06-4
-
- 110 **Biologische Gefahren II – Entscheidungshilfen zu medizinisch angemessenen
Vorgehensweisen in der B-Gefahrenlage**
2007/ISBN 3-939347-07-8 bzw. 978-3-939347-07-1
-

