

**Untersuchungen zur Prüfung der antimikrobiellen
Wirksamkeit von Flächendesinfektionsverfahren
zur Prävention nosokomialer Infektionen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades (PhD)
der Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Anja Jacobshagen, geb. Lepinat

aus Berlin

2020

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Martin Exner
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Axel Kramer

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Oktober 2020

Aus dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Martin Exner

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1 Einleitung	8
1.1 Bedeutung der Hygiene und Flächendesinfektion	8
1.2 Nosokomiale Infektionen	9
1.2.1 Die Relevanz Gram-negativer Erreger	10
1.2.2 Infektionsreservoir und Infektionswege im Krankenhaus	13
1.2.3 Krankenhauserreger auf unbelebten Oberflächen	15
1.2.4 Mikrobieller Bioburden.....	17
1.3 Präventionsstrategien.....	18
1.3.1 Reinigung	19
1.3.2 Desinfektion und Sterilisation	19
1.3.3 Anwendungsgebiete der Desinfektion in der Humanmedizin	20
1.4 Desinfektionsmittelprüfung	22
1.4.1 Prüfverfahren bei der Flächendesinfektion	22
1.4.2 Wirksamkeitsanforderungen.....	24
1.4.3 Auswahl der Testorganismen	24
1.5 Antimikrobielle Wirkstoffe	25
1.5.1 Alkohole	27
1.5.2 Aldehyde	27
1.5.3 Guanidine	28
1.5.4 Oxidantien	28
1.5.5 Quartäre Ammoniumverbindungen (QAV)	29
1.5.6 Alkylamine.....	30
1.6 Zielsetzung.....	30
1.6.1 Vergleich von 4-Felder Test und Wiperator-Methode.....	30
1.6.2 Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche mit dem 4-Felder Test.....	31

1.6.3	Wirksamkeitsprüfung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte und einer Einzelsubstanz gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten im quantitativen Suspensionsversuch ...	31
2	Material und Methoden	32
2.1	Material	32
2.1.1	Laboraausstattung.....	32
2.1.2	Verbrauchsmaterialien	33
2.1.3	Wasser	33
2.1.4	Chemikalien	33
2.1.5	Puffer und Lösungen.....	34
2.1.6	Nährmedien und Nährböden	36
2.1.7	Neutralisatoren.....	37
2.1.8	Organische Belastung	37
2.1.9	Desinfektionsprodukte.....	38
2.1.10	Material der Testflächen.....	39
2.1.11	Standard-Wischtücher.....	39
2.1.12	Bakterienstämme	40
2.2	Stammkultur, Lagerung und Kultivierung der Prüforganismen	41
2.2.1	Herstellung von Gebrauchskultur und Bakterien-Prüfsuspension	41
2.2.2	Bestimmung der Lebendzellzahl in der Bakterien-Prüfsuspension.....	41
2.3	Methoden zur Überprüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten.....	42
2.3.1	Herstellung der Desinfektionsmittel-Prüflösungen.....	42
2.3.2	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC).....	42
2.3.3	Quantitativer Suspensionsversuch.....	43
2.3.4	4-Felder Test.....	44
2.3.5	Wiperator-Methode gemäß ASTM-Standard E2967-15	50
2.4	Statistische Methoden	53
3	Ergebnisse	54
3.1	Vergleich des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode.....	54

3.1.1	Methodischer Vergleich	54
3.1.2	Rückgewinnungsrate der Testorganismen	55
3.1.3	Bakterizide Wirksamkeit	56
3.1.4	Signifikanzberechnungen	59
3.2	Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche mit dem 4-Felder Test	61
3.2.1	Versuchsordnung	61
3.2.2	Wirksamkeitsnachweis	62
3.2.3	Wirksamkeitsnachweis bei zusätzlicher Desinfektionsmittelmenge.....	68
3.2.4	Flüssigkeitsabgabe.....	69
3.3	Wirksamkeitsuntersuchung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte und einer Einzelsubstanz gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten im quantitativen Suspensionsversuch	70
3.3.1	Versuchsordnung	70
3.3.2	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC) von QAV	71
3.3.3	Wirksamkeit von QAV gegenüber verschiedenen Gram-negativen Spezies aus der Stammsammlung	72
3.3.4	Wirksamkeit von QAV gegenüber <i>P. aeruginosa</i> 4MRGN-Umweltisolaten und einem panresistenten <i>K. pneumoniae</i> Patientenisolat.....	75
3.3.5	Signifikanzberechnungen	76
4	Diskussion	82
4.1	Vergleich des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode	82
4.2	Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche	84
4.3	Wirksamkeitsprüfung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten.....	88
4.4	Limitationen	93

4.5	Schlussfolgerungen.....	94
5	Zusammenfassung.....	97
6	Abbildungsverzeichnis und Tabellenverzeichnis.....	99
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	99
6.2	Tabellenverzeichnis.....	100
7	Literaturverzeichnis	103

Abkürzungsverzeichnis

<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
ADBAC	Alkyl-Dimethyl-Benzyl-Ammoniumchlorid
AF	Akkumulationsfaktor
ASTM	American Society for Testing and Materials
BSA	Bovines Serumalbumin (Rinderserumalbumin)
<i>C. difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i>
CSB	Casein-Sojamehlpepton-Bouillon
<i>E. hirae</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
DIN	Deutsches Institut für Normung
DDAC	Didecyl-Dimethyl-Ammoniumchlorid
EWZ	Einwirkzeit
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KbE	Koloniebildende Einheiten
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
MRGN	Multiresistente Gram-negative Stäbchenbakterien
MW	Mittelwert
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
rtu-Wipe	ready-to-use Wipe
TSA	Trypton-Soja-Agar
QAV	quartäre Ammoniumverbindungen
VAH	Verbund für angewandte Hygiene e.V.
WSH	Wasser standardisierter Härte

1 Einleitung

1.1 Bedeutung der Hygiene und Flächendesinfektion

Hygiene ist für die Gesundheit unerlässlich. Sie berührt unser aller Leben, da sie gleichermaßen alltägliche Vorgänge wie das Händewaschen oder die Oberflächenreinigung umfasst und präventive Vorgaben zur Krankheitsverhinderung beinhaltet. Die Einführung von gesamtgesellschaftlich verbindlichen Hygienemaßnahmen zählt daher zu den zentralen Aufgaben der öffentlichen Gesundheitspflege (Public Health). Die Sicherstellung dieser Form des öffentlichen Wohlergehens kann nicht ausschließlich dem Individuum überlassen bleiben, sondern wird in unterschiedlichen gesellschaftlichen Bereichen auch von staatlichen Institutionen gewährleistet. Dies gilt nicht nur für Kranken- und Pflegeeinrichtungen, sondern beispielsweise auch für die Lebensmittelindustrie, die Tierhaltung, die Trinkwasserversorgung und die Abwasser- und Abfallentsorgung. Als Begründer des staatlichen Ansatzes zur Erhaltung der öffentlichen Gesundheit gilt der Mediziner Johann Peter Frank. In seinem Buch *System einer vollständigen medizinischen Polizey* (Frank und Fahner, 1792) beschreibt Frank zahlreiche Verbesserungsmöglichkeiten der öffentlichen Gesundheit durch die Einführung von Verwaltungsmaßnahmen. Auch heute bestimmen mannigfaltige Vorgaben zur Gesundheitsförderung von staatlicher Seite wesentliche Bereiche unseres Lebens.

Besonders in Kranken- und Pflegeeinrichtungen dient die Implementierung von Hygienekonzepten als eine Aufgabe von Public Health dem Ziel, die Ausbreitung nosokomialer Infektionen und antibiotikaresistenter Bakterien zu verhindern. Ein Instrument zur Reduktion mikrobieller Kontamination ist die gezielte desinfizierende Flächenreinigung im patientennahen Umfeld (Exner, 2007). Für dieses präventive Desinfektionsverfahren werden in Krankenhäusern und anderen Pflegeeinrichtungen seit einigen Jahren vermehrt Tuchtränksysteme und gebrauchsfertige Einmal-Desinfektionstücher verwendet. Aktuelle Untersuchungen haben bestätigt, dass Infektionsausbrüche in Gesundheitseinrichtungen mit der nicht sachgerechten Anwendung dieser Produkte in Zusammenhang stehen können, wie der Verbund für angewandte Hygiene (VAH) e. V. in seinen Empfehlungen beschreibt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2012). Dabei mangelt es in den Gesundheitseinrichtungen nicht so sehr am Wissen um die richtige Vorgehensweise als

vielmehr an der exakten Umsetzung und umfassenden und nachträglichen Kontrolle dieser Maßnahmen (Gastmeier, 2012). Hieran zeigt sich, dass scheinbar einfache hygienische Abläufe wie die Desinfektion von Oberflächen keineswegs trivial sind, sondern minutiös erlernt werden müssen. Überdies wird deutlich, dass die Entwicklung von standardisierten Verfahren für Reinigungs- und Desinfektionsprozesse einschließlich deren regelmäßiger Überprüfung für die Sicherstellung einer wirksamen Flächendesinfektion als Teil der Basishygiene unverzichtbar sind (Bloomfield et al., 2017; Dancer, 2009). Damit steht die angewandte Hygiene als Teildisziplin der Public Health auch heute noch in der Tradition von Robert Koch, der in seiner Abhandlung *Über Desinfektion* die experimentelle Desinfektion einführte (Koch, 1881).

1.2 Nosokomiale Infektionen

Nosokomiale Infektionen zählen in Europa zu den häufigsten Infektionen im Rahmen von medizinischen Behandlungen (European Centre for Disease Prevention and Control, 2018; Mielke, 2010). Laut Schätzungen erkranken in Europa daran über 4 Millionen Patienten pro Jahr (Moralejo et al., 2018).

Bis Mitte der 1970er Jahre wurde die Rolle von unbelebten Oberflächen bei der Übertragung von Infektionen im Krankenhaus als vernachlässigbar betrachtet. Das Committee on Infections within Hospitals der American Hospital Association stellte 1974 fest: „The occurrence or prevalence of nosocomial infection has not been related to levels of microbial contamination of air, surfaces, and fomites and meaningful standards for permissible levels of such contamination do not exist” (American Hospital Association, 1974). Die Krankenhausumgebung als mögliche Quelle für nosokomiale Infektionen stand damals noch nicht im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit (Ayliffe et al., 1967). Weitere Studien der 1970er und 1980er Jahre, die sich vor allem auf den Menschen als Infektionsreservoir konzentrierten, bestätigten zunächst diese Sichtweise (Maki et al., 1982; Weber et al., 1976). Untersuchungen, in denen Gegenstände im Krankenzimmer auf mikrobielle Kontamination geprüft wurden, wiesen schließlich infektiöse Erreger in der Patientenumgebung nach (Sanderson und Weissler, 1992; Scott und Bloomfield, 1990). Seit Ende der 1990er Jahre mehrten sich die Indizien, dass pathogene Erreger auch über Oberflächen im patientennahen Bereich übertragen werden können (Boyce et al., 1997; Ray et

al., 2002). Die Fläche als potenzielles Infektionsreservoir rückte damit wieder in den Fokus der wissenschaftlichen Diskussion (Exner et al., 2004). Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) veröffentlichte 2004 die Richtlinie *Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen* (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2004). Auch auf europäischer Ebene wurden Vorgaben zur Flächendesinfektion erlassen, wie z. B. die englische epic3-Leitlinie zur Verhütung von Krankenhaus-Infektionen (Loveday et al., 2014). Aktuell gilt es in der Forschung als unstrittig, dass die Übertragung von Krankheitserregern direkt oder indirekt über Oberflächen zum Patienten möglich ist und auf diese Weise Infektionen ausgelöst werden (Dettenkofer und Block, 2005; Siani und Maillard, 2015; Stiefel et al., 2011; Weber et al., 2010). Hervorzuheben ist, dass auch weniger beachtete Oberflächen wie z.B. Gardinen (Shek et al., 2017; Shiomori et al., 2002), Patientenakten (Chen et al., 2014) oder Tablet-Computer (Hirsch et al., 2014) häufig Infektionserreger beherbergen. Vor dem Hintergrund, dass Mikroorganismen viele Tage, Wochen und Monate auf unbelebten Flächen überdauern können, erhält dieses Wissen eine besondere Brisanz (Boyce, 2007; Kramer et al., 2006). Die Durchführung einer routinemäßigen und gezielten Flächendesinfektion, die sich am zu erwartenden Keimspektrum, den verschiedenen Risikobereichen eines Krankenhauses und dem Immunstatus der Patienten orientiert, ist daher zum festen Bestandteil der Präventionsstrategie in Gesundheitseinrichtungen geworden (Exner, 2007; Gebel et al., 2013; Mielke, 2018).

1.2.1 Die Relevanz Gram-negativer Erreger

Lange Zeit standen bei der Untersuchung von im Krankenhaus erworbenen Infektionen Gram-positive Bakterien im Mittelpunkt. Seit einigen Jahren treten vermehrt Gram-negative Bakterien mit Antibiotikaresistenzen als Auslöser dieser Infektionen auf (Corbella et al., 2000; Mosqueda et al., 2013; Exner et al., 2017; Tamma et al., 2012). Multiresistente Gram-negative Stäbchenbakterien (MRGN) gelten mittlerweile als Problemkeime des 21. Jahrhunderts. Da sie aufgrund der wachsenden Mobilität der Menschen Gebietsgrenzen zunehmend schnell überwinden (Schröppel und Riessen, 2013), bilden sie eine Gefahr von globaler Tragweite (Khan, 2017). Die zunehmende Inzidenz an mit Gram-negativen Bakterien assoziierten Infektionen ist auch an den kontinuierlichen Einsendungen an das Nationale Referenzzentrum für Gram-negative Krankhauserreger abzulesen. Demnach

hat sich im Zeitraum von 2009 bis 2017 die Gesamtzahl der jährlichen Meldungen ver-
hundertfacht (Abb. 1).

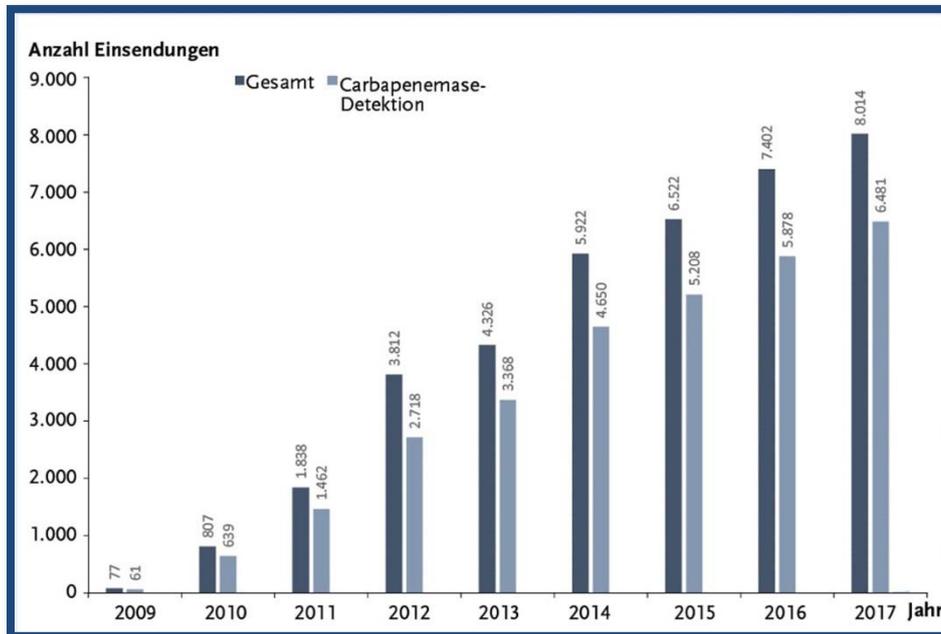


Abb. 1: Anzahl der jährlichen Einsendungen aus deutschen Krankenhäusern an das Nationale Referenzzentrum für Gram-negative Krankenhauserreger 2009–2017 (modifiziert nach Pfennigwerth, 2018).

Aufgrund einer Reihe verschiedener Mechanismen können sich bei Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien Resistenzen gegenüber Antibiotika ausbilden. Dazu zählen die reduzierte Aufnahme in die Zelle durch das Vorkommen von Porinen, der aktive Abtransport von Molekülen durch Efflux-Pumpensysteme, die enzymatische Inaktivierung durch die Enzymgruppe der β -Laktamasen oder phänotypische Adaptationen, wie z.B. die Ausbildung von Biofilm. Aufgrund ihres unterschiedlichen Aufbaus der äußeren Zellwand verfügen Gram-negative Bakterien jedoch im Vergleich zu Gram-positiven Bakterien grundsätzlich über eine stärkere intrinsische Resistenz gegenüber Antibiotika (Hancock, 1997; Hancock und Speert, 2000). Wenn die Resistenzmechanismen zu einer Abwehr gegenüber mindestens drei unterschiedlichen Antibiotikaklassen führen, wird dies als Multiresistenz bezeichnet. Die KRINKO hatte für die Beschreibung dieses Phänomens bei Gram-negativen Stäbchenbakterien eine eigene Klassifizierung entwickelt, die sich an der Resistenz gegenüber den bei diesen Infektionen verwendeten vier Antibiotikagruppen (Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Fluorchinolone) orientiert (Kommission

für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2012). Demnach werden als 3MRGN multiresistente Gram-negative Stäbchen bezeichnet, die gegen drei der vier Antibiotikagruppen resistent sind und als 4MRGN diejenigen Gram-negativen Stäbchen, die gegen alle vier Antibiotikagruppen resistent sind. Die Ausbildung von Resistenzen gegenüber Antibiotika ist ein bekanntes Problem, das lösbar schien, solange genügend wirksame Medikamente zur Verfügung standen. Indessen wurden seit dem Jahr 2000 nur noch drei Substanzen zur Marktreife gebracht: die Wirkstoffe Linezolid, Daptomycin und Ceftaroline, die allerdings primär gegenüber Gram-positiven Bakterien wirksam sind (Abb. 2).

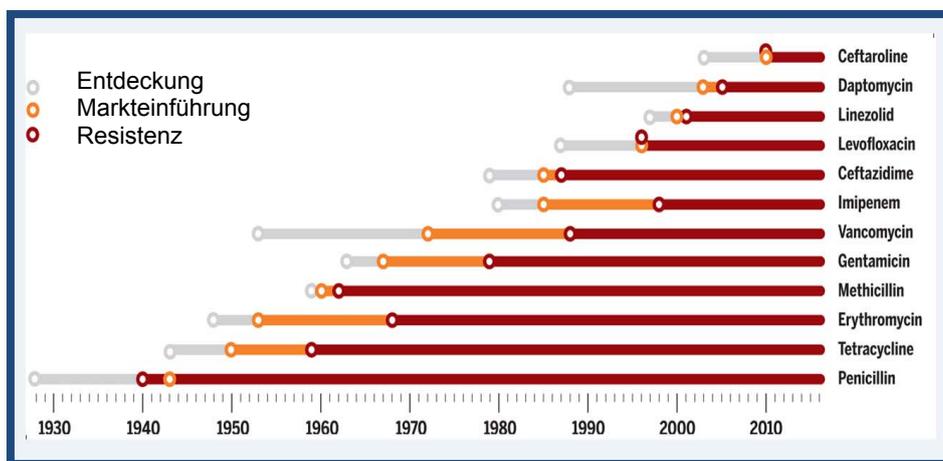


Abb. 2: Intervalle von der Entdeckung von Antibiotika bis zur Resistenzentwicklung (modifiziert nach Kupferschmidt, 2016).

Für Infektionen mit Gram-negativen Bakterien tut sich damit eine empfindliche Versorgungslücke auf (Kloß und Gerbach, 2018). Zugleich ist der Zeitabschnitt von der Markteinführung eines neuen Medikaments bis zur Resistenzbildung gegen die darin erhaltenen Wirkstoffe immer kürzer geworden. Unverkennbar ist zudem, dass Bakterien gegen jedes bislang entdeckte Antibiotikum früher oder später eine Resistenz entwickelt haben (Abb. 2). Das Ausbleiben der Entdeckung neuer Wirkstoffe bei gleichzeitiger Zunahme von antibiotikaresistenten Erregern lässt Hygienemaßnahmen zur Verhinderung der Ausbreitung nosokomialer Erreger an Bedeutung gewinnen. In der 2012 veröffentlichten Empfehlung der KRINKO zum Umgang mit Patienten, die mit multiresistenten Gram-negativen Stäbchenbakterien (MRGN) besiedelt oder infiziert sind, wird die Notwendigkeit einer sachgerechten Flächendesinfektion mehrfach betont (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2012). Desinfektionsmittel, deren bakterizide

Wirksamkeit gemäß Normen geprüft wurden, sollten auch gegenüber antibiotikaresistenten Bakterien wirksam sein. Allerdings gibt es in der Literatur Hinweise darauf, dass eine Antibiotikaresistenz zu verminderten Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln führen kann (Russell, 2003). Daher wird im Zusammenhang mit vorbeugenden Hygienemaßnahmen die Gefahr einer möglichen Toleranzentwicklung bei Gram-negativen Bakterien insbesondere gegenüber Flächendesinfektionsmitteln auf Basis quartärer Ammoniumverbindungen diskutiert (Soumet et al., 2016).

1.2.2 Infektionsreservoirire und Infektionswege im Krankenhaus

Nosokomiale Infektionserreger werden in endogene und exogene Formen eingeteilt: Exogene Erreger werden auf den Patienten übertragen, endogene Erreger sind hingegen Teil der patienteneigenen Flora (Vonberg und Graf, 2012). Als Hauptverursacher postoperativer Wundinfektionen gelten endogene Erreger (Engelke und Oldhafer, 2010; Weber et al., 2013). Zu den exogenen Erregerquellen nosokomialer Infektionen zählen das Krankenhauspersonal und die Umwelt des Patienten. In der patientennahen Umgebung begünstigen kontaminierte Oberflächen und Gegenstände im Krankenzimmer eine Kreuzkontamination. Dabei dominiert die Verbreitung der Erreger über Hand-zu-Hand-Kontakt oder Hand-zu-Oberflächen-Kontakt, da das Krankenhauspersonal und die Patienten selbst mit den verschiedenen Oberflächen in Berührung kommen (Weinstein, 1991). In der Literatur wird deshalb auch auf die unabdingbare Notwendigkeit der Händedesinfektion zur Vermeidung von Infektionen hingewiesen. Da die konsequente Desinfektion der Hände selbst 150 Jahre nach der Veröffentlichung von Ignaz Semmelweis nicht immer zuverlässig durchgeführt wird, ist die Desinfektion von Oberflächen umso dringlicher (Adriaanse et al., 2000; Mielke, 2018; Stewardson et al., 2011). Für *Clostridioides (C.) difficile* konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Rate von Hand- und Oberflächenkontaminationen gezeigt werden (Samore et al., 1996). Ebenso waren pflegerische Tätigkeiten in der unmittelbaren Nähe des Patienten, wie z.B. das Anheben des Patienten oder das Wechseln von Wäsche, mit der Übertragung von *C. difficile* vom Patienten auf das Personal und umgekehrt assoziiert. Vermutlich besteht die beschriebene Korrelation auch für andere pathogene Erreger. Auf diese Weise kann selbst bei flüchtigem Kontakt mit kontaminierten Gegenständen eine ausreichende mikrobielle Erregerlast für einen Transfer auf andere Oberflächen aufgenommen werden. Dabei fördern Verunreinigungen

auf den Zieloberflächen die Vermehrung der Erreger (Scott und Bloomfield, 1990). Mikroorganismen werden zudem aerogen durch Sprechen, Niesen, Husten oder durch Luftzirkulationen, die z.B. durch das Zuziehen von Vorhängen oder beim Bettenmachen verursacht werden, im Raum verbreitet (Shek et al., 2017; Shiomori et al., 2002). Bereits geringe Luftbewegungen reichen aus, um sedimentierte Krankheitserreger aufzuwirbeln und als infektiösen Staub auf Patienten oder Flächen zu übertragen (Klein und Werner, 1970). Flüssige Kosmetikprodukte für die Körperpflege werden ebenfalls von Bakterien besiedelt (Madani et al., 2011; Rubenstein und Morse, 1968) und sogar Vortränkesysteme zur Flächendesinfektion (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2012), Desinfektionslösungen (Langsrud et al., 2003a) oder Desinfektionstuchspender (Kampf et al., 2014) können bei nicht sachgerechter Handhabung kontaminiert und zum Reservoir für Mikroorganismen werden. Zur weiteren Abschätzung des Risikos einer Übertragung von Krankheitserregern ist die Berührungsfrequenz von Oberflächen eine wichtige Kenngröße. Auf Basis der Häufigkeit, mit der verschiedene Gegenstände in einer bestimmten Zeiteinheit angefasst wurden, haben Huslage et al. (2010) verschiedene Gegenstände im patientennahen Umfeld (z.B. das Bettgitter oder den Versorgungswagen) als sogenannte high-touch-Oberflächen definiert. Weber et al. (2010; 2013) identifizierten zusätzliche Aspekte, die eine Übertragung oberflächengebundener Erreger auf Patienten oder Krankenhauspersonal begünstigen (Tab. 1).

Tab. 1: Transmissionsbegünstigende Aspekte für eine nosokomiale Infektion

Erregerspezifische Einflüsse	Anthropogene Einflüsse
Überdauerungsfähigkeit auf Flächen	Häufigkeit Kontakt Hand mit Oberfläche
Toleranz gegen Desinfektionsmitteln	anschließend Patient und umgekehrt
Kolonisationsfähigkeit bei Patienten und Krankenhauspersonal	Unzureichende Hände- und Oberflächendesinfektion
Virulenz bei geringer Infektionsdosis	

Modifiziert nach Weber et al. (2010; 2013).

In Gesundheitseinrichtungen kommt es aufgrund der beschriebenen Arbeitsabläufe und der spezifischen Gegebenheiten zu einem Kreislauf aus Kontakt, Übertragung und erneuter Kontamination mit Pathogenen (Abb. 3).

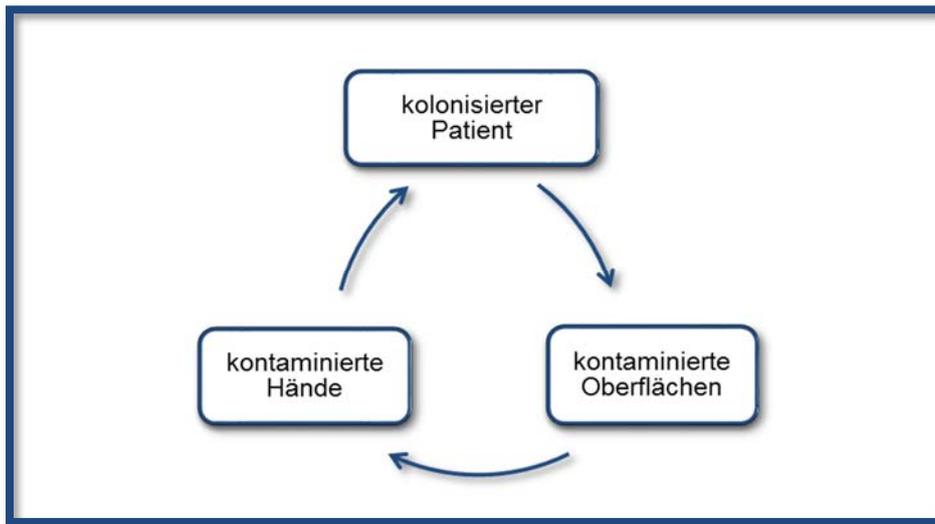


Abb. 3: Infektionskreislauf im Krankenhaus (modifiziert nach Russotto et al., 2015).

In einer randomisierten Studie konnte belegt werden, dass eine regelmäßige Desinfektion von Händen und Oberflächen hilft, den dargestellten Infektionskreislauf zu durchbrechen (Kundrapu et al., 2012). Diese Erkenntnis bestätigt die Forderung nach einer qualifizierten und standardisierten Oberflächendesinfektion.

1.2.3 Krankenhauserreger auf unbelebten Oberflächen

Ein Krankenhaus bietet vielen Bakterien die Möglichkeit, außerhalb des menschlichen Organismus zu überdauern und Patienten zu infizieren. Die Patientenumgebung wird in Trocken- und Feuchtbereiche unterteilt (Tab. 2).

Tab. 2: Einteilung der Patientenumgebung in Trocken- und Feuchtbereiche

Trockenbereich	
Patientennah (in Greifnähe)	Patientenfern (nicht in Greifnähe)
Patientenbett mit Zubehör	Türgriff und Lichtschalter
Telefon	Patientenmonitor, Bedienelemente
Feuchtbereich	
Patientennah (in Greifnähe)	Patientenfern (nicht in Greifnähe)
keine	Waschbecken, Toilette und Dusche
	Türgriff und Lichtschalter

Diejenigen Bakterienspezies, die im Feucht- und Trockenbereich der Patientenumgebung mit Infektionen in Zusammenhang gebracht werden, sind in den Tabellen 3 und 4 aufgeführt. In feuchter Umgebung dominieren Gram-negative Bakterien, Mykobakterien und Pilze. In trockener Umgebung wird neben Gram-negativen Bakterien auch der Gram-positive Organismus *S. aureus* gefunden. Aufgrund dieser Präferenzen werden typische Nasskeime (z. B. *P. aeruginosa*) und Trockenkeime (z. B. *S. aureus*) unterschieden (Gundermann, 1972). Trotzdem können sowohl Gram-positive als auch Gram-negative Bakterien über Monate auf unbelebten Oberflächen überdauern (Kramer et al., 2006).

Tab. 3: Bakterien in feuchter Umgebung assoziiert mit nosokomialen Infektionen

Erreger	Referenz
<i>Legionella species</i>	Le Saux et al., 1989
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Umezawa et al., 2015; Landelle et al., 2013
<i>Enterobacteriaceae</i>	Roux et al., 2013
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Lowe et al., 2012
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kizny-Gordon et al., 2017 Starlander und Melhus, 2012
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Döring et al., 1991; Döring et al., 1993, Salm et al., 2016; Zhou et al., 2016
<i>Serratia marcescens</i>	Archibald et al., 1997, Barry et al. 1984
<i>Nicht-tuberkulöse Mykobakterien</i>	Cooksey et al., 2008

Tab. 4: Bakterien in trockener Umgebung assoziiert mit nosokomialen Infektionen

Erreger	Referenz
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tajeddin et al., 2016
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Hess et al., 2013; Landelle et al., 2013;
<i>Enterobacteriaceae</i>	Tajeddin et al., 2016
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tajeddin et al., 2016
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tajeddin et al., 2016
<i>Serratia marcescens</i>	Kramer et al., 2006

Der Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Überlebensfähigkeit von Bakterien ist nicht abschließend geklärt. Schon in den 1970er Jahren wurde gezeigt, dass Staphylokokken auch in absoluter Trockenheit überdauern können (Gundermann, 1972). Obwohl die Überlebensfähigkeit von *P. aeruginosa* mit der Luftfeuchtigkeit korreliert, zeigt der Organismus bei Trockenheit keine höhere Mortalität als *S. aureus*. Offenbar existieren zusätzliche Einflussfaktoren. Das Fazit Gundermans (1972) zu mikrobiellen Kontaminationen im Krankenhaus ist auch nach fast 50 Jahren noch relevant: „Unabhängig von der relativen Feuchte muss stets damit gerechnet werden, dass einmal kontaminierte Stellen über Monate bis Jahre infiziert bleiben. Bei hoher Feuchte ist die Gefahr einer Verunreinigung mit *P. aeruginosa* am größten.“

1.2.4 Mikrobieller Bioburden

In Anlehnung an Roberts (2001) wird mikrobieller Bioburden als die Anzahl lebender Mikroorganismen, die auf einem Gegenstand oder einer Fläche nachweisbar sind, definiert. Von der Menge mikrobiellem Bioburden hängt die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung und die Auswahl einer geeigneten Präventionsstrategie ab. Ohne diese Größe ist es nicht möglich, die Effektivität von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen – und somit die Reduktion der Erregerlast – differenziert zu beurteilen.

In der Literatur finden sich zur Frage der Menge von mikrobiellem Bioburden auf Oberflächen im Krankenhaus unterschiedliche Angaben. Adams et al. (2017) ermittelten in der patientennahen Umgebung auf häufig berührten Oberflächen, die zwischenzeitlich nicht desinfiziert wurden (Medizinprodukte und Gebrauchsgegenstände, z. B. Bettgeländer, Nachttische und Patientenmonitore) im Durchschnitt >12 KbE/cm². Dabei korrelierte die mikrobielle Kontamination mit der Berührungshäufigkeit: Auf Oberflächen, die häufiger als 10 mal / Stunde berührt wurden, konnten sogar bis zu 40 KbE/cm² gefunden werden. In einer anderen Studie, die die Oberflächen chirurgischer Instrumente auf eine Kontamination hin überprüfte, lag der Durchschnitt bei 2,5 KbE/cm² (Chan-Myers et al., 1997). Bei der Untersuchung von Oberflächen auf einer Intensivstation wurden zwischen 78 bis $3,7 \times 10^8$ Bakterien/cm² identifiziert (Johani et al., 2018). Dieser Wert ist auch assoziiert mit Biofilm, welcher vorhandene Mikroorganismen vor Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen schützt (Johani et al., 2018). Offen blieb in der genannten Literatur die Frage, ob

diese mikrobielle Belastung tatsächlich eine Infektion am Patienten auslösen könnte. Da die Infektionsdosis einzelner Infektionskrankheiten je nach Bakterium variieren kann und auch vom individuellen Gesundheits- oder Entwicklungszustand eines Menschen abhängt, gibt es hierfür keine allgemeingültige Regel. In Tabelle 5 ist die Infektionsdosis für verschiedenen Pathogene aufgeführt.

Tab. 5: Infektionsdosis verschiedener bakterieller Erreger

Organismus	Infektionsdosis	Quelle
<i>Acinetobacter spec.</i>	250 KbE	Dancer, 2014
<i>Clostridioides difficile</i>	5 Sporen	Dancer, 2014
<i>Escherichia coli</i>	10 ² –10 ⁵ KbE	Dancer, 2014
Enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i> (EHEC)	<10 ² KbE	Robert-Koch-Institut, 2019
<i>Klebsiella spec.</i>	10 ² KbE	Dancer, 2014
<i>Salmonella enteritis</i>	10 ⁴ –10 ⁶ KbE 10 ² KbE (Säuglinge)	Robert-Koch-Institut, 2020

Chan-Myers et al. (1997) hoben hervor, dass die nach der Reinigung vorhandene Keimbelastung den Spezies entsprachen, die typischerweise mit der Handhabung des Medizinproduktes und mit der jeweiligen Krankenhausumgebung assoziiert waren. Diese Aussage unterstreicht den Nutzen der Kenntnis über das zu erwartende Keimspektrum für die Auswahl des Reinigungs- und Desinfektionsverfahrens und der Desinfektionsprodukte.

1.3 Präventionsstrategien

Zu den ersten infektionsvermeidenden Maßnahmen zählen die von Ignaz Semmelweis 1847 eingeführte Händedesinfektion (Best und Neuhauser, 2004) und die Verwendung von mit Karbolsäure getränktem Verbandsmaterial zur Verhinderung von Wundinfektionen durch Joseph Lister (Lister, 1868). Seitdem hat sich das Konzept der Hygiene, dessen Grundsatz auf dem Zusammenhang zwischen Sauberkeit und Erhaltung der Gesundheit liegt, allgemein durchgesetzt. Zu den grundlegenden Verfahren der Hygiene gehören Reinigung, Desinfektion und Sterilisation.

1.3.1 Reinigung

Durch eine Reinigung werden sichtbare Verschmutzungen auf Flächen und Gegenständen mit Hilfe von Wischtuch, Wasser und Seife entfernt (Exner et al., 2004). Für den nachfolgenden Desinfektionsschritt ist eine gründliche Säuberung wesentlich, weil die Gegenwart organischer oder anorganischer Verunreinigung die Effektivität von Desinfektionswirkstoffen beeinflussen kann (Gillespie et al., 2012; Hota, 2004). Bei der Flächendesinfektion wird jedoch eine Vorreinigung i.d.R. nicht durchgeführt. Zwar findet bei der Reinigung keine Inaktivierung von Mikroorganismen statt, aber bereits durch die mechanische Komponente des Wischens können potentielle Pathogene äußerst effizient von einer Oberfläche entfernt werden. Tuladhar et al. (2010) demonstrierten, dass mit einem wassergetränktem Tuch eine Bakterienkontamination von einer glatten Oberfläche um eine \log_{10} -Stufe vermindert werden konnte. Mit Mikrofasertüchern konnte durch Reinigung sogar eine Reduktion um $> 3 \log_{10}$ -Stufen erzielt werden (Ali et al., 2012).

1.3.2 Desinfektion und Sterilisation

Im Deutschen Arzneimittelbuch (DAB) von 1926 wurde der Begriff Desinfektion wie folgt definiert: „Desinfizieren heißt, einen Gegenstand in einen Zustand versetzen, in dem er nicht mehr infizieren kann“ (DAB, 1926). Diese Definition wurde knapp 80 Jahre später ergänzt um die Forderung einer nachweisbaren Reduzierung der mikrobiellen Erregerlast: „Desinfektion ist ein Prozess, durch den die Anzahl vermehrungsfähiger Mikroorganismen infolge Abtötung/Inaktivierung unter Angabe eines standardisierten, quantifizierbaren Wirkungsnachweises reduziert wird mit dem Ziel, einen Gegenstand/Bereich in einen Zustand zu versetzen, dass von ihm keine Infektionsgefährdung mehr ausgehen kann. Die Desinfektion beinhaltet nicht die Eliminierung nicht infektiöser Umweltkeime, sondern die definierte Verminderung der Anzahl pathogener oder fakultativ-pathogener Mikroorganismen, ausgenommen bakterielle Sporen (Exner et al. 2004, Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2004). Die Desinfektion ist also eine präventive und selektive Maßnahme, bei der nicht alle Bakterien, sondern nur die krankmachenden in einem bestimmten Ausmaß abgetötet werden, um eine unkontrollierte Verbreitung von Pathogenen zu verhindern. Je nach Art der Mikroorganismen, des Desinfektionsverfahrens und der darauffolgenden Anwendung wird die Reduktion der

Testorganismen bezogen auf eine definierte Ausgangskeimzahl um 3–5 log₁₀-Stufen als ausreichend betrachtet (Deutsches Institut für Normung, 2013; 2014; 2015).

Im Unterschied dazu beschreibt die Sterilisation die vollständige Entfernung von Mikroorganismen. Gemäß der Norm DIN EN 556-2 bedeutet steril „frei von lebensfähigen Mikroorganismen“ (Deutsches Institut für Normung, 2006). Für Medizinprodukte wurde der Begriff in der DIN EN 556-1 weiter spezifiziert. Ein in der Endpackung befindlicher Gegenstand gilt als steril, wenn der theoretische Wert von nicht mehr als ein lebender Mikroorganismus in 1 x 10⁶ sterilisierten Einheiten erreicht ist (Deutsches Institut für Normung, 2006). An die Sterilisation werden also weitaus höhere Anforderungen gestellt als an die Desinfektion.

1.3.3 Anwendungsgebiete der Desinfektion in der Humanmedizin

Zu den Anwendungsgebieten der Desinfektion in der Humanmedizin zählen die Instrumenten-, Wäsche-, Hände-, und Flächendesinfektion. Bei Desinfektionsmaßnahmen wird zwischen laufender oder routinemäßiger und gezielter Desinfektion unterschieden. Routinemäßige Desinfektionsanwendungen dienen dazu, Infektionsketten zu unterbrechen, wogegen die gezielte Desinfektion anlassbezogen bei Wahrnehmen einer konkreten Kontamination durchgeführt wird. Für die Flächendesinfektion, die Kernpunkt dieser Arbeit ist, existieren verschiedene Anwendungsformen:

- Eimer und Wischtuch: Die Desinfektionslösung wird in einem Eimer frisch angesetzt und mit Hilfe eines Wischtuchs verteilt.
- Tuchspendersysteme: Die trockene Tuchrolle wird in eine vom Anwender herzustellenden Desinfektionslösung eingelegt und verbleibt dort anwendungsfertig bis zu 28 Tage.
- Gebrauchsfertige Einmalprodukte (ready-to-use wipes): Die Tücher sind vom Hersteller bereits mit einer Desinfektionsmittellösung vorgetränkt und werden in wiederverschließbaren Softpacks oder Dosen angeboten.

Für die Vielzahl an verfügbaren Produkten fehlt auf dem Markt derzeit noch eine einheitliche Terminologie. Besonders kritisch ist zu bewerten, dass von den Herstellern häufig neue Produkte wie z.B. gebrauchsfertige Schäume für die Flächendesinfektion (Ecolab,

2020) entwickelt werden, für die zum Zeitpunkt der Markteinführung noch keine etablierten Methoden für den Wirksamkeitsnachweis vorliegen. Die bei der Flächendesinfektion eingesetzten Wischtücher können aus Baumwolle, Viskose, Kunstfaser oder einem Mischgewebe bestehen und haben gleichzeitig die beiden Funktionen Reinigung und Desinfektion zu erfüllen. Desinfektionstücher sollen somit Mikroorganismen und anderes organisches Material mechanisch entfernen und ausreichend Desinfektionslösung abgeben, damit sich die bakterizide Wirksamkeit auf der Oberfläche über die Einwirkzeit entfalten kann. Zahlreiche Publikationen zur Wirksamkeit der Flächendesinfektion weisen auf die Existenz verschiedener sich gegenseitig beeinflussender und das Resultat des Desinfektionsprozesses bestimmender Faktoren hin. Das Bündel der verschiedenen Einflussfaktoren ist in Abbildung 4 zusammengefasst.

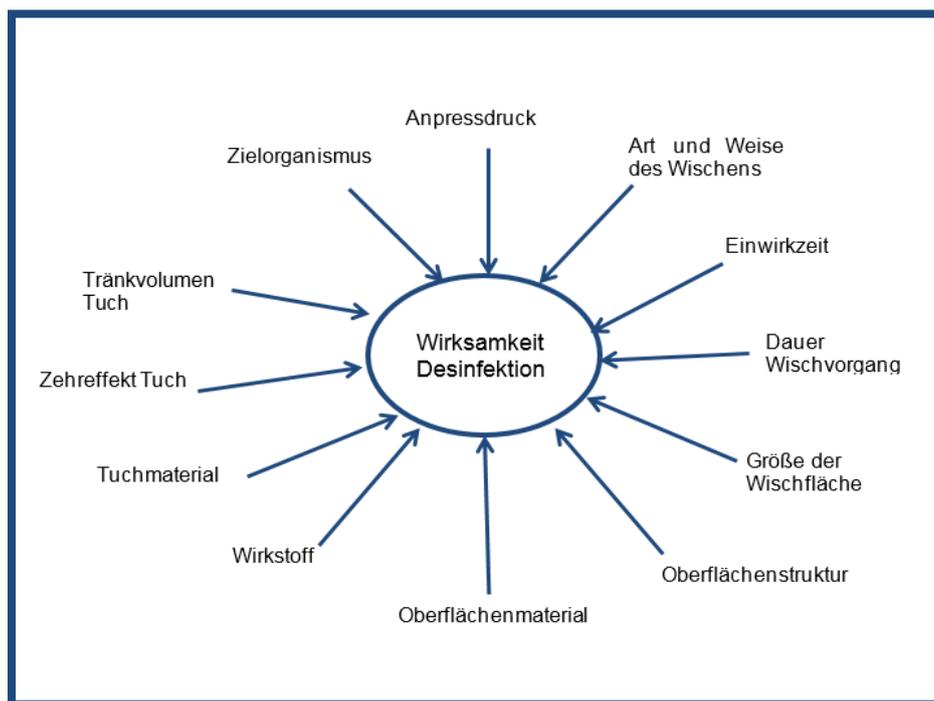


Abb. 4: Einflussfaktoren auf die bakterizide Wirksamkeit der Flächendesinfektion (eigene Darstellung).

Zu den wesentlichen Einflussfaktoren auf die bakterizide Wirksamkeit der Flächendesinfektion zählen neben offensichtlichen Faktoren wie Wirkstoff, Zielorganismus und Einwirkzeit auch Wechselwirkungen zwischen Wischtuch und Wirkstoff, die Beschaffenheit der zu desinfizierenden Oberfläche und auch die Art und Weise des Wischens (Boyce

et al., 2016; Edwards et al., 2017; Gonzalez et al., 2015; Kenters et al., 2017; Otter et al., 2013; Sattar und Maillard, 2013).

Aufgrund der Vielzahl von Faktoren ist es schwierig, reproduzierbare Verfahrensstandards für Desinfektionsmethoden im Bereich der Flächendesinfektion festzulegen.

1.4 Desinfektionsmittelprüfung

1.4.1 Prüfverfahren bei der Flächendesinfektion

Für die Desinfektionsmittelprüfung gelten international die Richtlinien der Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2013), für den amerikanischen Markt sind darüber hinaus die Standards der American Society for Testing and Materials (ASTM) maßgeblich (American Society for Testing and Materials, 2015; 2017). In Europa ist man bestrebt, die verschiedenen Testmethoden für Desinfektionsmittel in europäischen Normen zu harmonisieren. Die Prüfverfahren werden in Phase-1- und Phase-2-Tests unterteilt (Tab. 6).

Tab. 6: Prüfverfahren von Desinfektionsmitteln in der europäischen Normung

nicht-obligatorisch	Phase-1
Basistest zur Abklärung einer bakteriostatischen und bakteriziden Wirkung	Qualitativer Suspensionstest (<i>in-vitro</i> Test)
obligatorisch	Phase-2
	Stufe 1
Einbeziehung organischer Belastungen, verschiedener Konzentration-Zeit-Relationen und Expositionstemperaturen	Quantitativer Suspensionstest (<i>in-vitro</i> Test)
	Stufe 2
Einbeziehung von verschiedenen Anwendungsbedingungen z. B. Wischvorgang, Oberfläche	Quantitativer Test im Labor unter praxisnahen Bedingungen z. B. 4-Felder Test

Eigene Darstellung nach Gebel et al., 2001.

Der Phase-1-Test ist ein quantitativer Suspensionstest ohne organische Belastung zur Abklärung der mikrobiziden oder mikrostatistischen Wirkung. Ab Phase-2, Stufe 1 werden praxisrelevante Faktoren (z. B. organische Belastung, Konzentration-Zeit-Relationen, Expositionstemperaturen) in die Prüfung einbezogen. Die Ergebnisse der *in-vitro* Tests erlauben noch keinen Rückschluss hinsichtlich der Wirksamkeit eines Produktes in der praktischen Anwendung. Deshalb wird eine Wirksamkeitsprüfung unter praxisnahen Bedingungen (Phase-2, Stufe 2 Tests) angeschlossen. Einen Überblick über alle EN-Testmethoden findet sich in der Norm EN 14885 (Deutsches Institut für Normung, 2019). Der Verbund für angewandte Hygiene gibt für den deutschsprachigen Markt auf europäischen Normen basierende Standardmethoden heraus. Aufgrund der historischen Entwicklung der Testverfahren für die Flächendesinfektion existieren unterschiedliche Nomenklaturen bei den europäischen Normen und den VAH-Methoden: So entspricht das Prüfverfahren Phase-2, Stufe 1 der VAH-Methode 9 und auf europäischer Ebene der EN 13727 (Bakterien) und der EN 13624 (Pilze und Hefepilze) (Deutsches Institut für Normung, 2013; 2014). Das Prüfverfahren Phase-2, Stufe 2 (Flächendesinfektion mit Mechanik) entspricht der VAH-Methode 14.2 und auf europäischer Ebene der EN 16615 (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015; Deutsches Institut für Normung, 2015). Die Äquivalenz der VAH-Methode 14.2 mit der DIN EN 16615 wurde von der Desinfektionsmittelkommission des VAH bestätigt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2016).

Auf dem US-Markt ist hingegen die Wiperator-Methode bzw. der ASTM-Standard E2967-15 etabliert (American Society for Testing and Materials, 2015). Beide Verfahren betrachten die Kombination von Tuch und Desinfektionsmitteln, unterscheiden sich aber in grundlegenden Punkten voneinander. Bei dem 4-Felder Test handelt es sich um ein manuelles Verfahren, bei der Wiperator-Methode indessen um ein automatisiertes Verfahren. Weitere Unterschiede betreffen das verwendete Standardtuch, die Dauer des Wischvorgangs, den ausgeübten Anpressdruck, die Größe der Wischfläche und die Leistungskriterien. Es ist daher offen, ob beide Methoden vergleichbare Resultate bei der Wirksamkeitsprüfung liefern. Die Klärung dieser Frage ist für die sichere Anwendung von Flächendesinfektionsmitteln relevant.

1.4.2 Wirksamkeitsanforderungen

Die bakterizide Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels für die humanmedizinische Anwendung wird als Reduktion der KbE der Prüforganismen in \log_{10} -Stufen angegeben. Für die Flächendesinfektion mit Mechanik im praxisnahen Versuch muss für den Nachweis einer bakteriziden Wirksamkeit eine $\geq 5\text{-log}_{10}$ -Reduktion der KbE des jeweiligen Testorganismus auf Testfeld 1 erreicht werden. Zusätzlich wird die Verteilung des Testorganismus auf der Testfläche betrachtet (Deutsches Institut für Normung, 2015). Die Wirksamkeitsanforderungen berücksichtigen die organische Belastung und die Ausgangskonzentration des Testorganismus. Eine besondere methodische Herausforderung bei der Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln im praxisnahen Versuch besteht darin, dass auf der Testfläche noch ausreichend viele Testorganismen nach der Antrocknung des Inokulums für die anschließende Wirksamkeitsprüfung vorhanden sein müssen. Die Prüfverfahren sind so angelegt, dass sie die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels unter Worst-Case-Bedingungen abbilden. Ungeachtet dessen ist es theoretisch möglich, dass Mikroorganismen auch nach durchgeführter Desinfektion auf den Oberflächen verbleiben können. Ziel ist es, die mikrobielle Erregerlast mit dem Desinfektionsmittel so weit zu reduzieren, dass sie keine Infektion mehr verursachen können (s. Kapitel 1.3.2 Desinfektion und Sterilisation). Neben der bestätigten Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels sind detaillierte Informationen für die richtige Anwendung von Flächendesinfektionsprodukten notwendig. Allerdings fehlen seitens der Hersteller in der Gebrauchsanweisung von Desinfektionsprodukten eindeutige Daten zur Größe der zu desinfizierenden Fläche. Eine Orientierung gibt die KRINKO-Empfehlung zur Flächendesinfektion: „Lediglich nelfeuchtes Wischen oder Feuchtreinigen führt nicht zu einer ausreichenden Benetzung. Für eine ausreichende Desinfektionswirkung muss genügend Wirkstoff auf die Fläche gelangen“ (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2004).

1.4.3 Auswahl der Testorganismen

Für die richtige Auswahl des Testorganismus sind Informationen zur Stabilität unter Versuchsbedingungen und dessen Repräsentativität für den jeweiligen Anwendungsbereich erforderlich. Wie in Kapitel 1.2.3 beschrieben, begünstigt Feuchtigkeit das Überleben Gram-negativer Bakterien, während eine trockene Umgebung für das Überleben Gram-

positiver Bakterien vorteilhaft ist (Pettit und Lowbury, 1968; Potts et al., 2005). Typische Vertreter, die bei nosokomialen Infektionen eine Rolle spielen und als Surrogat-Organismen bei der Wirksamkeitsprüfung von Flächendesinfektionsmitteln für die Gram-positiven und die Gram-negativen Bakterien verwendet werden, sind z. B. *S. aureus* und *E. hirae* sowie *E. coli* und *P. aeruginosa* (Deutsches Institut für Normung, 2019).

1.5 Antimikrobielle Wirkstoffe

In der humanmedizinischen Anwendung werden antimikrobielle Wirkstoffe in zwei Gruppen eingeteilt: Die Antiseptika und die Desinfektionsmittel (Abb. 5). Ein Unterscheidungskriterium ist der jeweilige Ort der Anwendung: Desinfektionsmittel werden auf unbelebten Oberflächen, Antiseptika hingegen auf menschlichem Gewebe (Haut, Schleimhaut oder auf Wunden) angewendet.

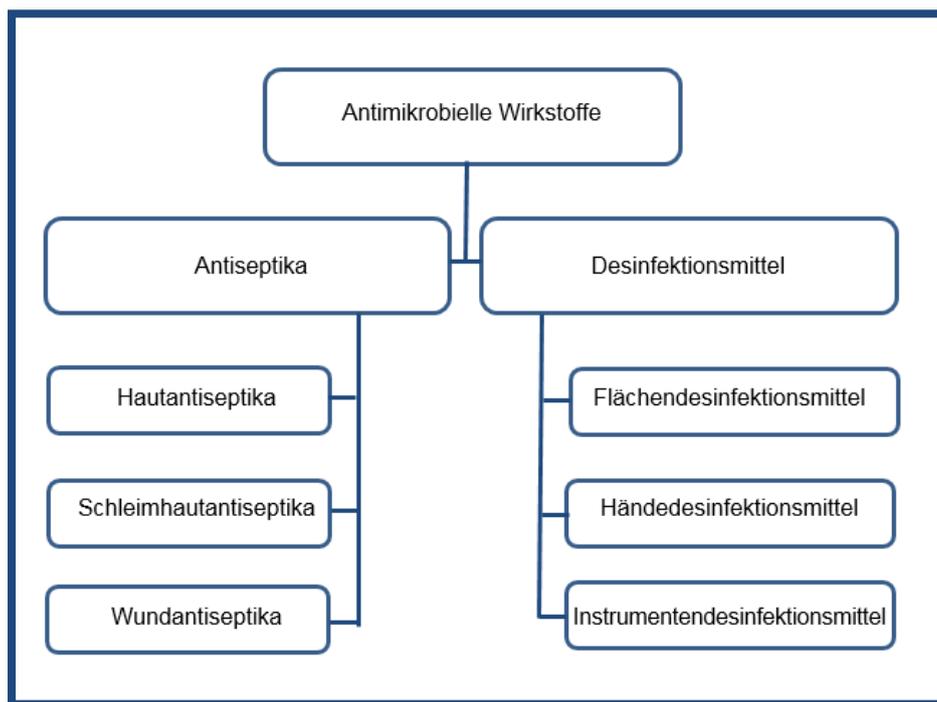


Abb. 5: Antimikrobielle Wirkstoffe (modifiziert nach Jatros, 2013).

Je nach seinem Einsatzgebiet kann also ein und derselbe Wirkstoff als Desinfektionsmittel oder als Antiseptikum fungieren. Eine Ausnahme stellen Händedesinfektionsmittel dar. Diese werden zwar auf der Haut eingesetzt, aber mit dem Begriff Desinfektionsmittel soll ausgedrückt werden, dass die Hände in der Medizin als Instrumente betrachtet werden. Desinfektionsmittel sind i. d. R. flüssige oder wässrige Zubereitungen, die aus antimikrobiellen Wirkstoffe und Hilfsstoffen zusammengesetzt sind. Die Wirkung eines Desinfektionsproduktes resultiert aus dem Zusammenwirken aller Inhaltsstoffe. Dies schließt die Beobachtung ein, dass die Hilfsstoffe (z.B. Duft-, Farbstoffe oder pH-Stabilisatoren) die antimikrobiellen Substanzen in ihrer Wirkung unterstützen können, obwohl sie selbst nicht antimikrobiell wirken (Knieler, 1997). Regulatorisch ist es bislang nicht gefordert, dass der Hersteller die Hilfsstoffe im Detail deklariert. Für die Wirksamkeitsprüfung kann dies problematisch sein, denn bei Veränderungen des bakteriziden Effekts eines bekannten Desinfektionsmittels kann nicht unterschieden werden, ob prozedurale Faktoren oder das Desinfektionsmittel selbst ursächlich für eine veränderte bakterizide Wirksamkeit sind. Zur Herstellung von Flächendesinfektionsmitteln werden verschiedene antimikrobielle Wirkstoffe eingesetzt, wobei Formulierungen aus Einzelsubstanzen dabei die Minderheit darstellen, weil die meisten Flächendesinfektionsmittel Kombinationen aus verschiedenen antimikrobiellen Substanzen beinhalten. Bei den in der Desinfektionsmittelliste des VAH gelisteten Flächendesinfektionsmitteln wurden folgende sechs häufige Grundstoffe gefunden: QAV, Alkohole, Alkylamine, Oxidantien, Aldehyde und Guanidine (Tab. 7), die nachfolgend beschrieben werden.

Tab. 7: Wirkstoffgruppen in Flächendesinfektionsmitteln der VAH-Liste

Wirkstoffgruppe	Anzahl
Quartäre Ammoniumverbindungen (QAV)	419
Alkohole	308
Alkylamine	79
Oxidantien	41
Aldehyde	25
Guanidine	23

Stand 6. Mai 2020 (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2020).

1.5.1 Alkohole

Für die Flächendesinfektion werden Ethanol, Propan-1-ol und Propan-2-ol (Isopropanol) einzeln oder in Kombination miteinander verwendet. Alkohole weisen ein breites Wirkungsspektrum auf: Es umfasst Bakterien, Pilze und Viren, allerdings wirken sie nicht gegen Bakteriensporen. Die mikrobizide Wirkung von Alkoholen basiert auf der Denaturierung der Proteine in der Zelle und ist abhängig von deren Kettenlänge und Konzentration (Kramer et al., 2008a). Nachteilig sind die hohen Anwendungskonzentrationen (Bakterizidie 60–80 % [w/w]) und die damit verbundene mögliche Entzündbarkeit der Lösungen (Kampf, 2018a). Vorteilhaft für die Anwendung alkoholischer Präparate sind die ausgelobten kurzen Einwirkzeiten und ihre rasche Verdunstung. Daher sind sie für den Einsatz der gezielten Desinfektion auf kleinen Flächen besonders geeignet. Darüber hinaus sind für Alkohole in der Literatur noch keine Resistenzen bei Bakterien oder Pilzen beschrieben worden (Kampf, 2018a). Für Propan-2-ol gibt es in der Literatur allerdings Hinweise auf tolerante Isolate von *Enterococcus faecium* (Pidot et al., 2018). In einer Vergleichsarbeit konnte jedoch aufgezeigt werden, dass bei ausreichendem Auftragsvolumen keine Toleranz gegenüber Propan-2-ol bei diesem Isolat mehr zu beobachten war (Gebel et al., 2019).

1.5.2 Aldehyde

Das Wirkungsspektrum von Aldehyden umfasst vegetative Bakterien, Mykobakterien, Pilze, Viren und Protozoen (Kramer et al., 2008b). Ihre Wirkungsweise beruht wie bei den Alkoholen auf der Denaturierung der Proteine. Vorteilhaft für die Anwendung von Aldehyden in der Flächendesinfektion ist deren hohe Materialverträglichkeit. Als nachteilig erweist sich ihre Eigenschaft, Eiweiße zu fixieren und Allergien auszulösen. Für Glutaraldehyd liegen Hinweise aus Studien vor, sich in der aquatischen Umwelt anzureichern (Leung, 2001). Jedoch gibt es bisher keine Studien, die über Veränderungen der bakteriziden Wirksamkeit oder über Resistenzen aufgrund der Exposition gegenüber geringen Konzentrationen von Glutaraldehyd berichten (Kampf, 2018a).

1.5.3 Guanidine

Guanidine sind wirksam gegen vegetative Bakterien, Mykobakterien, Pilze und Viren. Ein häufig verwendeter Vertreter dieser Stoffgruppe ist Polyhexanid, welches auch in Flächendesinfektionsmitteln eingesetzt wird. Der Wirkmechanismus von Polyhexanid beruht auf der Zerstörung der Zellmembran (Kampf, 2018a; Wessels et al., 2013). Neben der Verwendung in Flächendesinfektionsmitteln wird Polyhexanid vor allem in der Antiseptik bei schlecht heilenden Wunden eingesetzt. Bei der Verwendung als Desinfektionsmittel ist die zehrende Wirkung des zu desinfizierenden Materials zu bedenken. Ein weltweites Ausbruchsgeschehen von *Fusarium keratitis* im Zusammenhang mit Polyhexanid-haltigen Desinfektionsmitteln für Kontaktlinsen konnte durch das Kontaktlinsenmaterial erklärt werden, welches bis zu 60% des Polyhexanids binden konnte. Dieser Effekt resultierte in einer verminderten antimikrobiellen Aktivität des Wirkstoffs (Epstein, 2007). Resistenzmechanismen gegenüber Polyhexanid sind nach derzeitigem Kenntnisstand in der Literatur bisher nicht beschrieben (Kampf, 2018a, Kramer et al., 2019).

1.5.4 Oxidantien

Oxidantien sind sauerstoffreiche Verbindungen, die Sauerstoffradikale bilden. Die mikrobiozide Wirkung beruht auf der Erzeugung von durch die Sauerstoffradikale ausgelösten Oxidationsvorgängen an Zellen (Kramer et al. 2008c). Auf diese Weise schädigen die Oxidantien verschiedene Zellstrukturen in Mikroorganismen. Dazu zählen insbesondere Zellwand- und Zellmembranbestandteile wie z.B. Membranproteine und die Phospholipidschichten. Die Wirkstoffklasse der Oxidantien umfasst Ozon, Peroxide und Peroxid-carbonsäuren, Halogenverbindungen, Iod und Kaliumpermanganat. In der Flächendesinfektion werden Peroxide, Peroxycarbonsäuren und Halogenverbindungen verwendet. Ein Vorteil der Oxidantien ist ihr breites Wirkungsspektrum, welches auch die Entfernung von Biofilm umfasst (Kampf, 2018a). Für 5%ige Wasserstoffperoxidlösung konnte gezeigt werden, dass bei einer Einwirkzeit von 1 h der Biofilm von *P. aeruginosa* bis zu 85 % entfernt werden konnte (Kampf, 2018a). Nachteilig für die Anwendung ist die korrodierende Wirkung von Oxidantien auf empfindlichen Oberflächen.

1.5.5 Quartäre Ammoniumverbindungen (QAV)

QAV sind organische Derivate des Ammoniaks und verfügen über einen hydrophoben (unpolaren) Alkylteil und eine hydrophile (polare) funktionelle Gruppe. Aufgrund dieser Struktur können sie Fette in Wasser solubilisieren und hydrophobe Oberflächen benetzen, was sie für die praktische Anwendung besonders attraktiv macht. Angriffsorte der QAV sind bakterielle Zellwand- und die Zellmembranstrukturen, was im Ergebnis zur Zerstörung der Zellwand führt (Denyer, 1995, Wessels et al., 2013). Für QAV gibt es vielfältige Anwendungsgebiete. Dazu zählen Pflanzenschutzmittel, Weichspüler, Reiniger, Pflege- und Kosmetikprodukte, Farben und Lacke sowie Produkte der Human- und Veterinärmedizin (Buffet-Bataillon et al., 2012). Mittlerweile enthalten auch zahlreiche Reinigungs- und Desinfektionsmittel für den Privathaushalt QAV (Buffet-Batallion et al., 2012). In Kläranlagen werden QAV nur schlecht eliminiert und gelangen dann in Folge in erheblichen Mengen in Oberflächengewässer (Gans et al., 2005). Derzeit werden daher fachübergreifend Bedenken laut, dass der übermäßige Gebrauch von QAV nicht abschätzbare Auswirkungen auf die Umwelt haben könnte (Holdsworth und Law, 2013; Nishihara et al., 2000). Seit Anfang der 1960er Jahre werden QAV auch als Herbizide angewendet und zählen inzwischen weltweit zu den am häufigsten eingesetzten Pflanzenschutzmitteln. In der Folge reichern sich QAV im Boden und im Oberflächenwasser an, mit ungeklärten Folgen für die Mikrofauna (Pareiro-Muore et al., 2013). QAV besitzen gegenüber Gram-negativen Bakterien eine geringere Wirksamkeit als gegenüber Gram-positiven Bakterien und sind gegen Mykobakterien unwirksam (Widulle et al., 2008). Gram-positive Bakterien werden bei QAV-Konzentrationen von 50–100 µg/ml inaktiviert; Gram-negative Bakterien erst bei einer Konzentration von 100–200 µg/ml (Kramer et al., 2008).

Im Kontext präventiver Hygienemaßnahmen im Gesundheitswesen wird die Gefahr einer möglichen Toleranzentwicklung gegenüber QAV-haltigen Flächendesinfektionsmitteln bei Gram-negativen Bakterien diskutiert (Kampf, 2018b; Langsrud et al., 2003b; Soumet et al., 2016). Häufig verwendete Einzelstoffe bei den QAV sind Didecyl-Dimethyl-Ammoniumchlorid (DDAC) und Alkyl-Dimethyl-Benzyl-Ammoniumchlorid (ADBAC). Für beide Substanzen belegen Untersuchungen eine Toleranz bei *P. aeruginosa* und anderen Gram-negativen Spezies nach subletaler Exposition (Nasr et al., 2018; Soumet et al., 2016). Es wurde auch über Ausbruchsgeschehen berichtet, die durch Kontaminationen von DDAC-Lösungen mit Gram-negativen Bakterien (*Acinetobacter xylosoxidans* und

Pseudomonas fluorescens) (Kampf 2018a) verursacht wurden. Nakashima et al. (1987) berichteten über eine Infektionsserie durch einen *Serratia marcescens* Stamm, der Benzalkoniumchlorid getränkte Wattetupfer besiedelt hatte. Daher stellt sich die Frage, ob *P. aeruginosa* weiterhin als Standardtestorganismus für Gram-negative Bakterien bei der Wirksamkeitsprüfung von Flächendesinfektionsmitteln verwendet werden sollte und ob bei Isolaten dieser Spezies aus dem Klinikumfeld eine verringerte Wirksamkeit von DDAC und ADBAC zu erwarten ist.

1.5.6 Alkylamine

Alkylamine zählen wie die QAV zur Stoffgruppe der oberflächenaktiven Verbindungen. Sie zeichnen sich durch ein breites Wirkungsspektrum und raschen Wirkeintritt aus (Widulle et al., 2008). Aufgrund der Eigenschaften Materialverträglichkeit, Reinigungswirkung und Schaumbildung werden sie für Flächen-desinfektionsmittel eingesetzt. Als nachteilig wird vor allem der unangenehme Geruch angesehen.

1.6 Zielsetzung

Seit Juni 2015 liegt der 4-Felder Test als europäische Norm DIN EN 16615 (Deutsches Institut für Normung, 2015) und als VAH-Methode 14.2 (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015) vor. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Fragestellungen zur Wirksamkeitsprüfung und sicheren Anwendung von Desinfektionsprodukten experimentell untersucht.

1.6.1 Vergleich von 4-Felder Test und Wiperator-Methode

Für die Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionswischtüchern existiert neben dem 4-Felder Test auch die auf dem US-Markt etablierte Wiperator-Methode (ASTM Standard E2967-15; American Society for Testing and Materials, 2015). Beide Verfahren zeigen in der Anwendung erhebliche Unterschiede (s. Kap. 1.4.1). In der vorliegenden Dissertation wurden mit beiden Methoden Wirksamkeitsuntersuchungen durchgeführt, um zu evaluieren, ob es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen beider Methoden gibt. Schließlich wurde überprüft, ob die erhobenen Daten eine Aussage darüber zulassen, welche Methode zu favorisieren ist.

1.6.2 Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche mit dem 4-Felder Test

In den Gebrauchsanweisungen von Desinfektionstüchern fehlen Angaben zur Größe der zu desinfizierenden Fläche. Ziel dieser Fragestellung war es zu klären, ob die Flächen-größe einen signifikanten Einfluss auf die \log_{10} -Reduktion der KbE des gewählten Testorganismus bei Anwendung dieser Tücher hat. Dazu wurde die bakterizide Wirksamkeit von Desinfektionstüchern auf verschiedenen großen Oberflächen mit dem 4-Felder Test überprüft. Zusätzlich wurde evaluiert, ob sich ein sichtbarer intakter und sattnasser Benetzungsfilm auf der Oberfläche gemäß der KRINKO-Empfehlung (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2004) als Indikator für eine ausreichende bakterizide Wirksamkeit eignet.

1.6.3 Wirksamkeitsprüfung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte und einer Einzelsubstanz gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten im quantitativen Suspensionsversuch

Die bakterizide Wirksamkeit eines Desinfektionsverfahrens muss nach europäischen Anforderungen *in vitro* und unter Praxisbedingungen nachgewiesen werden (Deutsches Institut für Normung, 2019). Diese Prüfungen werden mit Surrogat-Organismen durchgeführt, die als repräsentative Vertreter einer Gruppe humanpathogener Mikroorganismen gelten. In der aktuellen Literatur werden Kreuzresistenzen multiresistenter Gram-negativer Bakterien gegenüber QAV-basierten Desinfektionsmitteln nicht ausgeschlossen. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob sich der Testorganismus *P. aeruginosa* (DSM 939) weiterhin als Surrogat für die Desinfektionsmittelprüfung eignet. Hierfür wurde *P. aeruginosa* (DSM 939) vergleichend gegenüber klinisch relevanten Gram-negativen Bakterien aus der Stammsammlung (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*), zwei Krankenhausumweltisolaten von *P. aeruginosa* mit 4MRGN und einem panresistenten *K. pneumoniae*-Patientenisolat im quantitativen Suspensionsversuch in Gegenwart von Desinfektionsprodukten untersucht. Für diesen Vergleich wurden drei kommerziell erhältliche QAV-basierte Flächendesinfektionsmittel und eine Einzelsubstanz verwendet. Die Untersuchungen mit der Einzelsubstanz hatten zusätzlich die Betrachtung der Frage zum Ziel, ob sich diese als Referenzsubstanz im Rahmen der Desinfektionsmittelprüfung eignen könnte.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Laborausstattung

Die verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 8 gelistet.

Tab. 8: Geräte und Materialien

Gerät	Spezifikation	Hersteller
Analysewaage	770-60	Kern
	BP21005	Sartorius
Abstrichtupfer, steril	Baumwolle, Nr. 2017121	Labormedic
Brutschrank (37 ± 1) °C	B 6420	Heraeus
Einmalmembranfilter aus Cellulose-Mischester	Durchmesser: 13–47/50 mm Porenweite: 0,2 µm	Millipore
Filtrationstrichter mit Silikonstopfen	Sterifil 250 Filterhalter	Millipore
Glasperlen	Durchmesser 3–4 mm	Roth
Glasspatel	rechteckig mit ca. 4 cm Kantenlänge	
Granitblock	l: 12,5 cm, b: 8,6 cm h: 8,6 cm m: 2,3–2,5 kg	VAH
Heißluftsterilisator	MSG TFM BGVA3	Memmert
Kühlschrank (2–8 °C)	Kirsch Super	Kirsch
MacFarland PMS Turbidity Standard	Trübungsstandard zur Herstellung standardisierter Bakteriensuspensionen	Bioanalytic GmbH
Magnetrührer mit Heizfunktion	MR 2002	Heidolph
Petrischalen-Drehtisch	Pertritum-Eplus	Schütt

Gerät	Spezifikation	Hersteller
pH-Meter	InoLab pH Level 2 bei 25 °C kalibriert auf $\pm 0,1$ Einheiten	WTW
Schüttelwasserbad	SWB 20	Medingen
Spritzenvorsatzfilter, steril aus Celluloseacetat	Porenweite 0,2 μl , Puradisc FP 30 30/0.2 CA-S	Whatman
Sterilwerkbank	Class II Type A/B3	SerilGard
Stoppuhr	TR 118	Dregon Scientific
Temperatur-Feuchtemess- gerät	P330	Carl-Roth-GmbH
Vakuumpumpe	ME 2C; 1,7 m ³ /h	VacuuBrand
Vortexer	Vortexer Genie-2	Scientific Industry
Ultraschallbad	Bandolin	Sonorex
Wasserbad	WNB 7-45	Memmert
Wiperator inklusive Zubehör	---	Filtaflex Ltd
Zentrifuge (800 gN)	Tischzentrifuge 5415C	Eppendorf

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Die Verbrauchsmaterialien (z. B. Filter, Impfösen, Messkolben, Messpipetten, Parafilm, Petrischalen, Pipettenspitzen, Reaktionsgefäße, Spritzen) wurden von folgenden Firmen bezogen: Brand GmbH + CO KG (Wertheim), Eppendorf Deutschland GmbH (Wesseling), GE-Healthcare (Solingen), (Greiner Bio-One GmbH (Frickenhausen), Merck Chemicals GmbH (Schwalbach), Oxoid Deutschland GmbH (Wesel) und Whatman GmbH (Dassel).

2.1.3 Wasser

Soweit nicht anders angegeben, wurde demineralisiertes Wasser aus der Reinstwasser-Anlage des Instituts für Hygiene und Öffentliche Gesundheit des Universitätsklinikums Bonn verwendet.

2.1.4 Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien sind in Tabelle 9 gelistet.

Tab. 9: Chemikalien

Chemikalie	Summenformel	Hersteller
Agar-Agar	-	Merck
Calciumchlorid	CaCl ₂	Merck
L-Cystein	C ₃ H ₇ NO ₂ S	Sigma
Ethanol (absolut)	C ₂ H ₅ OH	Merck
Glycerol	C ₃ H ₈ O ₃	Roth
L-Histidin	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	Sigma
Kaliumdihydrogenphosphat	KH ₂ PO ₄	Merck
Magnesiumchlorid	MgCl ₂	Merck
Natriumchlorid	NaCl	Merck
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO ₃	Merck
Natriumhydroxid	NaOH	Merck
Natriumthiosulfat	Na ₂ O ₃ S ₂	Merck
2-Propanol (Iso-Propanol)	C ₃ H ₈ O	Merck
Rinderserumalbumin (BSA)	---	Serva
Salzsäure	HCl	Merck
Schaferythrozyten-Lösung	Best. Nr. 301500-50	Elocin-Lab
Trypton	---	Beckton-Dickinson
Tween 80 (Polysorbat 80)	---	Merck

2.1.5 Puffer und Lösungen

Zur pH-Werteinstellung der Puffer und Lösungen wurde NaOH (1 N) oder HCl (1 N) verwendet.

NaCl-Lösung 0,9 % mit Trypton (allgemeines Verdünnungsmittel)

Natriumchlorid	8,5 g
Trypton	1,0 g
H ₂ O	ad 1,0 l
pH	7,0 ± 0,2

Die Lösung wurde im Autoklaven sterilisiert.

NaCl-Lösung 0,9 % mit Trypton und Glycerol

(Verdünnungsmittel zur Herstellung der Prüfsuspension von *P. aeruginosa*)

Natriumchlorid	8,5 g
Trypton	1,0 g
Glycerol	2,0 g
H ₂ O	ad 1,0 l
pH	7,0 ± 0,2

Die Lösung wurde im Autoklaven sterilisiert.

Phosphatpuffer (0,25 mol/l)

KH ₂ PO ₄	34,0 g
H ₂ O	ad 1,0 l
pH 7,2 ± 0,2	

Wasser Standardisierter Härte (WSH)

Lösung A	6 ml
Lösung B	8 ml
H ₂ O	ad 1,0 l
pH	7,0 ± 0,2

Die Herstellung erfolgte gemäß VAH-Methodenbuch 2015 (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015). Die Lösung wurde bei 2–8 °C maximal einen Versuchstag lang aufbewahrt. Die Endhärte sollte 375 ppm berechnet auf Calciumcarbonat betragen. Bei der Verwendung von WSH für Wischvorgänge wurde vor Einstellung des pH-Werts 1 ml Tween 80 zugefügt.

Lösung A

MgCl ₂	19,84 g
CaCl ₂	46,24 g
H ₂ O	ad 1,0 l

Lösung A wurde für 20 min bei 121 °C autoklaviert und maximal vier Wochen bei 2–8 °C aufbewahrt.

Lösung B

NaHCO ₃	32,02 g
H ₂ O	ad 1,0 l

Lösung B wurde durch einen sterilen Spritzenvorsatzfilter der Porengröße 0,2 µm filtriert und bei 2–8 °C maximal sieben Tage aufbewahrt.

2.1.6 Nährmedien und Nährböden

Casein-Sojamehlpepton-Bouillon (CSB; Syn. TSB), Zusammensetzung pro Liter

Caseinpepton	17,00 g
Sojamehlpepton	3,00 g
NaCl	5,00 g
K ₂ HPO ₄	2,50 g
pH 7,3 ± 0,2	

Das Nährmedium wurde nach Herstellerangaben (Fa. Merck) mit demineralisiertem Wasser auf einen Liter aufgefüllt und bei 121 °C für 20 min autoklaviert.

Casein-Sojamehlpepton-Agar (CSB; Syn. TSB), Zusammensetzung pro Liter

Caseinpepton	15,00 g
Sojamehlpepton	5,00 g
NaCl	5,00 g
Agar	15,00 g
pH 7,2 ± 0,2	

Gebrauchsfertige Nährböden (Casein-Sojamehlpepton-Agar) wurden von der Firma Oxoid bezogen und bei 4–6 °C maximal vier Wochen gelagert.

2.1.7 Neutralisatoren

Um die verbleibende antimikrobielle Wirkung der Desinfektionsprodukte nach der Einwirkzeit aufzuheben, wurden die in Tabelle 10 aufgelisteten Neutralisatoren verwendet.

Tab. 10: Neutralisatoren

Neutralisator	Zusammensetzung
TSL	Polysorbat 80 10 g/l, Saponin 30 g/l, Lecithin 3 g/l, Verdünnungsmittel ad 1000 ml
TSHC	Polysorbat 80 30 g/l, Saponin 30 g/l, L-Histidin 0,1 g/l, Cystein 1 g/l, Verdünnungsmittel ad 1000 ml

Die Neutralisation erfolgte bei den Versuchen zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (Kap. 2.3.2) in doppelt konzentrierter Nährbouillon durch Zugabe von demineralisiertem Wasser und 30g/l CSB anstelle von Verdünnungsmittel. Die Lösung wurde für 15 min bei 121 °C dampfsterilisiert und bei 20 °C auf pH 7,2 ± 0,2 eingestellt. Bei 2 – 8 °C waren die Lösungen bis zu sechs Wochen lagerfähig. Für die Desinfektionsprodukte F-A, F-B, F-C, F-H, rtu-QAV-Liquid, DDAC und rtu-QAV wurde TSHC als Neutralisator verwendet. Für Produkt rtu-Alkohol wurde TSL als Neutralisator verwendet.

2.1.8 Organische Belastung

Geringe organische Belastung: Für die Prüfbedingung geringe organische Belastung wurde der Prüfsuspension maximal 2 h vor der Prüfung eine finale Konzentration von 0,03 % BSA zugesetzt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015). Dazu wurde eine 0,3 % BSA-Stammlösung hergestellt, die nach Sterilfiltration (Porengröße 0,2 µm) für vier Wochen bei 2–8 °C lagerfähig war.

Hohe organische Belastung: Die finale Konzentration für die Prüfbedingung hohe organische Belastung betrug 0,3 % BSA + 0,3 % Schaferythrozyten. Gemäß VAH-Methodenbuch (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015) wurde dazu eine 3 % BSA-Lösung hergestellt (3,0 g BSA in 97 ml allgemeinem Verdünnungsmittel sterilfiltriert (Porengröße 0,2 µm). Für einen 10 ml Ansatz wurden 9,4 ml der 3 % BSA-Lösung mit 600 µl einer 50 % Schaferythrozyten-Lösung (kommerziell erhältlich) versetzt und sofort verwendet.

2.1.9 Desinfektionsprodukte

Die verwendeten Flächendesinfektionsmittel (Tab. 11) und gebrauchsfertigen Desinfektionstücher (Tab. 12) waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen in der Desinfektionsmittelliste des VAH aufgeführt, ausgenommen das DDAC-Laborherstellung. (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2017). Alle Desinfektionsmittellösungen wurden für die Untersuchungen frisch angesetzt. Bei dem Produkt DDAC-Laborherstellung handelt es sich nicht um eine gebrauchsfertige Desinfektionsmittellösung, sondern um die Eigenherstellung aus der Einzelsubstanz Didecyldimethylammoniumchlorid.

Tab. 11: Lösungen für Flächendesinfektionsmittel

Produkt	CAS-Nr.*	Inhaltsstoffe in 100 g	Hersteller
F-A	7173-51-5	2,45 g DDAC < 5 % nicht-ionische Tenside	Tana-Chemie, Mainz
F-B	68424-85-1	16 g ADBAC	Dr. Schuhma- cher, Malsfeld
F-C	7173-51-5	3,33 g DDAC	Dr. Schuhma- cher, Malsfeld
	68424-85-1	6,66 g ADBAC < 5 % nicht-ionische Tenside	
F-H	7173-51-5	6,0 g DDAC	B. Braun, Melsungen
	2372-82-9	5,5 g N-(3-Aminopropyl)-N- dodecylpropan-1,3-Diamin	
Rtu-QAV- Liquid	7173-51-5	0,26 g DDAC	Schülke & Mayr, Norderstedt
	68424-85-1	0,26 g ADBAC	
	85409-23-0	0,26 g Alkyldimethyl(ethylbenzyl)- Ammoniumchlorid	
DDAC- Laborher- stellung	7173-51-5	DDAC, 50%ige Lösung in 2-Propanol/Wasser 2:3	Merck KG, Darmstadt

*CAS: Chemical Abstract Service, Nummer ermittelt aus der Datenbank für Biozidprodukte (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 2020), ADBAC: Alkyl-Dimethylbenzylammoniumchlorid, DDAC: Didecyldimethylammoniumchlorid.

Tab. 12: Gebrauchsfertige Desinfektionstücher (rtu-Wipes)

Produkt	CAS-Nr.*	Inhaltsstoffe in 100 g	Hersteller
Rtu-Alkohol	67-63-0	30,0 g Propan-2-ol	Schülke & Mayr, Norderstedt
	71-23-8	30,0 g Propan-1-ol	
Rtu-QAV	68424-85-1	0,26 g ADBAC	Schülke & Mayr, Norderstedt
	7173-51-5	0,26 g DDAC	
	85409-23-0	0,26 g ADBAC	

*CAS: Chemical Abstract Service, Nummer ermittelt aus der Datenbank für Biozidprodukte (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 2020), ADBAC: Alkyl-Dimethyl-Benzyl-Ammoniumchlorid, DDAC: Didecyl-Dimethyl-Ammoniumchlorid, Angaben zu den Tuchmaterialien der rtu-Wipes waren nicht verfügbar.

2.1.10 Material der Testflächen

Die Materialien der verwendeten Testflächen sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tab. 13: Testflächen

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
Edelstahlplättchen, rund, gestanzt, wiederverwendbar	Dicke: 0,74 mm, Ø: 10 mm Gewicht: 45 mg	Filtaflex Ltd, Almonte Ontario, Canada
Linoleum*	Dicke: 3 mm Maße: 20 cm x 50 cm	Lotter + Liebherr GmbH, Bonn
Polyvinylchlorid (PVC) mit Polyurethan-Oberflächenbeschichtung	Dicke: 2 mm, Maße: 20 cm x 50 cm	Lotter + Liebherr GmbH, Bonn

*Linoleum wurde ausschließlich für Untersuchungen zur Flächenleistung beim 4-Felder Test verwendet, war danach nicht mehr verfügbar und wurde durch PVC ersetzt.

2.1.11 Standard-Wischtücher

Die Standardtücher (Tab. 14) wurden mit den Desinfektionsmittel-Prüflösungen bzw. mit WSH getränkt. Bei dem SCA-Tuch handelt es sich um das Standardtuch für den 4-Felder Test und beim J-Cloth um das Standardtuch für die Wiperator-Methode.

Tab. 14: Standard-Wischtücher

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
SCA-Tuch	Tuchmaterial: 55 % Zellstoff, 45 % Polyethylenterephtalat (PET)	Fa. SCA TORK (Mannheim)
J-Cloth	Tuchmaterial: Viskose	Johnson & Johnson (E.D. Smith Foods, Ltd. Ontario Canada)

2.1.12 Bakterienstämme

Die verwendeten Bakterienstämme sind in Tabelle 15 gelistet.

Tab. 15: Bakterienstämme

Spezies	Spezifikation	Quelle
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19568	American Type Culture Collection
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DSMZ 30104	DSMZ, 38724 Braunschweig
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kp PAN (Patientenisolat)**	AG Dr. Schmitthausen UKB Bonn
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSMZ 939	DSMZ, 38724 Braunschweig
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UKB 0224 Umweltisolat* 4MRGN**	AG Prof. Bierbaum, UKB Bonn
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UKB 1052 Umweltisolat* 4MRGN**	AG Prof. Bierbaum, UKB Bonn
<i>Serratia marcescens</i>	DSMZ 30121	DSMZ, 38724 Braunschweig
<i>Staphylococcus aureus</i>	DSMZ 799	DSMZ, 38724 Braunschweig

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, *Umweltisolate aus dem Universitätsklinikum (UKB) Bonn, 4MRGN (Erreger, die gegenüber den vier wichtigsten Antibiotika-Gruppen (Acylureidopenicilline, Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Carbapeneme und Fluorochinolone) resistent sind (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2012), **Colistin-sensibel.

2.2 Stammkultur, Lagerung und Kultivierung der Prüforganismen

Die Stammhaltung und Lagerung der Prüforganismen erfolgte in Anlehnung an das VAH-Methodenbuch (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015) und die EN 12353 (Deutsches Institut für Normung, 2016).

2.2.1 Herstellung von Gebrauchskultur und Bakterien-Prüfsuspension

Die Gebrauchskultur wurde nach den Vorgaben des VAH-Methodenbuchs angelegt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015). Von der Stammkultur wurde zunächst eine Subkultur angelegt. Nach 20–24 h Inkubation bei 37 ± 1 °C wurde von dieser Subkultur eine zweite Subkultur angelegt. Als Gebrauchskulturen wurden ausschließlich zweite Subkulturen verwendet.

Zur Herstellung der Bakterien-Prüfsuspension wurde der Bakterienrasen mit 10 ml allgemeinem Verdünnungsmittel vom Nährboden der Gebrauchskultur abgelöst, in ein Röhrchen mit 5–10 Glasperlen überführt und auf dem Vortexer suspendiert. Anschließend wurde die Suspension mit allgemeinem Verdünnungsmittel auf die geforderte Ausgangskonzentration von $1,5\text{--}5 \times 10^8$ KbE/ml oder $1,5\text{--}5 \times 10^9$ KbE/ml eingestellt. Dazu wurde die Trübung der Bakterien-Prüfsuspension visuell mit dem McFarland-Turbidity Standard verglichen (Bioanalytic, 2019). Die Bakterien-Prüfsuspension wurde bis zur Verwendung (innerhalb von 2 h) im Wasserbad bei 20 °C aufbewahrt.

2.2.2 Bestimmung der Lebendzellzahl in der Bakterien-Prüfsuspension

Zur Bestimmung der Ausgangszellzahl wurde die Bakterien-Prüfsuspension mit dem allgemeinen Verdünnungsmittel auf 10^3 und 10^2 KbE/ml verdünnt. Von den Verdünnungen wurden jeweils zwei 0,1 ml-Proben entnommen und auf TSA-Nährböden ausgestrichen. Nach Inkubation bei 37 ± 1 °C für 20–24 h wurden die Kolonien ausgezählt. Danach wurden diejenigen Platten nochmals für 20–24 h inkubiert. Bei der erneuten Auszählung wurden nur die Platten berücksichtigt, die neu gewachsene Einzelkolonien zeigten. Bei abweichenden Koloniezahlen wurde der höhere Wert für die Auswertung verwendet.

Bei einer erwarteten geringen Zelldichte wurde die Membranfiltertechnik angewendet. Die Bakteriensuspension wurde mittels Vakuumfiltrationspumpe durch einen Einmal-Membranfilter gesaugt. Anschließend wurde der Filter auf eine Nährbodenplatte gelegt und bei $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 20–24 h inkubiert. Danach wurden die KbE ausgezählt.

2.3 Methoden zur Überprüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten

Die Durchführung dieser Methoden erfolgte gemäß VAH-Methodenbuch (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015)

2.3.1 Herstellung der Desinfektionsmittel-Prüflösungen

Zur Herstellung der Desinfektionsmittel-Prüflösungen wurden die Desinfektionsmittel-Konzentrate vor jedem Versuch mit Wasser Standardisierter Härte (WSH) bis zur gewünschten Konzentration verdünnt. Im Phase 2, Stufe 1 Test musste die Konzentration der Produktprüflösung um den Faktor 1,25 höher liegen als die zu testende Prüfkonzentration, weil es versuchsbedingt durch die Zugabe von Belastung und Testorganismen zu einer Verdünnung kommt, die durch diesen Faktor berücksichtigt wird. In den Phase 2, Stufe 2-Tests wurden die Produktprüflösungen ohne Berücksichtigung des Faktors angesetzt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

2.3.2 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC)

Dieses Testverfahren diente zur Ermittlung des minimal wirksamen Konzentrationsbereichs von Desinfektionsmittel-Prüflösungen. Die Durchführung erfolgte in Anlehnung an Methode 7 des VAH-Methodenbuchs (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

Versuchsansatz: Die Bakterien-Prüfsuspension wurde auf $1,5\text{--}5 \times 10^8$ KbE/ml eingestellt und anschließend auf 1:10 verdünnt. Jeweils 2,5 ml doppelt konzentrierte Desinfektionsmittel-Prüflösung und doppelt konzentriertes CSB-Nährmedium wurden in einem Reagenzröhrchen gemischt, mit 50 μl der 1:10 verdünnten Bakterien-Prüfsuspension beimpft und für 24–48 h bei $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert. Die Auswertung erfolgte qualitativ: Das Wachstum der Testorganismen wurde anhand der sichtbaren Trübung beurteilt. Die minimale Hemmkonzentration entsprach der Konzentration der Desinfektionsmittel-Prüflösung, bei der keine sichtbare Trübung des Versuchsansatzes mehr erkennbar war.

WSH-Kontrolle: Hierfür wurde im Versuchsansatz das Desinfektionsmittel durch WSH ersetzt.

Trübungskontrolle: Zur Ermittlung einer potenziellen Trübung durch die Reaktion der Desinfektionsmittel-Prüflösung mit der Nährbouillon wurde der Versuchsansatz mit 50 µl WSH anstelle der Bakterien-Prüfsuspension versetzt.

2.3.3 Quantitativer Suspensionsversuch

Diese Methode, die gemäß der VAH-Methode 9 durchgeführt wurde (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015), entspricht der DIN EN 13727 (Deutsches Institut für Normung, 2014). Für die Ausgangskonzentration N der hier verwendeten Prüforganismen gilt folgender Grenzwert:

N liegt zwischen $1,5-5 \times 10^8$ KbE/ml

Versuchsansatz: 4,0 ml Desinfektionsmittel-Prüflösung wurden mit 0,5 ml hoher organische Belastungssubstanz vermischt. Anschließend wurden 0,5 ml Bakterien-Prüfsuspension zugefügt. Nach Ende der Einwirkzeit (EWZ) wurden 0,5 ml des Versuchsansatzes in ein Röhrchen mit 4,5 ml Neutralisationsmittel überführt und auf 10^{-1} bzw. 10^{-2} verdünnt. Nach $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ Neutralisationszeit wurden vom Versuchsansatz je $2 \times 0,5 \text{ ml}$ und $1 \times 0,1 \text{ ml}$ sowie von der 10^{-1} - und 10^{-2} -Verdünnung jeweils $1 \times 0,1 \text{ ml}$ ausplattiert und bebrütet.

WSH-Kontrolle: Hierfür wurde statt der Desinfektionsmittel-Prüflösungen WSH verwendet; die Durchführung entsprach der obigen Beschreibung. Nach der Neutralisation wurden aus den Verdünnungsstufen 10^{-3} und 10^{-4} des Versuchsansatzes jeweils 0,1 ml entnommen, auf geeignetem Nährmedium ausplattiert und inkubiert.

Die Neutralisationskontrolle diente der Überprüfung der Wirksamkeit des Neutralisationsmittels. Verwendet wurde die höchste im Versuch eingesetzte Konzentration der Desinfektionsmittel-Prüflösungen. Die Versuchsansätze bestanden aus 4,5 ml Neutralisationsmittel und 0,5 ml Desinfektionsmittel-Prüflösung. Nach der Neutralisationszeit (10 s bei Desinfektionsprodukten mit einer EWZ $\leq 10 \text{ min}$ bzw. $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ bei EWZ $\geq 10 \text{ min}$) wurde der Versuchsansatz mit 0,05 ml der 10^{-3} -Verdünnung der Bakterien-

Prüfsuspension beimpft. Nach der Neutralisationszeit wurden aus dem Direktansatz sowie aus den Verdünnungsstufen 10^{-1} und 10^{-2} jeweils 0,5 ml und 0,1 ml entnommen, ausplattiert und bebrütet.

Für die Toxizitätskontrolle des Neutralisationsmittels wurde statt der Desinfektionsmittel-Prüflösung WSH verwendet. Die Durchführung entsprach dem Vorgehen bei der Neutralisationskontrolle.

Auswertung: Die Berechnung der \log_{10} -Reduktion der Prüforganismen erfolgte mit folgender Formel:

$$\log_{10}\text{-Reduktion} = \log_{10} (\text{KbE}_{\text{WSH}}) - \log_{10} (\text{KbE}_{\text{D}})$$

KbE_{WSH} : Anzahl der KbE/ml ohne Einwirkung des Desinfektionsmittels (WSH-Kontrolle).

KbE_{D} : Anzahl der KbE/ml nach Einwirkung des Desinfektionsmittels.

Für ein bakterizid wirksames Desinfektionsmittel für die Flächendesinfektion sollte die Reduktion des Testorganismus in Gegenwart niedriger und hoher organischer Belastung ≥ 5 \log_{10} -Stufen betragen (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

2.3.4 4-Felder Test

Mit dem 4-Felder Test kann die Wirksamkeit bakterizider, levurozider, tuberkulozider und mykobakterizider Flächendesinfektionsmittel, die mit Hilfe von Tüchern auf nicht-porösen Oberflächen aufgetragen werden, überprüft werden. Das Verfahren entspricht auf europäischer und nationaler Ebene der EN 16615 Norm (Deutsches Institut für Normung, 2015) und beim VAH der Methode 14.2 (Desinfektionsmittelkommission im VAH, 2015). Die Äquivalenz der VAH-Methode 14.2 mit der DIN EN 16615 wurde durch die Desinfektionsmittelkommission des VAH bestätigt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2016). In Abbildung 6 ist der 4-Felder Test schematisch dargestellt.

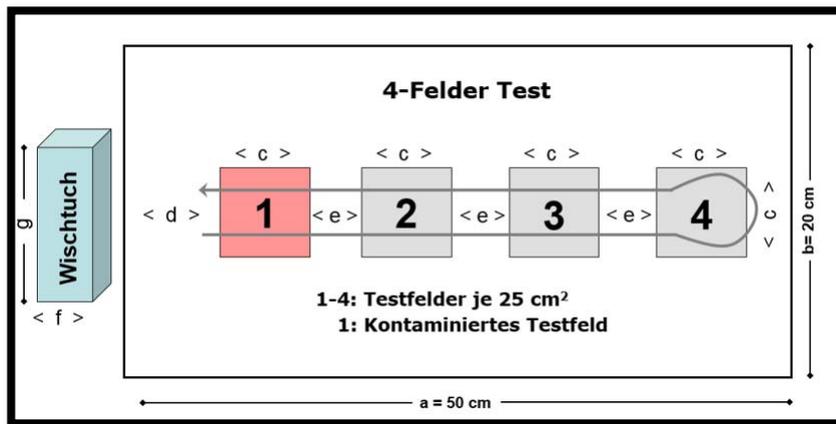


Abb. 6: Schematische Darstellung des 4-Felder Tests

Testfläche mit 4 Testfeldern (5 x 5 cm) und Wischstrecke des Wischtuches: a = 50 cm, b = 20 cm, c = 5 cm, d = 10 cm, e = 5 cm, Abmessung Granitblock: f x g 8,6 cm x 12,1 cm; Verlauf der Wischstrecke über die Testfelder 1–4 mit Wendepunkt nach Testfeld 4, Testfeld 1 wurde mit 50 µl Bakterien-Prüfsuspension kontaminiert, die überfahrene Testfläche entsprach 12,5 x 50 cm (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

Gemäß DIN EN 16615 gilt für die Ausgangskonzentration N der hier verwendeten Prüforganismen folgender Grenzwert:

N liegt zwischen $1,5\text{--}5 \times 10^9$ KbE/ml ($9,17 \leq \log_{10} N \leq 9,70$)

Versuchsansatz: Die Testflächen wurden mit 70%igem Propanol gereinigt. Danach wurden vier Testfelder (5 x 5 cm) im Abstand von 5 cm in Längsrichtung auf die Mitte der Testfläche aufgezeichnet (Abb. 6). Alle Testflächen wurden während des Versuchs waagrecht gehalten. Der Versuch fand bei Raumtemperatur unter geringer organischer Belastung (0,03 % BSA) statt. Die Bakteriensuspension wurde auf $1,5\text{--}5 \times 10^9$ KbE/ml eingestellt. 0,05 ml der Bakterien-Prüfsuspension (bestehend aus 9 Teilen Bakterien-Prüfsuspension + 1 Teil organischer Belastung) wurden punktförmig auf Testfeld 1 der Testfläche pipettiert und mit einem Glasspatel gleichmäßig über Testfeld 1 verteilt. Die Kontamination wurde bis zur sichtbaren Trocknung (20–40 min, max. 60 min) auf dem Labortisch belassen.

Überprüfung einer Desinfektionsmittel-Prüflösung: Für die Prüfung nicht vorgetränkter Tücher wurde das SCA-Standardtuch mit 16 ml Desinfektionsmittel-Prüflösung (bzw. mit WSH für die Kontrolle) 30 min vor dem Wischvorgang vorgetränkt. Bei der Prüfung von gebrauchsfertigen Desinfektionstüchern wurden die ersten drei Tücher einer Packung

verworfen. Zum Wischen wurde ein Granitblock verwendet, der auf einer Seite mit Parafilm abgedeckt wurde (Abb. 7).



Abb. 7: Wischvorgang auf der Testfläche des 4-Felder Tests (eigene Darstellung).

Das vorbenetzte Tuch wurde 1 x gefaltet und auf die mit Parafilm bedeckte Fläche gelegt. Nach dem Antrocknen der Kontamination auf Testfeld 1 startete der Wischvorgang auf Testfeld 1 zu Testfeld 4 und wieder zurück, indem das Gewicht über die Testfläche geschoben wird, ohne zusätzlichen Druck auszuüben (Dauer 2 s für Hin- und Rückweg, Abb. 7). Die Stoppuhr wurde nach Ende des Wischvorgangs gestartet. Die Testfläche verblieb für die Dauer der EWZ bei Raumtemperatur auf dem Labortisch. Die Rückgewinnung der Testorganismen von den Testfeldern 1–4 erfolgte mittels Wattetupfer-Abstrichverfahren. Zum Abtupfern wurden pro Testfeld zwei sterile Einmaltupfer verwendet. Mit einem in Neutralisationsmittel vorbenetztem Tupfer wird das Testfeld in verschiedenen Bewegungsrichtungen abgewischt (Abb. 8).

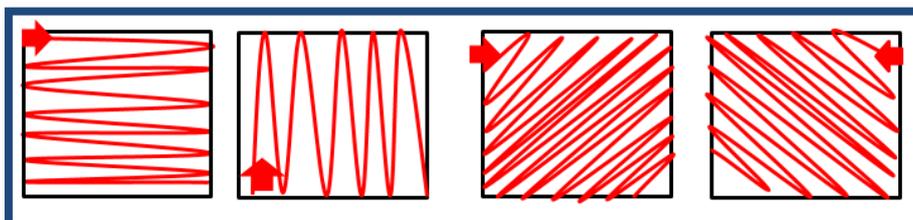


Abb. 8: Wattetupfer-Abstrichverfahren (eigene Darstellung).

Nach Ausschütteln in 5 ml Neutralisationsmittel wurde der Vorgang mit demselben Tupfer wiederholt und in ein mit 5 ml Neutralisationsmittel vorgelegtes Röhrchen überführt, wobei der Holzgriff am unteren Ende abgebrochen wurde. Anschließend wurde das Testfeld mit einem trockenen Tupfer trockengewischt und in dasselbe Röhrchen überführt. Mit allen Testfeldern wurde in gleicher Weise verfahren. Die Tupfer in den Röhrchen wurden auf dem Vortexer für 30 s ausgeschüttelt. Nach insgesamt 5 min \pm 10 s Neutralisationszeit wurden aus dem Direktansatz 2 x 0,5 ml und 1 x 0,1 sowie aus der 10^{-1} Verdünnung 1 x 0,1 ml ausgespatelt und für 24–48 h bei 36 ± 1 °C bebrütet. Das auf die Testfläche aufgebrachte Volumen wurde durch Gewichtsbestimmung der Tücher vor und nach dem Wischvorgang ermittelt (Abb. 9).



Abb. 9: Auswiegen der Tücher vor und nach dem Wischvorgang (eigene Darstellung).

WSH-Kontrolle: Diese Kontrolle diente der Erfassung der Reduktion der Testorganismen durch die Mechanik des Wischens ohne Einwirkung des Desinfektionsmittels. Dazu wurde pro Versuchsansatz parallel ein kompletter 4-Felder Test mit WSH (WSH + 0,1 % Polysorbat 80) anstelle der Desinfektionsmittel-Prüflösung unter gleichen Bedingungen durchgeführt.

Neutralisations- und Toxizitätskontrollen: Diese sollten vor dem eigentlichen Versuch durchgeführt werden. Sie können entfallen, wenn aus dem quantitativen Suspensionsversuch schon Ergebnisse vorliegen (s. Kap 2.3.3).

Trocknungskontrolle: Auf separaten Kontrollflächen wurde der Anteil an rückgewinnbaren Testorganismen ohne Einwirkung von Desinfektionsmitteln und ohne mechanische Einwirkung bestimmt. Dazu wurden auf einer kleineren Testfläche (7 x 13 cm) zwei Quadrate von 5 x 5 cm markiert. Das Testfeld T_0 diente der Ermittlung der Anzahl der überlebenden Zellen nach der Antrocknungszeit. In der Norm DIN EN 16615 wird diese Größe als Drying Control 0 (DC_0) bezeichnet. Sie beschreibt die rückgewinnbaren Testorganismen (KbE/ml) nach Antrocknung des Inokulums. Das Testfeld T_t dient der Ermittlung der Anzahl der überlebenden Zellen nach der Antrocknungszeit. Diese Größe wird gemäß der Norm DIN EN 16615 als Drying Control t (DC_t) bezeichnet und beschreibt die rückgewinnbaren Testorganismen (KbE/ml) nach Antrocknung des Inokulums zuzüglich der Einwirkzeit t des jeweiligen Desinfektionsproduktes ohne Einwirkung des mikrobiellen Wirkstoffs. Die Testfelder wurden wie oben beschrieben vorbereitet. Die Rückgewinnung der Testorganismen erfolgte mittels Wattetupfer-Abstrichverfahren.

Für DC_0 und DC_t gelten folgende Grenzwerte für die Prüforganismen nach DIN EN 16615.

DC_0 : liegt zwischen $7,5 \times 10^6$ KbE/ml und $2,5 \times 10^8$ KbE/ml ($6,88 \leq \log_{10} DC_0 \leq 8,40$)

DC_t : liegt zwischen $7,5 \times 10^6$ KbE/ml und $2,5 \times 10^8$ KbE/ml ($6,88 \leq \log_{10} DC_t \leq 8,40$)

Auswertung: Die Auswertung erfolgte nach 24–48 h Inkubation bei 37 ± 1 °C über die Ermittlung der KbE in 1 ml Probe pro Testfeld. Dabei wurden auch Nährböden ausgezählt, bei denen < 14 und > 330 Kolonien auftraten. Die Reduktion der Prüforganismen wurde als \log_{10} -Reduktion der überlebenden Zellen von Testfeld 1 festgelegt (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

$$\log_{10}\text{-Reduktion} = \log_{10} (\text{KbE } T_t) - \log_{10} (\text{KbE } T_1)$$

KbE T_t : Anzahl der KbE pro ml auf Kontrollfeld $T_t \times 5$

KbE T_1 : Anzahl der KbE pro ml auf Testfeld $T_1 \times 5$

Für ein wirksames Produkt sollte die Reduktion des Testorganismus mindestens fünf \log_{10} -Stufen auf Testfeld 1 betragen. Als ergänzende Anforderung wird gemäß VAH-Methodenbuch (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015) die Verteilung ins Umfeld (Verteilung auf die Testfelder 2 bis 4) der Wert von < 50 KbE/25 m² vorgegeben. Für die WSH-Kontrolle wird eine Verteilung ins Umfeld > 10 KbE/25cm² gefordert. Weder die DIN

EN 16615 (Deutsches Institut für Normung, 2015) noch die Vorgaben im VAH-Methodenbuch (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015) fordern die Bestimmung der \log_{10} -Reduktion für Testfeld 1 bei der WSH-Kontrolle. In dieser Arbeit wurde für die WSH-Kontrolle auch das Testfeld 1 bestimmt.

Berechnung des Akkumulationsfaktors (AF): Mit dem AF wird die Verteilung der Zellen von Testfeld 1 über die nicht-kontaminierten Testfelder 2–4 beschrieben. Der AF wird als Mittelwert der Testfelder 2–4 berechnet und in KbE/25 cm² angegeben. Hierbei gelten gemäß VAH-Methodenbuch folgende ergänzende Anforderungen: Beim Desinfektionsmittel-Prüfprodukt dürfen auf den Testfeldern 2–4 im Mittel ≤ 50 KbE gezählt werden. Bei der WSH-Kontrolle müssen auf den Testfeldern 2–4 im Mittel ≥ 10 KbE rückgewonnen werden (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2015).

$$\text{AF Testfelder } T_2\text{--}T_4: (\text{KbE}_{T_2} + \text{KbE}_{T_3} + \text{KbE}_{T_4}) / 3$$

KbE_{T_2} : KbE/25 cm² auf Testfeld 2 (Berechnung: Anzahl KbE pro ml auf $T_2 \times 5$)

KbE_{T_3} : KbE/25 cm² auf Testfeld 3 (Berechnung: Anzahl KbE pro ml auf $T_3 \times 5$)

KbE_{T_4} : KbE/25 cm² auf Testfeld 4 (Berechnung: Anzahl KbE pro ml auf $T_4 \times 5$)

4-Felder Test unter Berücksichtigung der Flächenleistung: Die für eine wirksame Flächendesinfektion notwendige Desinfektionsmittel-Menge wurde in der vorliegenden Arbeit als Flächenleistung definiert. Als Kriterium für die Flächenleistung eines Desinfektionstuches wurde der durchgängige Benetzungsfilm nach dem Wischen festgelegt (Abb. 10).

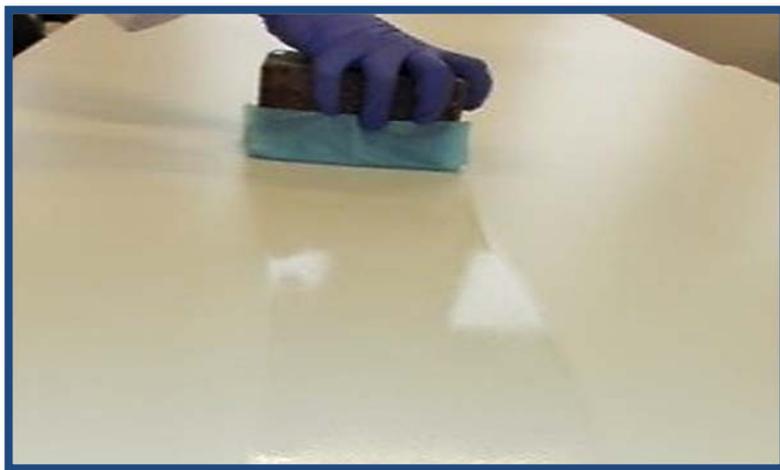


Abb. 10: Optische Überprüfung des Benetzungsfilms (eigene Darstellung).

Zusätzlich wurde der Benetzungsgrad nach dem Wischen auf der Oberfläche optisch bestimmt. Es wurde zwischen sattnasser, feuchter und nebelfeuchter Benetzung unterschieden. Für die Untersuchung der Flächenleistung der Desinfektionsmittel-Prüfprodukte wurde eine zusätzliche Wischstrecke definierter Länge in einer horizontalen Bewegung überfahren. Im Anschluss wurde mit demselben Desinfektionstuch der 4-Felder Test durchgeführt sowie das Gewicht des Tuches bestimmt. Für die zusätzlichen Wischstrecken wurden Labortische verwendet, die vorher mit 70 % 2-Propanol gereinigt wurden.

2.3.5 Wiperator-Methode gemäß ASTM-Standard E2967-15

Dieses Verfahren (Abb. 11) wurde für die bakterizide Wirksamkeitsprüfung gebrauchsfertiger Flächendesinfektionstücher und für selbstgetränkte Desinfektionstücher verwendet und erfolgte gemäß der Methode des ASTM-Standards E2967-15 (American Society for Testing and Materials (ASTM, 2015)).

Für die Ausgangskonzentration N der hier verwendeten Prüforganismen wurden die Vorgaben der DIN EN 16615 übernommen:

N liegt zwischen $1,5-5 \times 10^9$ KbE/ml ($9,17 \leq \log_{10} N \leq 9,70$)

Versuchsansatz: Die Testflächen (2 Edelstahlplättchen) wurden mit 70%igem 2-Propanol gereinigt. Der Versuch fand bei Raumtemperatur auf dem Labortisch statt; Temperatur und relative Luftfeuchte wurden protokolliert. Die Ausgangsbakteriensuspension wurde auf $1,5-5 \times 10^9$ KbE/ml eingestellt. 0,01 ml der Prüfsuspension (9 Teile Ausgangssuspension + 1 Teil 0,03 % BSA, geringe organische Belastung) wurden punktförmig auf Plättchen 1 pipettiert. Das Plättchen wurde bis zur sichtbaren Trocknung (ca. 20–40 min, max. 60 min) unter der Clean-Bench belassen.



Abb. 11: Wiperator (Filtaflex, 2015).

Vorgetränkte Desinfektionstücher wurden mit einer sterilen Schere auf 5 x 5 cm zurechtgeschnitten. Zur Prüfung nicht vorgetränkter Tücher wurden das Standardtuch (5 x 5 cm) mit 840 µl Produktprüflösung bzw. WSH 5 min vorgetränkt, so dass die Tücher sattnass waren (diese Menge entspricht der Menge der Tränklösung pro Tuch im 4-Felder Test (16 ml). Die Standardtücher wurden zweilagig verwendet, weil sie sonst nicht am Stößel befestigt werden konnten. Die Plättchen wurden auf der Rückseite mit einem Magneten und einem Klebestreifen in Position gehalten. Zwei Prüfplättchen (Prüfplättchen 1: kontaminiert; Prüfplättchen 2: nicht kontaminiert) wurden in einen Schlitten gelegt. Der Wischvorgang startete auf Prüfplättchen 1. Dort wurde die bakterizide Wirkung geprüft. Auf dem sauberen Prüfplättchen 2 wurde die Verteilung der Bakterien ins Umfeld ermittelt. Beide Prüfplättchen wurden nacheinander mit demselben Tuch gewischt. Der Wischvorgang bestand aus einer kreisenden Bewegung auf der Stelle für 10 s pro Plättchen. Dazu wurde der Schlitten mit den Prüfplättchen in den Wiperator eingeschoben und an den Stößel gehalten (Abb. 11). Nach dem Wischvorgang wurde der mit den Prüfplättchen beladene Schlitten für die Dauer der EWZ auf dem Labortisch bei RT belassen. Zur Rückgewinnung der Testorganismen wurden nach der EWZ die Prüfplättchen mit sterilen Pinzetten getrennt in verschließbare Glascontainer mit 5 ml Neutralisationslösung und sterilen Glasperlen (Boden des Röhrchens gerade bedeckt) überführt. Anschließend werden die Röhrchen 30 s mittels Vortexer geschüttelt. Nach der Neutralisationszeit (5 min ±

10 s) wurden aus dem Direktansatz 2 x 0,5 und 1 x 0,1 ml auf TSA-Platten ausgestrichen. Die Platten wurden für 24–48 h bei 37 ± 1 °C inkubiert. Das aufgebrachte Volumen wurde durch Gewichtsbestimmung des Wischtuchs vor und nach dem Wischen von Prüfplättchen 1 und nach dem Wischen von Prüfplättchen 2 ermittelt. Auf diese Weise wurde das verwendete Volumen für beide Flächen ermittelt.

Neutralisations- und Toxizitätskontrollen: Diese Kontrollen sollten vor dem eigentlichen Versuch durchgeführt werden. Sie können entfallen, wenn aus dem quantitativen Suspensionsversuch schon Erkenntnisse vorliegen (s. Kap 2.3.3).

WSH-Kontrolle: Zur Bestimmung der KbE ohne Einwirkung eines Desinfektionsmittels wurde pro EWZ parallel ein Prüfplättchen kontaminiert und anstelle der Desinfektionsmittel-Prüflösung WSH + 0,1 % Polysorbat 80 für den Wischvorgang verwendet.

Trocknungskontrolle: Zur Ermittlung der Anzahl der überlebenden Zellen nach der Antrocknungszeit (T_0) und der EWZ (T_t) wurden zwei separate Prüfplättchen wie oben beschrieben vorbereitet und kontaminiert. Die Prozedur der Rückgewinnung der Testorganismen von den Plättchen erfolgte wie bereits beschrieben. Die Rückgewinnung der Testorganismen vom Prüfplättchen PT_0 erfolgte unmittelbar nach Antrocknung des Inokulums. Diese Größe wird in Anlehnung an die Norm DIN EN 16615 als „Drying Control 0“ (DC_0) bezeichnet und beschreibt die Anzahl der rückgewonnenen KbE nach Antrocknung des Inokulums. Die Rückgewinnung vom Kontrollplättchen PT_t erfolgte nach Antrocknung des Inokulums zuzüglich der EWZ ohne Einwirkung des Desinfektionsmittels. Diese Größe wird in Anlehnung an die Norm DIN EN 16615 als Drying Control t (DC_t) bezeichnet und beschreibt die Anzahl der rückgewonnenen KbE nach Antrocknung des Inokulums zuzüglich der Einwirkzeit t ohne Einwirkung des Desinfektionsmittels.

Für DC_0 und DC_t wurden die Grenzwerte gemäß DIN EN 16615 übernommen.

DC_0 : liegt zwischen $7,5 \times 10^6$ KbE/ml und $2,5 \times 10^8$ KbE/ml ($6,88 \leq \log_{10} DC_0 \leq 8,40$)

DC_t : liegt zwischen $7,5 \times 10^6$ KbE/ml und $2,5 \times 10^8$ KbE/ml ($6,88 \leq \log_{10} DC_t \leq 8,40$)

Auswertung: Die Auswertung erfolgte nach 24–48 h Inkubation bei 37 ± 1 °C über die Ermittlung der KbE in je 1 ml Probe. Da bei der Wiperator-Methode statt vier Testfelder zwei Prüfplättchen verwendet wurden, ergab sich für die Berechnung der \log_{10} -Reduktion folgende Formel:

$$\log_{10}\text{-Reduktion} = \log_{10} (\text{KbE PT}_t) - \log_{10} (\text{KbE P}_1)$$

KbE PT_t: KbE pro ml auf Kontrollplättchen PT_t x 5

KbE T₁: KBE pro ml auf Prüfplättchen P₁ x 5

Für ein wirksames Produkt sollte die Reduktion der KbE bei der Wiperator-Methode mindestens vier log₁₀-Stufen betragen (Sattar, 2016). Für die WSH-Kontrolle gibt es für die log₁₀-Reduktion für Prüfplättchen 1 keine Anforderungen. In dieser Arbeit wurde auch die log₁₀-Reduktion der WSH-Kontrolle berechnet.

2.4 Statistische Methoden

Die präsentierten Daten sind das Ergebnis von mindestens drei Replikaten. Für die Auswertung wurden Methoden der deskriptiven Statistik und der analytischen Statistik verwendet. Für alle Berechnungen wurde das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2016 verwendet. Alle händischen Rechnungen wurden mit SPSS Version 25 überprüft. Zu den Methoden der analytischen Statistik zählen Signifikanztests, die der statistischen Überprüfung von Hypothesen bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit dienen (Werner, 1984).

Bei geringen Datensätzen kann eine Normalverteilung der Daten nicht vorausgesetzt werden (Werner, 1984). Daher wurden für die Signifikanzberechnung der Kruskal-Wallis-H Test (> 2 Vergleichsgruppen) und der Mann-Whitney-U Test (2 Vergleichsgruppen) für die Datenanalysen verwendet. Bei geringen Datensätzen kann dies manuell erfolgen. In dieser Arbeit wurde als signifikant ein p-Wert $\leq 0,05$ (α -Signifikanzniveau 5%) und als hochsignifikant ein p-Wert von $\leq 0,01$ (α -Signifikanzniveau 1 %) festgesetzt. Bei der Berechnung von Post-hoc-Paarvergleichen besteht die Schwierigkeit, dass die Wahrscheinlichkeit für eine Fehlentscheidung aufgrund einer α -Fehler-Kumulierung erhöht wird. Daher wurde das jeweilige Signifikanz-Niveau gemäß folgender Formel Bonferroni-korrigiert: $\alpha' = \alpha/m$ wobei (m = Anzahl der Tests).

Die Ergebnisse wurden grafisch mittels Boxplots dargestellt, da diese sich gut für die Beschreibung nicht-normalverteilter Daten eignen (Krummenauer et. al., 2007). Hierbei werden verschiedene Lageparameter eines Merkmals (Median, Maximum, Minimum, unteres Quartil, oberes Quartil und Ausreißer) in einer Kastengrafik zusammengefasst.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode

In der vorliegenden Arbeit wurden mit der Wiperator-Methode, dem ASTM-Standard E2967-15 (American Society for Testing and Materials, 2015) und dem 4-Felder Test (Deutsches Institut für Normung, 2015) zwei praxisnahe Testmethoden (Phase-2, Stufe 2, s. Kap. 1.4.1) für die Flächendesinfektion methodisch und im Praxisversuch verglichen. Prüfprodukte waren eine Desinfektionslösung auf Basis von QAV (Prüfprodukt F-H) und ein gebrauchsfertiges Desinfektionstuch auf der Basis von Alkoholen (Prüfprodukt rtu-Alkohol). Als Testorganismen dienten *S. aureus* und *P. aeruginosa*. In dieser Versuchsanordnung wurde die Reduktion der Testorganismen auf Testfeld 1 überprüft, weil für die Wiperator-Methode keine Kriterien für die Verteilung auf das Testfeld 2 vorliegen. Dieser Teil der Arbeit wurde bei *GMS Hygiene and Infection Control* veröffentlicht (Jacobshagen et al., 2020).

3.1.1 Methodischer Vergleich

In Tabelle 16 werden verfahrenstechnische Aspekte der beiden Verfahren verglichen.

Tab. 16: Charakteristika des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode

	4-Felder Test	Wiperator
Methode	DIN EN 16615	ASTM Standard E2967-15
Anwendung	Desinfektionslösungen Tuchspendersysteme ready-to-use Wipes	ready-to-use Wipes
Testorganismus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Gram-positiv	<i>Enterococcus hirae</i>	
Testorganismus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Gram-negativ		
Leistungskriterium	$\geq 5 \log_{10}$ -Reduktion KbE	$> 4 \log_{10}$ -Reduktion KbE (Sattar, 2016)
Verfahren	Manuell	Automatisiert

	4-Felder Test	Wiperator
Wischverfahren	Horizontal	Kreisend
Dauer Wischvorgang	2 Sekunden	20 Sekunden
Testoberfläche	Polyvinylchlorid (PVC)	Edelstahl
Anpressdruck	22,9 kg/m ²	1500 kg/m ²
Größe Testfläche	20 cm x 50 cm = 1000 cm ²	D _{Plättchen} = 1,0 cm A _{Plättchen} = 0,785 cm ²
Standard-Tuch	SCA-Wipe	J-Cloth
Tränkvolumen	16 ml	20 µl (Kontrolle)
Größe Inokulum	50 µl	10 µl

Der wesentliche Unterschied zwischen den beiden Verfahren ist, dass es sich beim 4-Felder Test um ein manuelles und bei der Wiperator-Methode um ein automatisiertes Verfahren handelt. Darüber hinaus unterscheiden sich die Methoden beispielsweise deutlich bezüglich der Größe der abgewischten Fläche und der Leistungskriterien, wie z.B. der Dauer des Wischvorgangs.

3.1.2 Rückgewinnungsrate der Testorganismen

Die Rückgewinnung der Testorganismen von der Testoberfläche stellt eine besonders grundsätzliche verfahrenstechnische Schwierigkeit dar (s. Kap. 2.3.4 und 2.3.5). Tabelle 17 gibt einen Überblick über diese Daten für beide Verfahren.

Die Ausgangskonzentration der Prüfsuspension N von *S. aureus* und *P. aeruginosa* lag innerhalb des Grenzwertes ($9,17 \leq \log_{10} N \leq 9,70$). Bei der Anzahl der rückgewonnenen KbE gab es Unterschiede zwischen *S. aureus* und *P. aeruginosa*. Bei *S. aureus* lagen DC₀ und DC_t unter Verwendung beider Methoden und 5 und 15 min EWZ innerhalb des geforderten Grenzwertes ($6,88 \leq \log_{10} \text{KbE} \leq 8,40$). Für *P. aeruginosa* lagen DC₀ (7,17 log₁₀) und DC_t (6,89 log₁₀) unter Verwendung der Wiperator-Methode nur nach einer EWZ von 5 min innerhalb des Grenzwertes, nach 15 min war der Antrocknungsverlust zu hoch. Mit dem 4-Felder Test wurden bei Verwendung von *P. aeruginosa* sowohl nach 5 min als auch nach 15 min nicht ausreichend Zellen zurückgewonnen. Die Werte für DC₀ und DC_t

lagen unterhalb des Grenzwertes. Dieses Resultat lässt bei *P. aeruginosa* auf einen Verlust von KbE nach der Trocknung des Inokulums schließen. Der KbE-Verlust ist beim 4-Felder Test möglicherweise deshalb höher, da aufgrund der größeren Inokulummenge (50 µl vs. 10 µl beim Wiperator) die Trockenzeit verlängert wurde.

Tab. 17: Rückgewinnung von *S. aureus* und *P. aeruginosa*, (n = 3)

Methode – Zeitpunkt der Rückgewinnung	S. aureus DSM 799			P. aeruginosa DSM 939		
	N	DC ₀	DC _t	N	DC ₀	DC _t
	(log ₁₀)	(log ₁₀)	(log ₁₀)	(log ₁₀)	(log ₁₀)	(log ₁₀)
4-Felder Test – 5'	9,55	7,97	7,96	9,55	6,80	6,79
4-Felder Test – 15'	9,87	7,85	7,79	9,87	6,66	6,32
Wiperator – 5'	9,50	7,62	7,54	9,50	7,17	6,89
Wiperator – 15'	9,58	7,73	7,67	9,58	6,56	6,35

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, DC₀: Rückgewinnung nach Antrocknung des Inokulums, DC_t: Rückgewinnung nach Antrocknung des Inokulums zzgl. einer Einwirkzeit von 5 min bzw. 15 min aber ohne Desinfektionsmitteleinwirkung.

3.1.3 Bakterizide Wirksamkeit

Untersucht wurde die bakterizide Wirksamkeit einer Flächendesinfektionslösung auf QAV-Basis (Prüfprodukt F-H) und eines gebrauchsfertigen Flächendesinfektionstuches auf Alkohol-Basis (Prüfprodukt rtu-Alkohol) unter Verwendung von 4-Felder Test und Wiperator-Methode. Es wurde hier nur die Reduktion auf Testfeld 1 betrachtet. Zusätzlich wurde die bakterizide Wirksamkeit von Prüfprodukt F-H unterhalb der gelisteten Wirksamkeitskonzentration von 1 % in Kombination mit dem SCA-Wipe (Standardtuch für 4-Felder Test) und dem J-Cloth (Standardtuch für Wiperator) mit beiden Methoden geprüft, um den möglichen Einfluss des Tuchmaterials zu evaluieren.

Das Prüfprodukt F-H (2 %) zeigte bei 15 min EWZ (Tab. 18) auf Testfeld 1 eine bakterizide Wirkung gegenüber *S. aureus* und *P. aeruginosa* unter Anwendung beider Methoden und Nutzung des SCA-Wipes. Die log₁₀-Reduktion war durchgängig > 5. Mit beiden Methoden konnten unter Verwendung von WSH 15 min EWZ die KbE beider Testorganismen auf Testfeld 1 deutlich reduziert werden: Dies war für *P. aeruginosa* besonders sichtbar

(Wiperator 3,5 log₁₀-Reduktion und 4-Felder Test 5,6 log₁₀-Reduktion). Die Daten der Trocknungskontrolle deuten darauf hin, dass insbesondere bei *P. aeruginosa* der KbE-Verlust aufgrund des Trocknungsprozesses zur KbE-Reduktion bei Verwendung von WSH beigetragen haben könnte (Tab. 17).

Tab. 18: Bakterizide Wirksamkeit der Desinfektionslösung F-H (2 %, SCA-Wipe, 15 min EWZ) – log₁₀-Reduktion von *S. aureus* und *P. aeruginosa* im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3)

Testorganismus	Methode	Prüfprodukt / EWZ	Reduktion KbE auf T 1 (log ₁₀)*
<i>S. aureus</i> DSM 799	4-Felder Test	F-H, 2 % / 15 min	6,4 ± 0,1
		WSH / 15 min	3,8 ± 0,6
	Wiperator	F-H, 2 % / 15 min	7,8 ± 0,6
		WSH / 15 min	2,6 ± 0,2
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	4-Felder Test	F-H, 2 % / 15 min	6,0 ± 0,8
		WSH / 15 min	5,6 ± 0,5
	Wiperator	F-H, 2 % / 15 min	5,5 ± 1,1
		WSH / 15 min	3,7 ± 0,6

*Mittelwert ± Standardabweichung, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

Bei Betrachtung der Auswirkung des Tuchmaterials (Tab. 19) konnte mit Prüfprodukt F-H (1 %, 15 min EWZ) unter Verwendung beider Methoden und Gebrauch des SCA-Wipes eine bakterizide Wirkung gegenüber *S. aureus* für Testfeld 1 erzielt werden. Bei Verwendung des J-Cloth fehlte bei beiden Methoden hingegen eine ausreichende bakterizide Wirksamkeit gegenüber *S. aureus* (4-Felder Test: 3,9 log₁₀, Wiperator: 3,4 log₁₀). Dieser Befund ist ein Hinweis darauf, dass das verwendete Tuch die bakterizide Wirkung des Prüfprodukts beeinflusst hat. Bei der WSH-Kontrolle wurde mit beiden Methoden eine vergleichbare Reduktion der KbE von *S. aureus* sowohl mit dem SCA-Wipe und dem J-Cloth erzielt.

Tab. 19: Einfluss des Tuchmaterials – Reduktion von *S. aureus* bei Nutzung von SCA-Wipes bzw. J-Cloth in Kombination mit der Desinfektionslösung F-H (1 %, 15 min EWZ) im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3)

Testorganismus	Methode / Tuch	Prüfprodukt / EWZ	Reduktion KbE auf T 1 (log ₁₀)*
<i>S. aureus</i> DSM 799	4-Felder Test /	F-H, 1 % / 15 min	6,5 ± 0,5
	SCA-Wipe	WSH / 15 min	3,5 ± 0,4
	4-Felder Test /	F-H, 1 % / 15 min	3,9 ± 0,3
	J-Cloth	WSH / 15 min	3,5 ± 0,1
	Wiperator /	F-H, 1 % / 15 min	7,6 ± 0,1
	SCA-Wipe	WSH / 15 min	2,6 ± 0,2
Wiperator /	F-H, 1 % / 15 min	3,4 ± 0,4	
J-Cloth	WSH / 15 min	2,3 ± 0,2	

*Mittelwert ± Standardabweichung, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

Im Folgenden werden die beiden Prüfverfahren unter Verwendung eines alkoholbasierten Desinfektionstuches miteinander verglichen (Tab. 20). Das Desinfektionstuch rtu-Alkohol zeigte im 4-Felder Test nach 5 min EWZ mit einer log₁₀-Reduktion < 5,0 auf Testfeld 1 keine ausreichende bakterizide Wirkung für *S. aureus* und *P. aeruginosa*. Bei Gebrauch der Wiperator-Methode war hingegen eine unzureichende bakterizide Aktivität gegenüber *S. aureus* (log₁₀-Reduktion = 2,5) und eine ausreichende bakterizide Wirkung gegenüber *P. aeruginosa* (log₁₀-Reduktion = 5,0) zu verzeichnen.

Tab. 20: Bakterizide Wirksamkeit des Desinfektionstuchs rtu-Alkohol (5 min EWZ) – log₁₀-Reduktion von *S. aureus* und *P. aeruginosa* im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3)

Testorganismus	Methode	Prüfprodukt / EWZ	Reduktion KbE auf T 1 (log ₁₀)*
<i>S. aureus</i>	4-Felder Test	rtu-Alkohol / 5 min	3,5 ± 1,3
		WSH / 5 min	3,7 ± 0,1
	Wiperator	rtu-Alkohol / 5 min	2,5 ± 0,7
		WSH / 5 min	2,6 ± 0,2
<i>P. aeruginosa</i>	4-Felder Test	rtu-Alkohol / 5 min	3,2 ± 0,3
		WSH / 5 min	3,8 ± 0,6
	Wiperator	rtu-Alkohol / 5 min	5,0 ± 1,1
		WSH / 5 min	3,7 ± 0,6

*Mittelwert ± Standardabweichung, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

3.1.4 Signifikanzberechnungen

Es galt die Frage zu klären, ob sich der 4-Felder Test und die Wiperator-Methode hinsichtlich der jeweils ermittelten log₁₀-Reduktionen signifikant voneinander unterscheiden. Dazu wurden die mit beiden Methoden ermittelten log₁₀-Reduktionen der KbE (WSH bei 5 und 15 min EWZ) von *S. aureus* und *P. aeruginosa* mit dem Mann-Whitney-U Test analysiert. Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Verfahren für *P. aeruginosa* mit p = 0,05 und ein hoch signifikanter Unterschied für *S. aureus* mit p = 0,001 (Tab. 21).

Tab. 21: Mann-Whitney-U Test: Vergleich der log₁₀-Reduktionen von *S. aureus* und *P. aeruginosa* bei Anwendung des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode unter WSH und SCA-Wipe (5 und 15 min EWZ)

Testorganismus	n ₁	n ₂	Mann-Whitney-U Testentscheidung
<i>S. aureus</i>	8	8	0 (U _{min}) < 4 (U _{krit}), p = 0,001
<i>P. aeruginosa</i>	11	10	24 (U _{min}) < 27 (U _{krit}), p = 0,05

n₁ und n₂: Anzahl der Einzeluntersuchungen, U_{min}: durch den Mann-Whitney-U Test errechnete Wert, U_{krit}: ermittelt nach Milton (1964).

In Abbildung 12 werden die Daten der Signifikanzberechnung im Box-Plot zusammengefasst. Die angegebenen p-Werte zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Methoden auf.

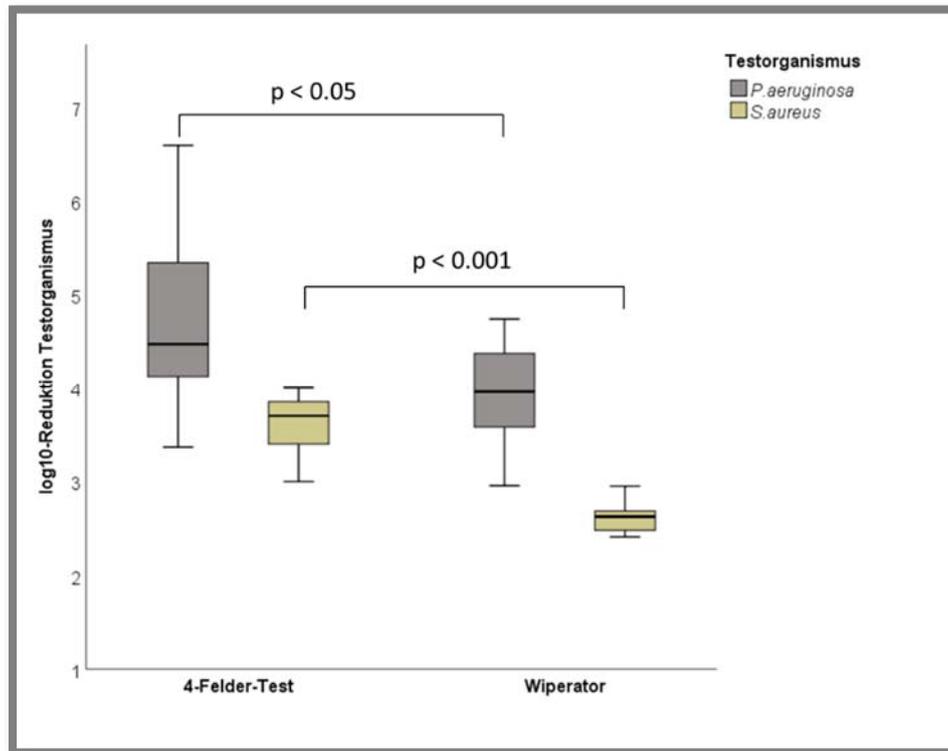


Abb. 12: log₁₀-Reduktion der KbE von *P. aeruginosa* und *S. aureus* auf Testfeld 1 bei Verwendung des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode mit WSH und SCA-Wipe (5 und 15 min EWZ).

In obiger Abbildung ist erkennbar, dass für *P. aeruginosa* bei Gebrauch beider Methoden insgesamt höhere log₁₀-Reduktionen auf Testfeld 1 erzielt wurde als für *S. aureus*. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass für *P. aeruginosa* im Vergleich zu *S. aureus* weniger Ausgangszellen vorhanden waren, weil während der Antrocknung des Inokulums Zellen abgestorben sind. Diese Daten sind in Tabelle 17, Kapitel 3.1.2 dargestellt.

3.2 Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche mit dem 4-Felder Test

In diesem Versuch wurde der Einfluss der Größe der zu desinfizierenden Fläche auf die \log_{10} -Reduktion des Testorganismus *S. aureus* bei der Verwendung von Flächendesinfektionsprodukten analysiert. Dazu wurden drei verschieden große Flächen mit dem jeweiligen Prüfprodukt behandelt. Anschließend wurde der 4-Felder Test zur Bestimmung der bakteriziden Wirksamkeit unter geringer organischer Belastung durchgeführt. Zusätzlich wurde untersucht, ob sich ein sichtbarer intakter und sattnasser Benetzungsfilm auf der Oberfläche als Indikator für eine ausreichende bakterizide Wirksamkeit eignet.

3.2.1 Versuchsanordnung

Der Versuchsaufbau ist in Tabelle 22 aufgeführt. Verwendet wurden eine Desinfektionslösung (F-H) und ein gebrauchsfertiges Desinfektionstuch (rtu-QAV) auf QAV-Basis.

Tab. 22: Versuchsanordnung Flächentest

Prüfprodukt	Produkt F-H 2 % mit SCA-Wipe	rtu-QAV	WSH mit SCA-Wipe
Wirkstoffbasis	QAV	QAV	WSH
Einwirkzeit	15 min	5 min	15 und 5 min
Tränkvolumen/ Tuch	16 ml	vorgetränkt	16 ml
Testfläche 4-Felder Test	0,63 m ²	0,63 m ²	0,63 m ²
Vorgeschlaltete	+1 m ^{2*}	+0,5 m ^{2*}	-
Flächen	+2 m ^{2*}	+1 m ^{2*}	-

*vorgeschlaltete Fläche mit anschließendem 4-Felder Test, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

Der intakte Benetzungsfilm und der Benetzungsgrad wurden durch eine optische Kontrolle im Gegenlicht nach dem Wischvorgang bestimmt (Abb. 10, Kap. 2.3.4). Dabei wurde beim Benetzungsgrad optisch zwischen sattnasser und feuchter bis nebelfeuchter Anfeuchtung unterschieden. Da beim Prüfprodukt rtu-QAV nach einer Fläche von $> 1 \text{ m}^2$ der Benetzungsfilm optisch nicht mehr vollständig intakt war, wurden keine Versuche mit Flächen $> 1 \text{ m}^2$ durchgeführt.

3.2.2 Wirksamkeitsnachweis

Das Produkt F-H 2 % (Tab. 23) zeigte hohe bakterizide Aktivität gegenüber *S. aureus* bei einer EWZ von 15 min auf 0,63 m² bei intaktem und sattnassem Benetzungsfilm. Mit einer log₁₀-Reduktion > 5,0 auf Testfeld 1 und einem Akkumulationsfaktor von 25 KbE/25 cm² waren beide Akzeptanzkriterien für eine ausreichende bakterizide Wirkung erreicht. Bei der zusätzlichen Wischfläche von +1 m² konnte ebenfalls eine ausreichende bakterizide Wirkung auf Testfeld 1 (log₁₀-Reduktion > 5,0) erzielt werden. Allerdings lag der AF mit 55 KbE/25 cm² knapp über dem Akzeptanzkriterium (MW AF ≤ 50 KbE/25 cm²). Der Benetzungsfilm war intakt, jedoch nicht mehr vollständig sattnaß, sondern feucht bis nebelfeucht. Auf +2 m² lag bei gleicher EWZ die bakterizide Wirkung trotz eines intakten Benetzungsfilms unterhalb des Akzeptanzkriteriums (log₁₀-Reduktion 4,4). Der Benetzungsfilm war nur nebelfeucht. Für den AF wurde die Anforderung für eine ausreichende Bakterizidie auf dieser Flächengröße nicht erreicht (Mittelwert AF = 78 KbE/25 cm²).

Der Akkumulationsfaktor AF, der die Verteilung der Bakterien auf den Testfeldern 2 – 4 beschreibt, wurde aufgrund großer Streubreite zusätzlich als Median angegeben. Der Median nahm zwar mit der Größe der gewischten Fläche ab (von 12 über 9 bis zu 8 KbE/25 cm²), allerdings nahm die Streuung der Daten mit der Größe der Testfläche zu.

Mit dem WSH getränktem SCA-Tuch konnten die KbE von *S. aureus* um 2,6 log₁₀ auf der Fläche von 0,63 m² reduziert werden. Dabei wurden die Bakterien auf die Felder 2 – 4 verteilt. Die Anforderung an den AF (Mittelwert AF_{WSH} ≥ 10 KbE/25 cm²) wurde für WSH erfüllt.

Tab. 23: Bakterizide Wirksamkeit des Prüfprodukts F-H (2 %, SCA-Wipe, 15 min EWZ) gegenüber *S. aureus* in Abhängigkeit von der Flächengröße im 4-Felder Test – log₁₀-Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4

Prüf- produkt	Vorge- schaltete Fläche	N (log ₁₀)*	Benet- zung Testflä- che	Reduktion KbE auf T 1 (log ₁₀)*	AF auf T 2 – 4 (KbE/25 cm ²)	
					Median (Spanne)	MW*
F-H (n = 6)	0,63 m ²	9,4 ± 0,1	intakt, sattnass	5,9 ± 0,3	12 (1 – 97)	25 ± 33
	+1,0 m ²	9,3 ± 0,1	intakt, feucht	5,1 ± 0,3	9 (2 – 158)	55 ± 70
	+2,0 m ²	9,4 ± 0,1	intakt, ne- belfeucht	4,4 ± 0,2	8 (1 – 410)	78 ± 149
WSH (n = 3)	0,63 m ²		intakt, sattnass	2,6 ± 0,2	197 (115 – >330)	289 ± 192

N: Dichte der Prüfsuspension, AF = Akkumulationsfaktor, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH), *Mittelwert ± Standardabweichung.

Das Prüfprodukt rtu-QAV (Tab. 24) zeigte eine hohe bakterizide Aktivität auf 0,63 m² gegenüber *S. aureus* bei einer EWZ von 5 min (entspricht der EWZ gemäß Herstellerangabe). Mit einer log₁₀-Reduktion > 5,0 auf Testfeld 1 war das Akzeptanzkriterium erreicht. Auf der Oberfläche war ein sattnasser und intakter Benetzungsfilm erkennbar. Ab einer zusätzlichen Wischfläche von ≥ 0,5 m² zeigte rtu-QAV trotz eines intakten Benetzungsfilms keine bakterizide Wirksamkeit gegenüber dem Testorganismus *S. aureus* (log₁₀-Reduktion = 4,0 bei +0,5 m², log₁₀-Reduktion = 1,6 bei +1 m²). Die gewischte Oberfläche war nach optischer Prüfung zwar intakt, aber nur nebelfeucht. Der Median für den Akkumulationsfaktor nahm mit der Größe Wischfläche zu (von 2 über 37 bis 179 KbE/25 cm²), wobei auch die Streuung der Daten mit der Größe der Testfläche zunahm. Die Anforderung für den Akkumulationsfaktor (Mittelwert AF ≤ 50 KbE/25 cm²) wurde nur für die Fläche 0,63 m² (entspricht Testfläche 4-Felder Test) erreicht. Mit dem WSH getränktem SCA-Tuch konnten die KbE von *S. aureus* auf einer Fläche von 0,63 m² auf Testfeld 1 um 2,6 log₁₀ reduziert werden. Für die WSH-Kontrolle wurde die Anforderung an den AF (Mittelwert AF_{WSH} ≥ 10 KbE/25 cm²) erfüllt.

Tab. 24: Bakterizide Wirksamkeit des Prüfprodukts rtu-QAV (5 min EWZ) gegenüber *S. aureus* in Abhängigkeit von der Flächengröße im 4-Felder Test – log₁₀-Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4

Prüf- produkt	Vorge- schaltete Fläche	Benet- zung Testflä- che	Reduktion KbE auf T 1(log ₁₀)*	AF auf T 2 – 4 (KbE/25 cm ²)	
				Median (Spanne)	MW*
rtu-QAV (n = 6)	0,63 m ²	intakt, sattnass	5,6 ± 0,7	2 (1–11)	3
	+0,5 m ²	intakt, ne- belfeucht	4,0 ± 0,9	37 (6– >330)	69
	+1,0 m ²	intakt, ne- belfeucht	1,6 ± 0,3	179 (24– >330)	181
WSH (n = 3)	0,63 m ²	intakt, sattnass	2,6 ± 0,2	197 (115– >330)	289 ± 192

*Mittelwert ± Standardabweichung, AF: Akkumulationsfaktor, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

Die Berechnungen mit dem Kruskal-Wallis-H Test (Tab. 25) zeigten auf, dass sich die ermittelten log₁₀-Reduktionen der KbE von *S. aureus* für die Prüfprodukte F-H 2 % (Tab. 23) und rtu-QAV (Tab. 24) bei den drei verschiedenen Flächengrößen (Tab. 22) hoch signifikant voneinander unterscheiden (p = 0,01).

Tab. 25: Kruskal-Wallis-H Test: Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche für *S. aureus* bei den Produkten F-H, 2 % und rtu-QAV

Total N	n (Anzahl Gruppen)	df*	Produkt F-H 2 % H-Wert	X ² bei p = 0,01	Test- entscheidung
18	3	2	14,36	0,02	H > X ²

Total N	n (Anzahl Gruppen)	df	Produkt rtu-QAV H-Wert	X ² bei p = 0,01	Test- entscheidung
18	3	2	14,00	0,02	H > X ²

*Freiheitsgrad (df): n-1.

Beim Post-hoc-Paarvergleich der verschiedenen großen Flächen untereinander ergaben sich ebenfalls in Abhängigkeit von der Größe der Fläche hoch signifikante Unterschiede ($p = 0,01$) für Produkt F-H 2 % (Tab. 26) und für Produkt rtu-QAV (Tab. 27).

Tab. 26: Mann-Whitney-U Test: Paarweiser Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests mit *S. aureus* und dem Prüfprodukt F-H (2 %, 15 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche

Flächenvergleich paarweise	n₁	n₂	U_{min}	U_{krit} bei p = 0,01*	Testentscheidung
0,63 m ² mit +1,0 m ²	6	6	0	3	U _{min} < U _{krit}
0,63 m ² mit +2,0 m ²	6	6	0	3	U _{min} < U _{krit}
+1,0 m ² mit +2,0 m ²	6	6	2	3	U _{min} < U _{krit}

*Signifikanzniveau Bonferroni-korrigiert.

Tab. 27: Mann-Whitney-U Test: Paarweiser Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests mit *S. aureus* und dem Prüfprodukt rtu-QAV (5 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche

Flächenvergleich paarweise	n₁	n₂	U_{min}	U_{krit} bei p = 0,01*	Testentscheidung
0,63 m ² mit +0,5 m ²	6	6	3	3	U _{min} = U _{krit}
0,63 m ² mit +1,0 m ²	6	6	0	3	U _{min} < U _{krit}
+0,5 m ² mit +2,0 m ²	6	6	0	3	U _{min} < U _{krit}

*Signifikanzniveau Bonferroni-korrigiert.

In Abbildung 13 sind die \log_{10} -Reduktionen der KbE in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche für Produkt F-H im Box-Plot dargestellt. Es ist ein linearer Trend sichtbar: Je größer die desinfizierte Fläche, desto geringer die \log_{10} -Reduktionen der KbE von *S. aureus*.

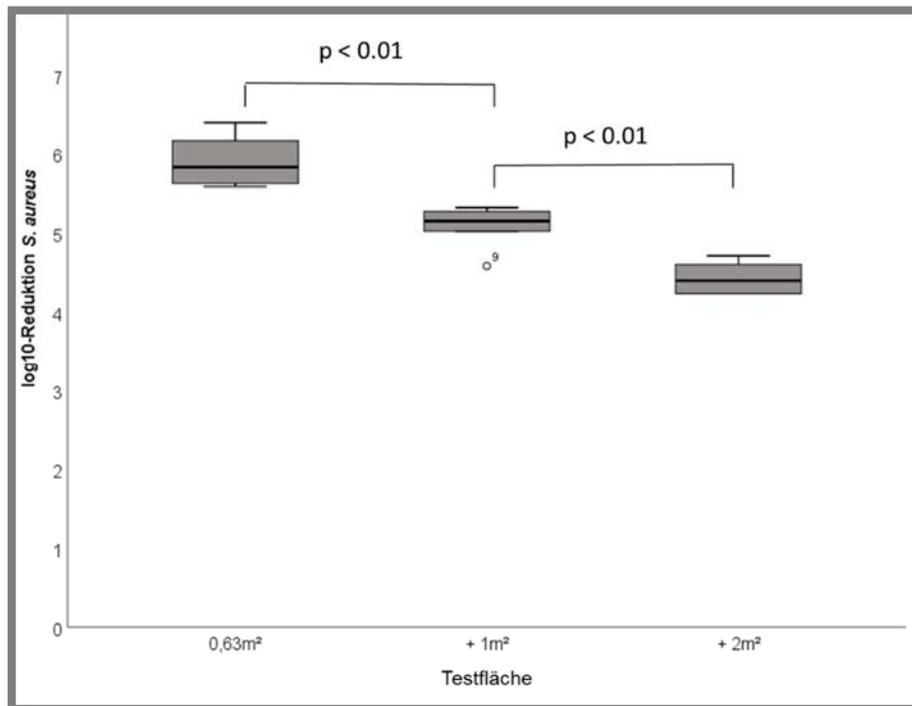


Abb. 13: \log_{10} -Reduktion der KbE beim 4-Felder Test für *S. aureus* für das Produkt F-H (2 %, 15 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche.

Nachfolgend sind in Abbildung 14 die \log_{10} -Reduktionen der KbE von *S. aureus* bei Verwendung von Produkt rtu-QAV in Relation zur Größe der Testfläche grafisch dargestellt: Es zeigt sich deutlich ein linearer Trend: Je größer die desinfizierte Fläche, desto geringer die \log_{10} -Reduktionen der KbE des Testorganismus.

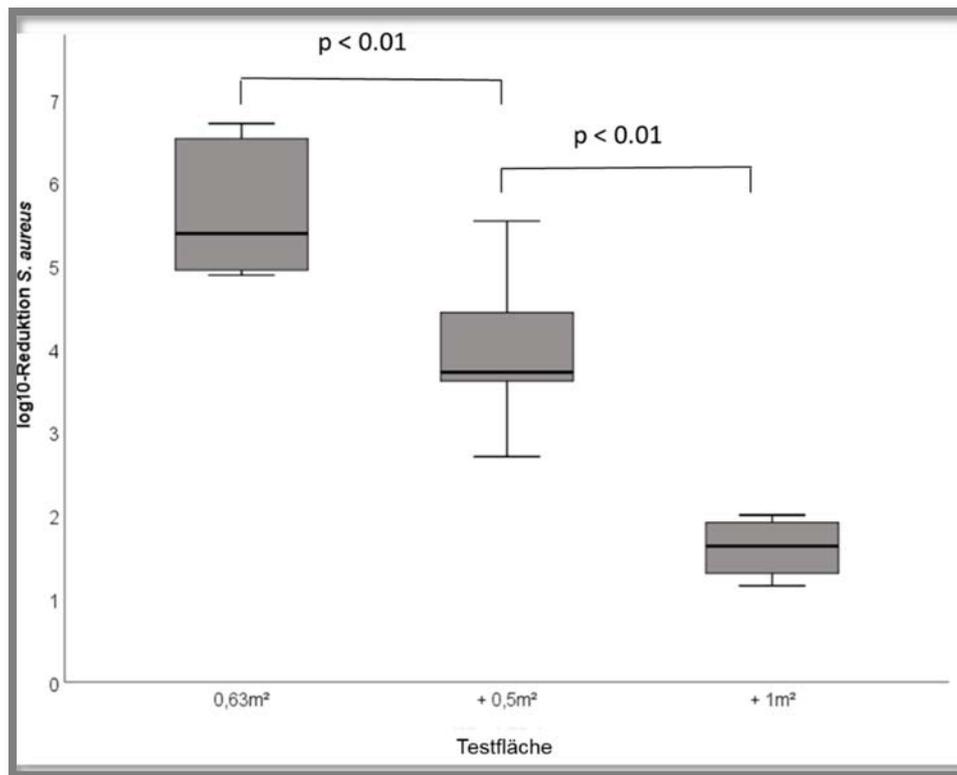


Abb. 14: \log_{10} -Reduktion der KbE beim 4-Felder Test für *S. aureus* für das Produkt rtu-QAV (5 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche.

3.2.3 Wirksamkeitsnachweis bei zusätzlicher Desinfektionsmittelmenge

Ziel dieses Versuchs war es zu betrachten, ob durch eine Erhöhung der Desinfektionsmittelmenge die bakterizide Wirksamkeit vom Prüfprodukt rtu-QAV verbessert werden könnte (Tab. 28). Dazu wurde das Prüfprodukt rtu-QAV mit zusätzlichem Tränkvolumen von 2 und 4 ml benetzt. Verwendet wurde hierfür rtu-QAV-Liquid (Desinfektionsmittellösung von Produkt rtu-QAV). Es wurde nur die Fläche von +0,5 m² als vorgeschaltete Wischfläche verwendet.

Unter diesen Bedingungen zeigte das Produkt rtu-QAV eine höhere bakterizide Aktivität gegenüber *S. aureus*, aber ausreichende Bakterizidie wurde nicht erreicht: Bei 2 ml zusätzlichem Tränkvolumen und optisch feuchtem und intaktem Benetzungsfilm eine log₁₀-Reduktion von 3,6 auf Testfeld 1 und bei 4 ml zusätzlichem Tränkvolumen mit optisch sattnasser Oberfläche eine log₁₀-Reduktion von 4,6. Bei der Verbreitung der Bakterien auf die Testfelder 2 – 4 wurden jeweils nur Werte von 1 KbE gezählt. Das Akzeptanzkriterium für den AF (Mittelwert AF ≤ 50 KbE/25 cm²) wurde bei 2 ml und 4 ml zusätzlichem Tränkvolumen jeweils erreicht.

Tab. 28: Bakterizide Wirksamkeit des Desinfektionsmittel-Prüfprodukts rtu-QAV (5 min EWZ) mit zusätzlichem Tränkvolumen von 2 und 4 ml gegenüber *S. aureus* im 4-Felder Test bei vorgeschalteter Testfläche von 0,5 m² – log₁₀-Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4, (n = 3)

rtu-QAV mit zusätzlichem Tränkvolumen	Vorgeschaltete Fläche	Benetzung Testfläche	Reduktion KbE auf T 1 (log ₁₀)*	AF auf T 2 – 4 (KbE/25 cm ²)**	
				Median (Spanne)	MW*
plus 2 ml	+0,5 m ²	intakt, feucht	3,6 ± 0,8	1 (1 – 1)	1 ± 0
plus 4 ml	+0,5 m ²	intakt, sattnass	4,6 ± 0,2	1 (1 – 1)	1 ± 0
WSH	0,63 m ²	intakt, sattnass	2,6 ± 0,2	197 (115 – >330)	289 ± 192

*Mittelwert ± Standardabweichung, **Akkumulationsfaktor auf den Testfeldern 2 – 4, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH).

3.2.4 Flüssigkeitsabgabe

Die verwendeten Tücher (F-H 2 % mit SCA-Tuch und rtu-QAV) wurden vor und nach dem Wischvorgang gewogen, um die abgegebene Flüssigkeitsmenge in ml/m² zu bestimmen (Tab. 29). Mit zunehmender Größe der Wischfläche nahm die pro Quadratmeter abgegebene Flüssigkeitsmenge ab. Das Produkt F-H 2 % mit SCA-Tuch gab im Vergleich zu Produkt rtu-QAV auf der Fläche des 4-Felder Tests (0,63 m²) die dreifache Menge an Flüssigkeit ab (1,94 ml/m² vs. 0,63 ml/m²). Die Erhöhung des Tränkvolumens von Prüfprodukt rtu-QAV führte zu einer Steigerung der 2,5fachen Menge der Wirkstofflösung auf der Testfläche im Vergleich zum Produkt rtu-QAV ohne Zusatzvolumen (1,27 ml/m² vs. 0,49 ml/m²). Auffällig war, dass bei der Kontrolle (WSH mit SCA-Wipe) auf allen Flächen deutlich weniger Flüssigkeit abgegeben wurde als bei dem Produkt F-H mit SCA-Tuch (0,96 ml/m² vs. 1,98/m² ml bei 0,63 m²).

Tab. 29: Freigesetzte Flüssigkeitsmenge der Prüfprodukte und von WSH bei Gebrauch des 4-Felder Tests in Abhängigkeit der Größe der Wischfläche, (n = 6)

vorge- schaltete Fläche	F-H (2 %) mit SCA- Wipe (ml/m ²)*	rtu-QAV (ml/m ²)*	rtu-QAV (ml/m ²)**		WSH mit SCA-Wipe (ml/m ²)*
			plus 2 ml	plus 4 ml	
0,63 m ²	1,94 ± 0,1	0,63 ± 0,06			0,96 ± 0,1
+0,5 m ²	-	0,49 ± 0,1	0,70 ± 0,03	1,27 ± 0,03	-
+1 m ²	0,69 ± 0,03	0,40 ± 0,04	-	-	0,39 ± 0,03
+2 m ²	0,50 ± 0,4	-	-	-	0,39 ± 0,1

*Mittelwert ± Standardabweichungen, **n = 3, Kontrolle: Wasser standardisierter Härte (WSH), Tränkvolumen für Produkt F-H und WSH: 16 ml.

3.3 Wirksamkeitsuntersuchung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte und einer Einzelsubstanz gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten im quantitativen Suspensionsversuch

Mit den vorliegenden Analysen sollte untersucht werden, ob DDAC- und ADBAC-basierte Flächendesinfektionsmittel und eine Einzelsubstanz (DDAC-Laborherstellung) gegenüber dem Testorganismus *P. aeruginosa* DSM 939 die gleiche bakterizide Wirksamkeit zeigen wie gegenüber anderen klinisch relevanten Gram-negativen Bakterien (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*) aus der Stammsammlung und gegenüber zwei 4MRGN-Umweltisolaten von *P. aeruginosa* und einem panresistenten Patientenisolat von *K. pneumoniae*. Dies sollte eine Aussage darüber ermöglichen, ob *P. aeruginosa* DSM 939 sich weiterhin als Surrogat-Organismus eignet. Die Untersuchungen mit der Einzelsubstanz (DDAC-Laborherstellung) hatten zum Ziel zu betrachten, ob das Verfahren der Wirksamkeitsprüfung durch das Mitführen einer Referenzsubstanz verbessert werden könnte.

3.3.1 Versuchsanordnung

Bei den Prüfprodukten wurden Konzentrationen unterhalb der gelisteten Wirksamkeit verwendet, um potenzielle Sensibilitätsunterschiede der Testorganismen zu ermitteln (Tab. 30). Zusätzlich wurde die minimale Hemmkonzentration (MIC) bestimmt (Tab. 31).

Tab. 30: Versuchsanordnung des quantitativen Suspensionsversuchs

Prüfprodukt	Wirkstoff	Wirksame Konzentration* (\triangleq Massekonzentration)	Getestete Konzentration
		5 min EWZ	5 min EWZ
F-A	DDAC	10 % (\triangleq 0,245 g/100 g Lösung)	1,0 – 1,5 – 2,5 %
F-B	ADBAC	1,0 % (\triangleq 0,16 g/100 g Lösung)	0,15 – 0,25 – 0,35 %
F-C	DDAC + ADBAC	7,5 % (\triangleq 0,249 g DDAC + \triangleq 0,5 ADBAC/ 100 g Lösung)	0,25 – 0,5 – 1,0 %
DDAC-Laborherstellung	DDAC	0,5 % (\triangleq 0,25 g/100 g Lösung)**	0,1 % (\triangleq 0,05 g/100 g)

*gemäß VAH-Liste (Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2018), **experimentell ermittelt, ADBAC: Alkyldimethylbenzylammoniumchlorid, DDAC: Didecyldimethyl-Ammoniumchlorid.

3.3.2 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MIC) von QAV

Der Vergleich der minimalen Hemmkonzentration von Produkt F-A, F-B und F-C für *P. aeruginosa* DSM 939 und den Umweltisolaten ergab, dass die Umweltisolate *P. aeruginosa* 0224 und *P. aeruginosa* 1052 bei den getesteten Konzentrationen im Vergleich zu *P. aeruginosa* DSM 939 noch Wachstum zeigten (Tab. 31). Für Produkt F-A bei 0,3 % und für Produkt F-C bei 0,04 %. Bei Produkt F-B war nur für *P. aeruginosa* 1052 noch bei 0,5 % Wachstum zu erkennen. Zu beachten ist, dass die im MIC-Versuch getesteten Konzentrationen weit unterhalb der als wirksam gelisteten Konzentrationen lagen.

Tab. 31: Minimale Hemmkonzentrationen dreier Flächendesinfektionsmittel für *P. aeruginosa* DSM 939 und zwei 4MRGN-Umweltisolaten von *P. aeruginosa*, (n = 3)

Testorganismus	Produkt F-A, Konzentration (%)		
	0,01	0,1	0,3
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	+	+	–
<i>P. aeruginosa</i> UKB 0224	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> UKB 1052	+	+	+

Testorganismus	Produkt F-B, Konzentration (%)		
	0,0025	0,025	0,5
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	+	–	–
<i>P. aeruginosa</i> UKB 0224	+	–	–
<i>P. aeruginosa</i> UKB 1052	+	+	+

Testorganismus	Produkt F-C (Konzentration (%))		
	0,025	0,03	0,04
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	+	+	–
<i>P. aeruginosa</i> UKB 0224	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> UKB 1052	+	+	+

+ = Wachstum, – = kein Wachstum.

3.3.3 Wirksamkeit von QAV gegenüber verschiedenen Gram-negativen Spezies aus der Stammsammlung

Produkt F-A (Tab. 32) war in allen getesteten Konzentrationen wirksam mit \log_{10} -Reduktionen > 5 gegenüber *K. pneumoniae*, *A. baumannii* und *S. marcescens*. Bei *P. aeruginosa* DSM 939 zeigte Produkt F-A bei diesen Konzentrationen mit \log_{10} -Reduktionen $\leq 3,0$ hingegen keine ausreichende Bakterizidie. Die Ausgangskonzentration N lag für *K. pneumoniae* leicht über und für *A. baumannii* und *S. marcescens* leicht unter dem Grenzwert für N ($1,5 - 5 \times 10^8$ KbE/ml).

Tab. 32: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A (1 %, 1,5 % und 2,5 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – \log_{10} -Reduktion der KbE, (n = 3)

Testorganismus	N (KbE/ml)	Konzentration Produkt F-A		
		1 %	1,5 %	2,5 %
		Reduktion KbE (\log_{10})*		
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	$3,7 \times 10^8$	$1,7 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,5$	$3,0 \pm 0,6$
<i>K. pneumoniae</i> DSM 30104	$6,3 \times 10^8$	$5,4 \pm 0,4$	$5,5 \pm 0,6$	$5,6 \pm 0,3$
<i>A. baumannii</i> ATCC 19568	$1,2 \times 10^8$	$5,7 \pm 0,2$	$5,7 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,2$
<i>S. marcescens</i> DSM 30121	$1,3 \times 10^8$	$5,8 \pm 0,4$	$5,6 \pm 0,6$	$6,0 \pm 0,2$

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, *Mittelwert \pm Standardabweichung.

DDAC-Laborherstellung (Einzelsubstanz, Tab. 33) war bei einer Konzentration von 0,5 % und 5 min EWZ bakterizid wirksam mit einer \log_{10} -Reduktion > 5 gegenüber *P. aeruginosa* DSM 939 und den *P. aeruginosa* Umweltisolaten 0224 und 1052. Bei 0,1 % waren Unterschiede zwischen den Testorganismen hinsichtlich der bakteriziden Wirksamkeit erkennbar: *P. aeruginosa* 0224 erwies sich als geringfügig toleranter mit einer \log_{10} -Reduktion von 1,9 als *P. aeruginosa* aus der Stammsammlung und als *P. aeruginosa* 1052 mit \log_{10} -Reduktionen von jeweils 2. Die eingesetzte Konzentration von 0,1 % entspricht einer Massekonzentration von 0,05 g DDAC/100 g Lösung.

Der Vergleich der bakteriziden Wirksamkeit von DDAC-Laborherstellung mit Produkt F-A zeigte folgendes auf: Mit Produkt F-A wurde bei 1,5 % gegenüber *P. aeruginosa* DSM ebenfalls eine \log_{10} -Reduktion von 2 erzielt (Tab. 32).

Die Konzentration von 1,5 % von Produkt F-A entspricht einer Massekonzentration von 0,04 g/100 g Lösung (Tab. 30). Dieser Vergleich zeigt, dass für DDAC-Laborherstellung 1,25-fach mehr Wirksubstanz eingesetzt wurden, um die gleiche \log_{10} -Reduktion gegenüber *P. aeruginosa* DSM zu erreichen wie beim kommerziellen Produkt F-A.

Tab. 33: Bakterizide Wirksamkeit von DDAC-Laborherstellung (0,5 % u. 0,1 %, 5 min EWZ) gegenüber *P. aeruginosa* DSM 939 und zwei *P. aeruginosa* 4MRGN-Umweltisolaten im quantitativen Suspensionsversuch - \log_{10} -Reduktion der KbE, (n = 3)

Testorganismus	Konzentration	DDAC-Laborherstellung	
		0,5 %	0,1 %
	N (KbE/ml)	Reduktion KbE (\log_{10})*	
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	$1,9 \times 10^8$	$> 5 \pm 0^{**}$	$2,0 \pm 0,1$
<i>P. aeruginosa</i> 0224 Umweltisolat	$2,9 \times 10^8$	$> 5 \pm 0^{**}$	$1,9 \pm 0,1$
<i>P. aeruginosa</i> 1052 Umweltisolat	$2,6 \times 10^8$	$> 5 \pm 0^{**}$	$2,0 \pm 0,0$

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, *Mittelwert \pm Standardabweichung, **keine KbE nachweisbar; 0,5 % \triangleq 0,25 g/100 g Lösung.

Produkt F-B (Tab. 34) war bei der Konzentration von 0,35 % nur gegenüber *K. pneumoniae* ausreichend bakterizid (\log_{10} -Reduktion > 5). Bei 0,25 % zeigten sich *P. aeruginosa*, *S. marcescens* und *K. pneumoniae* mit \log_{10} -Reduktionen $\leq 2,1$ deutlich toleranter gegenüber Produkt F-B als *A. baumannii* mit einer \log_{10} -Reduktion > 3 .

Bei der niedrigsten Konzentration von 0,15 % demonstrierte Produkt F-B sehr unterschiedliche bakterizide Aktivitäten gegenüber den DSM-Testorganismen: *A. baumannii* wurde um > 3 \log_{10} -Stufen reduziert und *P. aeruginosa* um 1,1 \log_{10} -Stufen. *S. marcescens* und *K. pneumoniae* zeigte sich bei 0,15 % hingegen als die tolerantesten Testorganismen mit \log_{10} -Reduktionen von jeweils < 1 . Zusammenfassend erwies sich *P. aeruginosa* nur bei einer Konzentration von 0,35 % als der toleranteste Testorganismus gegenüber Produkt F-B.

Tab. 34: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,15 %, 0,25 % und 0,35 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – log₁₀-Reduktion der KbE, (n = 3)

Testorganismus	N (KbE/ml)	Konzentration Produkt F-B		
		0,15 %	0,25 %	0,35 %
		Reduktion KbE (log ₁₀)*		
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	5,7 x 10 ⁸	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,8	2,8 ± 1,9
<i>K. pneumoniae</i> DSM 30104	2,8 x 10 ⁸	0,9**	1,0**	5,1**
<i>A. baumannii</i> ATCC 19568	1,6 x 10 ⁸	3,7 ± 1,5	3,7 ± 1,2	4,7 ± 0,8
<i>S. marcescens</i> DSM 30121	3,6 x 10 ⁸	0,7 ± 0,6	2,1 ± 0,7	4,4 ± 1,5

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, *Mittelwert ± Standardabweichung, **n = 1.

Produkt F-C (Tab. 35) war bei einer Konzentration von 1 % und 0,5 % ausreichend bakterizid wirksam gegenüber *A. baumannii*, *K. pneumoniae* und *S. marcescens* mit log₁₀-Reduktionen > 5. Bei 0,25 % traten Unterschiede zwischen den Spezies auf: Gegenüber *A. baumannii* und *S. marcescens* war ausreichende Bakterizidie detektierbar; gegenüber *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* war hingegen keine vollständige bakterizide Wirkung von Produkt C mehr zu verzeichnen. Insgesamt erwies sich *P. aeruginosa* gegenüber Produkt F-C bei allen Konzentrationen als der toleranteste Testorganismus (log₁₀-Reduktionen ≤ 2,8).

Tab. 35: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – log₁₀-Reduktion der KbE, (n = 3)

Testorganismus	N (KbE/ml)	Konzentration Produkt F-C		
		0,25 %	0,5 %	1 %
		Reduktion KbE (log ₁₀)*		
<i>P. aeruginosa</i> DSM 939	6,3 x 10 ⁸	1,3 ± 0,5	1,9 ± 0,8	2,8 ± 0,7
<i>K. pneumoniae</i> DSM 30104	2,8 x 10 ⁸	2,3 ± 1,4	5,3 ± 0,8	5,7 ± 0,5
<i>A. baumannii</i> ATCC 19568	1,6 x 10 ⁸	5,2 ± 1,1	5,9 ± 0,2	6,0 ± 0,1
<i>S. marcescens</i> DSM 30121	3,6 x 10 ⁸	5,9 ± 0,1	5,9 ± 0,1	5,9 ± 0

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, *Mittelwert ± Standardabweichung.

3.3.4 Wirksamkeit von QAV gegenüber *P. aeruginosa* 4MRGN-Umweltisolaten und einem panresistenten *K. pneumoniae* Patientenisolat

Beim Vergleich der bakteriziden Wirksamkeit der drei Prüfprodukte (Tab. 36) gegenüber *P. aeruginosa* DSM und den Krankenhausisolaten waren die \log_{10} -Reduktionen der KbE beider 4MRGN-Umweltisolate niedriger als beim *P. aeruginosa*-DSM-Stamm und beim panresistenten Patientenisolat von *K. pneumoniae*. Der Vergleich der beiden Umweltisolate zeigt auf, dass die Reduktion der KbE bei *P. aeruginosa* 1052 niedriger war als bei *P. aeruginosa* 0224. Nur beim panresistenten Patientenisolat von *K. pneumoniae* zeigten die Prüfprodukte F-A und F-C volle Bakterizidie, außer für Produkt F-C bei 0,25 %.

Tab. 36: Bakterizide Wirksamkeit der Produkte F-A, F-B, F-C (je 5 min EWZ) bei verschiedenen Konzentrationen gegenüber *P. aeruginosa* DSM 939, zwei *P. aeruginosa* Umweltisolaten und einem panresistenten *K. pneumoniae* Patientenisolat – \log_{10} -Reduktion der KbE im quantitativen Suspensionsversuch, (n = 3)

		Testorganismen		
		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>
	DSM 939	Umweltisolat 0224 4MRGN	Umweltisolat 1052 4MRGN	Patientenisolat PAN
N (KbE/ml)	$5,7 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$0,3 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$
Produkt F-A	Reduktion KbE (\log_{10})*			
2,5 %	$3,0 \pm 0,6$	$2,4 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,6$	6,1**
1,5 %	$2,0 \pm 0,5$	nd	nd	6,1**
1,0 %	$1,7 \pm 0,3$	nd	nd	6,1**
Produkt F-B	Reduktion KbE (\log_{10})*			
0,35 %	$2,8 \pm 1,9$	1,4**	0,8**	nd
0,25 %	$1,5 \pm 0,8$	0,6**	0,8**	nd
0,15 %	$1,1 \pm 0,2$	0,9**	0,8**	nd
Produkt F-C	Reduktion KbE (\log_{10})*			
1,0 %	$2,8 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,6$	$5,6 \pm 0,4$
0,5 %	$1,9 \pm 0,8$	$1,0 \pm 0$	$1,2 \pm 0$	$5,1 \pm 0,7$
0,25 %	$1,3 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0$	$0,5 \pm 0$	$2,8 \pm 1,5$

N: Ausgangskonzentration der Prüfsuspension, nd: nicht durchgeführt, *Mittelwert \pm Standardabweichung, **n = 1.

3.3.5 Signifikanzberechnungen

Für die Analyse potenzieller signifikanter Unterschiede der bakteriziden Wirkung der Desinfektionsmittel gegenüber den untersuchten Testorganismen wurden die bereits dargestellten \log_{10} -Werte verwendet.

Produkt F-A – DSM-Spezies-Vergleich: Berechnungen mit dem Kruskal-Wallis-H Test ergaben, dass sich die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* und *S. marcescens* unter dem Einfluss von Produkt F-A bei 1 %, 1,5 % und 2,5 % und 5 min EWZ hoch-signifikant unterschieden ($H(3) = 26,54$; $p < 0,001$).

Post-hoc-Paarvergleiche zeigten jedoch, dass nur die \log_{10} -Reduktionen zwischen *P. aeruginosa* und den drei Vergleichsorganismen hoch-signifikant verschieden waren (*P. aeruginosa* vs. *K. pneumoniae*: $z = 2,69$; $p = 0,043$, *P. aeruginosa* vs. *A. baumannii*: $z = 3,57$; $p = 0,002$, *P. aeruginosa* vs. *S. marcescens*: $z = 4,92$; $p < 0,001$). Zwischen der \log_{10} -Reduktion der drei Vergleichsorganismen untereinander bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede (Abb. 15).

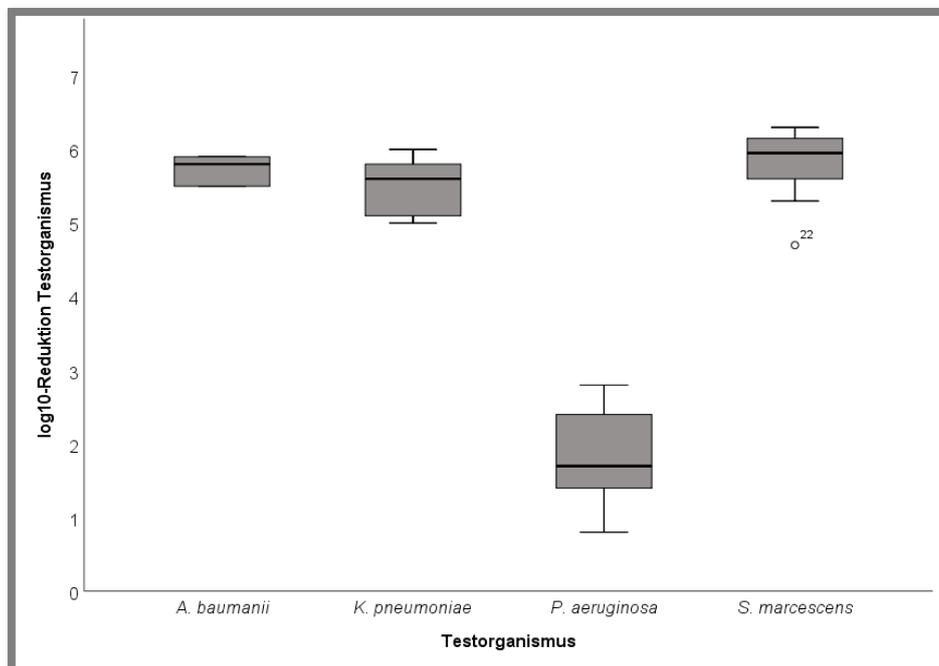


Abb. 15: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A bei 1 %, 1,5 % und 2,5 % (5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststämme im quantitativen Suspensionsversuch.

Produkt F-B – DSM-Spezies-Vergleich: Der Kruskal-Wallis-H Test zeigt auf, dass sich die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* und *S. marcescens* aus der Stammsammlung unter dem Einfluss von Produkt F-B (0,15 %, 0,25 % und 0,35 % EWZ: 5 min) nicht signifikant voneinander unterschieden ($H(3) = 5,46$; $p = 0,141$; Abb. 16).

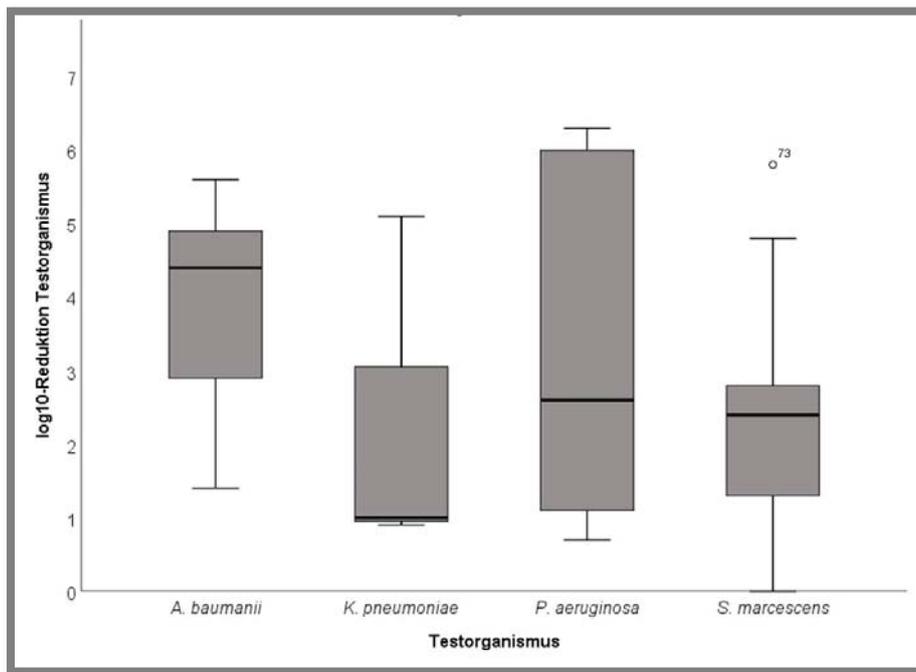


Abb. 16: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,15 %, 0,25 % und 0,35 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststämme im quantitativen Suspensionsversuch.

Produkt F-C – DSM-Spezies-Vergleich: Die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* und *S. marcescens* aus der Stammsammlung unterschieden sich unter dem Einfluss von Produkt F-C (1 %, 0,5 % und 0,25 % EWZ: 5 min) hochsignifikant ($H(3) = 31,35$; $p < 0,001$, Kruskal-Wallis-H Test).

Die Post-hoc-Paarvergleiche ergaben ebenfalls hochsignifikante Unterschiede bei der \log_{10} -Reduktion von *P. aeruginosa* gegenüber *A. baumannii* ($z = 3,72$; $p = 0,002$) und *S. marcescens* ($z = 4,13$; $p < 0,001$). Bei allen anderen Paarungen inklusive *P. aeruginosa* vs. *K. pneumoniae* traten keine signifikanten Unterschiede auf (Abb. 17).

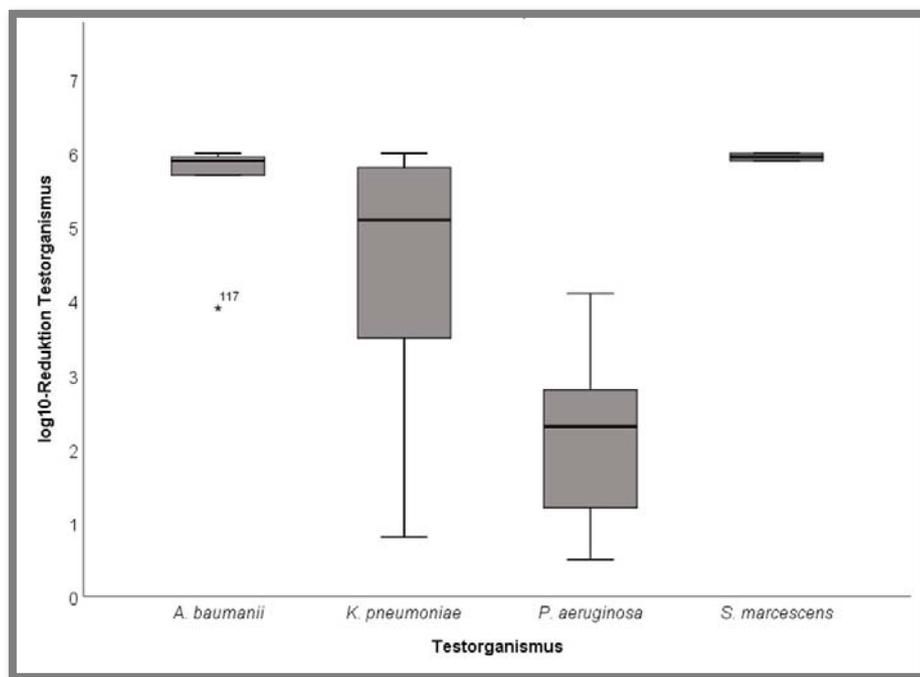


Abb. 17: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststäme im quantitativen Suspensionsversuch.

Produkt F-A – Vergleich von *P. aeruginosa* DSM 939 mit Patienten- und Umweltisolaten (Abb. 18): Die Analyse mit dem Kruskal-Wallis-H Test ergab, dass sich die \log_{10} -Reduktionen vom panresistenten *K. pneumoniae* Patientenisolat und *P. aeruginosa* DSM 939 bei Produkt F-A (bei 2,5 %, 1,5 % und 1,0 % und 5 min EWZ) hoch-signifikant unterscheiden ($H(1) = 6,95$; $p = 0,008$).

Hingegen war hinsichtlich der \log_{10} -Reduktionen zwischen *P. aeruginosa* DSM 939 und den Umweltisolaten *P. aeruginosa* 0224 und *P. aeruginosa* 1051 bei Produkt F-A kein signifikanter Unterschied feststellbar.

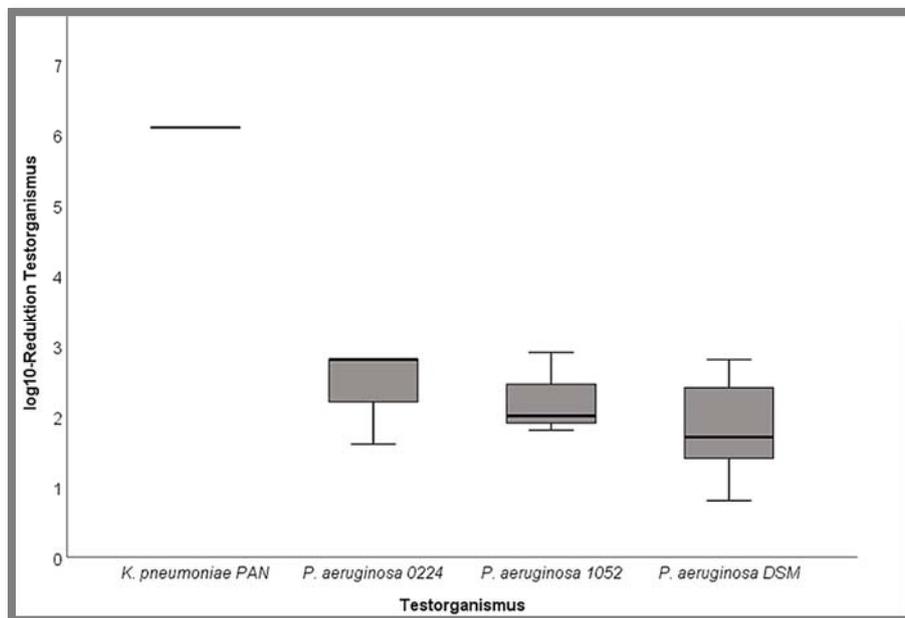


Abb. 18: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A (2,5 %, 1,5 % und 1,0 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 mit zwei 4 MRGN *P. aeruginosa* Umweltisolaten und einem panresistenten *K. pneumoniae* Patientenisolat im quantitativen Suspensionsversuch.

Produkt F-B – Vergleich von *P. aeruginosa* DSM 939 mit Umweltisolaten (Abb. 19): Berechnungen mit dem Kruskal-Wallis-H Test ergaben, dass sich die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 und der Umweltisolate *P. aeruginosa* 0224 und 1051 bei Produkt F-B (bei 0,35 %, 0,25 % und 0,15 % und 5 min EWZ) nicht signifikant voneinander unterscheiden mit $H(2) = 1,72$; $p = 0,424$.

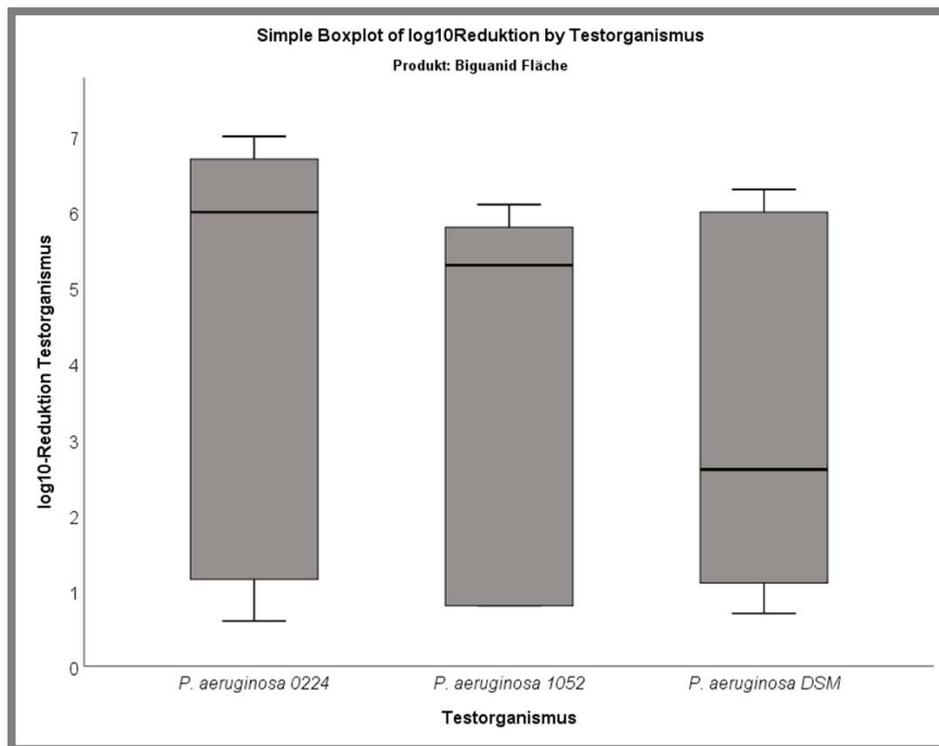


Abb. 19: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,35 %, 0,25 % und 0,15 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 mit zwei 4MRGN *P. aeruginosa* Umweltisolaten im quantitativen Suspensionsversuch.

Produkt F-C – Vergleich von *P. aeruginosa* DSM 939 mit Umweltisolaten und Patientenisolat (Abb. 20): Laut Kruskal-Wallis-H unterschieden sich die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 und den Umweltisolaten *P. aeruginosa* 0224, *P. aeruginosa* 1052 und *K. pneumoniae* PAN unter dem Einfluss von F-C (bei 1,0 %, 0,5 % und 0,25 % und 5 min EWZ) hoch-signifikant voneinander ($H(3) = 14,51$; $p = 0,002$). Die Post-hoc-Paarvergleiche ergaben lediglich einen hoch-signifikanten Unterschied zwischen *P. aeruginosa* DSM 939 und *K. pneumoniae* PAN ($z = 3,77$; $p = 0,001$).

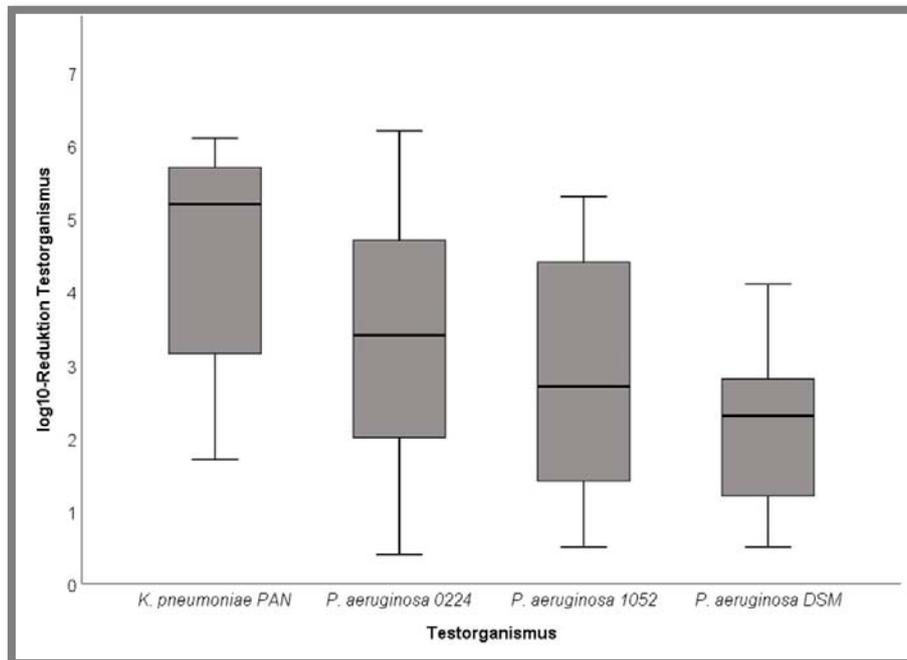


Abb. 20: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1,0 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 mit zwei 4MRGN *P. aeruginosa* Umweltisolaten und einem panresistenten *K. pneumoniae* Patientenisolat im quantitativen Suspensionsversuch.

4 Diskussion

Die Flächendesinfektion unter Verwendung von Tuchtränkesystemen oder fertig konfektionierten Desinfektionstüchern stellt ein wichtiges Instrument zur Infektionsprävention im Gesundheitswesen dar. Für die Überprüfung der Wirksamkeit von Flächendesinfektionsmitteln ist es wichtig, auf praxisnahe Verfahren zurückzugreifen. Auf europäischer Ebene hat sich mit dem 4-Felder Test (DIN EN 16615) eine seit 2015 normierte Methode zur Überprüfung der bakteriziden und levuroziden Wirksamkeit von Flächendesinfektionsmitteln etabliert (Deutsches Institut für Normung, 2015). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Fragen im Kontext der Wirksamkeitsprüfung von Flächendesinfektionsmitteln untersucht.

4.1 Vergleich des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode

Neben dem 4-Felder Test stellt insbesondere die in den Vereinigten Staaten entwickelte Wiperator-Methode ein Verfahren zur Prüfung der bakteriziden Wirkung von Flächendesinfektionsprodukten dar. Beide Verfahren erlauben aufgrund der ermittelten \log_{10} -Reduktionen der Testorganismen qualifizierte Aussagen darüber, ob ein Desinfektionsprodukt unter den Bedingungen der jeweiligen Methode als bakterizid wirksam einzustufen ist oder nicht. Beim 4-Felder Test handelt es sich um ein manuelles Verfahren, bei der Wiperator-Methode hingegen um einen automatisierten Ablauf; zudem variiert in beiden Methoden der zum Einsatz kommende Modus des Wischvorgangs: Beim 4-Felder Test wird die Oberfläche mit Hin-und-Her-Bewegungen abgewischt, während beim Wiperator-Verfahren kreisförmige Bewegungen und somit laut Edwards et al. (2019) dynamischere Prozesse zur Anwendung kommen. Zusätzlich unterscheiden sich die Methoden in der Auswahl des Standardtuchs, in der Dauer des Wischvorgangs, im Anpressdruck, in der Größe der Wischfläche und in ihren einzelnen Leistungskriterien (Kap. 3.1.1, Tab. 16).

Generell lässt sich feststellen, dass der 4-Felder Test das in der Praxis übliche Verfahren durch die horizontale Bewegungsrichtung, den tatsächlich ausgeübten Druck und die deutlich kürzere Dauer des Wischvorgangs besser widerspiegelt. Sattar et al. (2015) nannten hingegen als Schwachpunkt des 4-Felder Tests die Unkontrollierbarkeit des

Wischvorgangs, was auf den manuellen Teil der Methode zurückzuführen ist. Im Gegensatz dazu erreicht der Wiperator aufgrund des automatisierten Wischvorgangs und der exakt wiederholbaren Wischbewegung eine höhere Präzision. Der beim Wiperator während des Wischvorgangs ausgeübte Druck entspricht aber kaum den Praxisbedingungen (Kenters et al., 2017). Andererseits lassen sich bei manuellen Verfahren wie dem 4-Felder Test die Kontrolle von in der Praxis auftretenden Variablen (wie Anpressdruck oder Dauer der Wischbewegung) nicht in gleicher Genauigkeit kontrollieren (Bloomfield et al., 2017). Die beiden Methoden zeigten in der vorliegenden Untersuchung einen statistisch signifikanten Unterschied hinsichtlich der \log_{10} -Reduktion für *P. aeruginosa* und einen hoch signifikanten Unterschied für *S. aureus* unter WSH (s. Kap. 3.1.4, Tab. 21). Zudem belegen die Befunde, dass das verwendete Standardtuch in Verwendung mit dem 4-Felder Test oder dem Wiperator zu unterschiedlichen Ergebnissen führte: Das Prüfprodukt F-H (1 %) zeigte bei beiden Methoden nur in Kombination mit dem SCA-Wipe, nicht hingegen mit dem J-Cloth eine ausreichende bakterizide Wirkung (s. Kap. 3.1.3, Tab. 19). Insgesamt trat bei Gebrauch der Wiperator-Methode tendenziell eine stärkere Reduzierung der KbE unter Verwendung von Desinfektionsprodukten auf (s. Kap. 3.1.3, Tab. 18–20). Dieses Ergebnis dürfte in erster Linie auf den deutlich höheren Anpressdruck zurückzuführen sein. Zusätzlich trägt die dynamische Wischbewegung (kreisend auf einer Stelle) aufgrund der auftretenden Scher- und Druckkräfte zu diesem Effekt bei (Edwards et al., 2019). Diese Kräfte helfen, die Bakterien von der Oberfläche zu lösen und auf das Wischtuch zu übertragen. Offensichtlich entfalten bei der beim 4-Felder Test zum Einsatz kommenden Technik diese Kräfte eine geringere Wirkung (Edwards et al., 2019).

Bei *P. aeruginosa* als Testorganismus kam es zu einer Abnahme der KbE während der Antrocknung des Inokulums (s. Kap. 3.1.2, Tab. 17). Diese Beobachtungen treten in Übereinstimmung mit den Aussagen von Kenters et al. (2017) insbesondere beim 4-Felder Test hervor. Unter diesem Gesichtspunkt wäre die Wiperator-Methode bei Verwendung von *P. aeruginosa* als Testmethode vorzuziehen, da aufgrund der kleineren Inokulummenge (Faktor 5) die Trocknungszeit verkürzt werden kann.

In der vorliegenden Untersuchung war der KbE-Verlust während der Trocknung mit der Wiperator-Methode auch bei der EWZ von 15 min zu hoch. Bei 5 min EWZ wurden hingegen ausreichend Zellen ($> 6,88 \log_{10}$, s. Kap. 3.1.2, Tab. 17) zurückgewonnen. Eine geeignete Möglichkeit, den Trocknungsverlust von *P. aeruginosa* bei der Verwendung des

4-Felder Tests zu verhindern, würde darin bestehen, das Inokulum von 50 µl als 16 kleine Einzelportionen aufzutragen und gleichmäßig flächendeckend zu verteilen. Durch diese Auftragsart kann der Trocknungsverlust der KbE um 1 log₁₀ Stufe vermindert werden. Diese Ergebnisse wurden im Rahmen eines Posters beim DGKH-Kongress 2016 präsentiert (Jacobshagen et al., 2016).

Zusammenfassend belegen die vorliegenden Experimente die Eignung des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode zur Überprüfung der Wirksamkeit eines Flächendesinfektionsmittels. Der 4-Felder Test ist für unterschiedliche Flächendesinfektionsprodukte (Testprodukt mit Wischtuch, Tuchspendersysteme, rtu-Wipes) geeignet, während der Wiperator nur für rtu-Wipes konzipiert wurde. Kenters et al. (2017) empfahlen sogar die parallele Verwendung beider Methoden, „um zuverlässige Daten und sichere Produkte zu generieren“. Aus Sicht der Autorin wäre der 4-Felder Test zu favorisieren, weil diese Methode die tatsächlichen Gegebenheiten in der Praxis besser widerspiegelt (Jacobshagen et al., 2020).

4.2 Untersuchungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsprodukten unter Berücksichtigung der Größe der Fläche

In Gesundheitseinrichtungen werden Desinfektionstücher in Form von Tuchtränkesystemen oder vorbenetzt konfektionierten Tüchern zur Desinfektion von Oberflächen eingesetzt. Viele Anwender bevorzugen die weniger feuchten gebrauchsfertigen Tücher, weil die Handhabung tropfnasser Tücher unkomfortabel ist und zu längeren Trocknungszeiten führt (Sattar und Maillard, 2013). Für die sichere Anwendung von Desinfektionstüchern ist es jedoch unbedingt erforderlich, dass eine genügend große Menge des mikrobiellen Wirkstoffs auf die zu desinfizierende Fläche aufgetragen wird. Bereits 2004 formulierte die KRINKO besondere Anforderungen an die Flächendesinfektion: „Lediglich nebelfeuchtes Wischen oder Feuchtreinigen führt nicht zu einer ausreichenden Benetzung“ (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention, 2004). Derzeit fehlen aber standardisierte Kriterien für die Festlegung einer hinreichenden Anfeuchtung der Fläche sowie belastbare Daten, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Flächengröße und der Reduktionsleistung eines Desinfektionstuchs aufzeigen, so dass die Anwender nicht prüfen können, ob die gegenwärtig im Handel

befindlichen Tuchsyste me die obigen Anforderungen tats ächlich auch erf üllen. Anhand der hier vorgestellten Untersuchungen konnte ein hoher signifikanter Zusammenhang zwischen Fl ächengr ö ß e und den \log_{10} -Reduktionswerten von *S. aureus* bei Verwendung der beiden Prüfprodukte F-H (2 %) und rtu-QAV aufgezeigt werden (s. Kap. 3.2.2, Tab. 25–27). Bei differenzierterer Betrachtung wurde eine negative lineare Relation zwischen der Fl ächengr ö ß e und der Verringerung der koloniebildenden Einheiten von *S. aureus* deutlich: Je gr ö ß er die desinfizierte Fl äche, desto geringer war die bakterielle Wirksamkeit des verwendeten Prüfproduktes (s. Kap. 3.2.2, Abb.13 und Abb. 14). Diese Ergebnisse decken sich mit den von West et al. (2018) ermittelten Daten, die ebenfalls eine negative Korrelation zwischen der Gr ö ß e der desinfizierten Fl äche und dem bakteriziden Effekt eines Desinfektionsproduktes feststellen konnten. In diesem Kontext sei auch auf den offenkundigen Zusammenhang zwischen Reduktionsleistung und dem Volumen des eingesetzten Prüfproduktes verwiesen, denn die Verringerung der KbE von *S. aureus* war auf derjenigen Fl äche am h ö chsten, auf welcher der meiste mikrobielle Wirkstoff pro Fl äche abgegeben wurde (Prüfprodukts F-H 2 %: 1,94 ml/0,63 m² [Tab. 29] und \log_{10} -Reduktion > 5 [Tab. 23]). Gleichzeitig f ührt der umgekehrte Fall, eine nicht ausreichende Wirkstoffmenge auf der Fl äche zu einer ungen ü genden bakteriziden Wirkung auf Testfeld 1. Dies resultiert in der Zunahme der Verteilung der Testorganismen auf die Testfelder 2–4 (Tab. 23). Auf den Zusammenhang zwischen Desinfektionserfolg und Volumen wurde auch von Gebel et al. (2019) hingewiesen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich die Wirksamkeit der Prüfprodukte bei steigender Wischfl äche reduzierte, wobei dieser Effekt wesentlich deutlicher bei den fertig konfektionierten Desinfektionst üchern (Produkt rtu-QAV) zum Tragen kam (s. Kap. 3.2.2, Abb.13 und Abb. 14). In der praktischen Anwendung best ü nde somit die Gefahr der Verschleppung von Mikroorganismen bei Verwendung zu trockener T ücher oder der Desinfektion von zu gr ö ß en Fl ächen mit einem Desinfektionstuch. Das Problem der Verteilung der mikrobiellen Erregerlast wurde von Ramm et al. (2015) best ätigt.

Ein grundlegendes Ergebnis aus den Experimenten ist, dass die Unversehrtheit des Benetzungsfilms allein noch keinen ausreichenden R ückschluss auf eine ausreichende bakterizide Wirkung der beiden Prüfprodukte zul ässt. Die Oberfl äche muss bei intaktem Benetzungsfilm gleichzeitig sattnass sein: Obwohl auf allen Fl ächen ein optisch intakter

Benetzungsfilm erkennbar war, fehlte bei Produkt F-H auf der Fläche von 2 m² eine ausreichende bakterizide Wirkung für *S. aureus*. Erkennbar war hier, dass die Flächen nicht mehr sattnass, sondern nur nebelfeucht waren (Tab. 23). Ebenso wurde bei Produkt rtu-QAV bei der vom Hersteller vorgegebenen EWZ trotz eines intakten Benetzungsfilms für *S. aureus* die geforderte Reduktion der KbE (5 log₁₀-Stufen) ab einer Fläche ≥ 0,5 m² nicht mehr erreicht. Nach dem Wischvorgang war die Testfläche nur noch nebelfeucht. (Tab. 24). Zwar konnte in der vorliegenden Studie durch eine zusätzliche Trängung mit 4 ml von Produkt rtu-QAV mit der mikrobiziden Wirkstofflösung (Produkt rtu-QAV-Liquid) bei sattnassem und intaktem Benetzungsfilm der bakterizide Effekt auf Testfeld 1 zwar verbessert werden (auf 4,6 log₁₀-Stufen), aber das Kriterium für eine ausreichende Bakterizidie (Reduktion ≥ 5 log₁₀-Stufen) wurde nicht erzielt (Tab. 28). Hinsichtlich der Verteilung der Testorganismen auf die Testfelder 2 – 4 wurde bei zusätzlicher Tränkmenge hingegen das Akzeptanzkriterium für den Akkumulationsfaktor erreicht. Dieses Ergebnis demonstriert, dass die Reichweite eines Tuches u.a. vom Tränkvolumen abhängt und gebrauchsfertige Tücher (insbesondere bei längerer Lagerung) zu trocken sein könnten. Gleichzeitig weisen die Ergebnisse darauf hin, dass im Grenzbereich der Wirksamkeit das Kriterium einer sattnassen Oberfläche bei rtu-Produkten nicht ausreichen könnte. Andere Untersuchungen belegen ebenfalls, dass die Reichweite eines Tuches sowohl vom jeweiligen Wirkstoff als auch dem Tuchmaterial, der Tuchgröße und dem Tränkvolumen abhängen (Exner, 2007; Peters et al., 2011; Schweins et al., 2015). Dies macht auch deutlich, wie wichtig es ist, dass bei rtu-Produkten die Kombination von Tuch und Wirkstofflösung geprüft werden (Desinfektionsmittelkommission im VAH, 2013).

Bei den vorliegenden Experimenten konnte beobachtet werden, dass die mit Prüfprodukt F-H (QAV-basiert) getränkten SCA-Tücher die doppelte Menge an Flüssigkeit abgaben als mit WSH-getränkte SCA-Tücher (s. Kap. 3.2.4, Tab. 29). Eine Erklärung liefern die Wechselwirkungen zwischen dem Zellstoff der Tücher und dem hier verwendeten mikrobiziden Wirkstoff QAV. Seit Mitte der 1950er Jahre wird diskutiert, dass Zellulose QAV aus Desinfektionslösungen durch ionische Wechselwirkungen absorbiert (Goldsmith et al., 1954). Aktuelle Forschungen bestätigen diese These. Daher setzen die Hersteller in der Regel Hilfsstoffe ein, um die Freisetzung der QAV aus dem Wischtuch zu erhöhen

(Hincliffe et al., 2018). Die Hilfsstoffe könnten ein Grund sein, warum die mit QAV-Lösung getränkten SCA-Tücher im Vergleich zu den mit reinem WSH getränkten Tüchern deutlich mehr Flüssigkeit freigesetzt haben.

Verschiedene Studien setzen sich mit dem Zusammenhang zwischen einer nassen Oberfläche und dem Desinfektionserfolg auseinander. Laut Havill (2013) ist die Nasskontaktzeit entscheidend für den Desinfektionserfolg; West et al. (2019) widersprechen indes einem solchen Zusammenhang. Die vorliegenden Ergebnisse liefern eine Präzisierung und Relativierung dieser aktuell vorherrschenden Positionen: Ein visuell intakter Benetzungsfilm auf der Oberfläche lässt allein noch keinen Rückschluss auf einen Desinfektionserfolg zu und kann somit nicht als verlässliche Größe für die bakterizide Wirkung eines Desinfektionsproduktes angesehen werden. Die Oberfläche sollte zugleich sattnass sein, allerdings ist auch dieses Kriterium bei rtu-Produkten kritisch zu betrachten. Insofern wäre es dringend geboten, dass die Hersteller von Produkten für die Flächendesinfektion Mindestangaben zur Reichweite eines Tuches formulieren. Ganz besonders gilt diese Forderung für fertig konfektionierte Desinfektionstücher und für Risikobereiche des Krankenhauses, denn hier können bereits geringe Bakterienzahlen (10^2) bei vulnerablen Patienten für eine Infektion ausreichen (s. Kap. 1.2.4, Tab. 5). Eine praktikable Methode, wie Hersteller den Nachweis der Desinfektionsleistung (m^2/Tuch) führen können, wurde von Werner et al. (2018) vorgestellt.

Eine weitere wesentliche Erkenntnis aus den Untersuchungen mit dem 4-Felder Test ist der Nachweis der Entfernung von *S. aureus* und *P. aeruginosa* mit einem WSH getränktem SCA-Tuch von $> 2\text{-log}_{10}$ -Stufen auf Testfeld 1, allerdings kommt es hier zur Verschleppung der Bakterien ins Umfeld (mit Einzelzählungen von $> 330 \text{ KbE}/25\text{cm}^2$, s. Kap. 3.2.2 Tab. 23). Daten aus der aktuellen Literatur bestätigen die hier ermittelten Befunde: Edwards et al. (2017) demonstrierten, dass Gram-positive und Gram-negative Bakterien während eines Wischvorgangs auch ohne Biozid oder Reinigungsmittel von der Oberflächen entfernt werden indem sie an den Fasern des Wischtuchs haften bleiben. Ebenso zeigten Experimente von Tuladhar et al. (2012) und Ali et al. (2012), dass durch Wischen mit einem Tuch mit Wasser und Seife die Anzahl der Bakterien um eine log_{10} -Stufe bzw. $> 3 \text{ log}_{10}$ -Stufen reduziert werden konnte. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen somit die häufig geäußerte Argumentation, Desinfektionsmittel im häuslichen

Umfeld nicht ohne besondere medizinische Indikation anzuwenden (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2014; Pieper et al., 2014). Allerdings ist auch bei Reinigungsmaßnahmen im Haushalt die Verteilung von Bakterien ins Umfeld und die Kontamination des Putzwassers durch das Auswaschen des Wischtuches zu berücksichtigen und häufiges Wechseln der Reinigungsutensilien ratsam.

4.3 Wirksamkeitsprüfung QAV-basierter Flächendesinfektionsprodukte gegenüber Gram-negativen DSM-Spezies und multiresistenten Gram-negativen Krankenhausisolaten

Flächendesinfektionsmaßnahmen spielen eine Schlüsselrolle bei der Prävention von Infektionen mit mehrfach-resistenten Gram-negativen Erregern (Kenters et al., 2018). Gleichzeitig wird seit Jahren diskutiert, dass der verbreitete Einsatz von Bioziden nicht nur zu einer verminderten Wirksamkeit dieser Verbindungen gegenüber Bakterien führt, sondern darüber hinaus auch zur Ausbildung von Antibiotikaresistenzen beitragen kann (Meyer und Cookson, 2010; Russell, 2000; 2003). Die Ursachen für die Toleranzentwicklung von Bakterien gegenüber Bioziden und gleichzeitigem Wirksamkeitsrückgang von mikrobiziden Wirkstoffen sind vielfältig (Abb. 21).

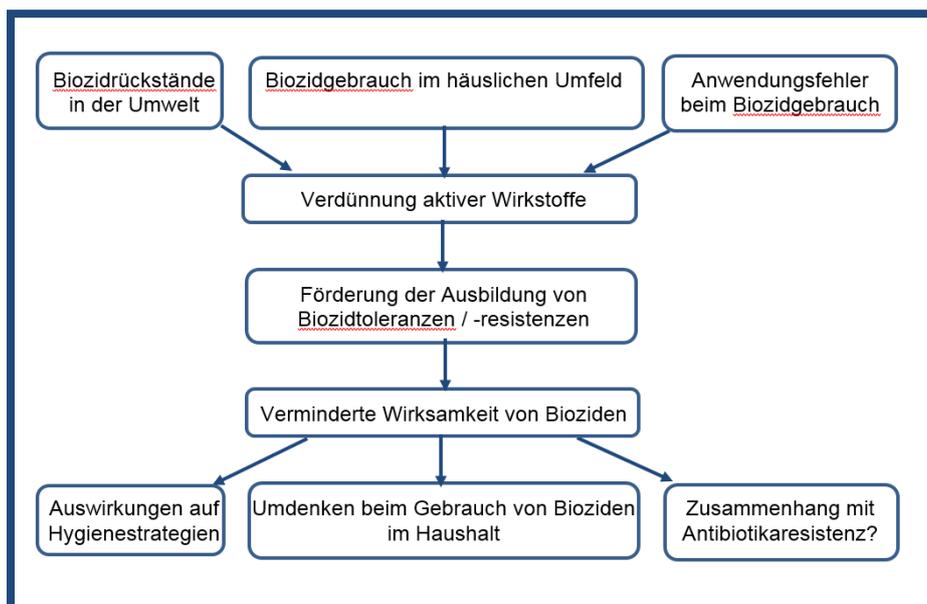


Abb. 21: Ursachen für die reduzierte Wirksamkeit von Bioziden (modifiziert nach Russell, 2003).

Zu den wesentlichen Faktoren zählen Rückstände mikrobizider Substanzen in der Umwelt (s. 1.5.5) oder fehlerhafte Anwendungen von Desinfektionsmaßnahmen (z. B. durch zu niedrige Biozidkonzentrationen oder falsch gewähltes Wirkspektrum). Flächendesinfektionsmittel enthalten häufig QAV, deren Verwendung aufgrund einer vermuteten Wirkungslücke gegenüber Gram-negativen Bakterien zunehmend kritisch diskutiert wird (s. Kap. 1.5.5; Kampf, 2018b). Der übermäßige Gebrauch QAV-haltiger Desinfektionsmittel kann darüber hinaus zu einer Selektion von Gram-negativen Spezies führen, wie Webster et al. (1994) am Beispiel eines Ausbruchsgeschehens beschreiben.

Mit der vorliegenden Untersuchung sollte daher evaluiert werden, ob es einen Unterschied bezüglich der bakteriziden Wirksamkeit QAV-basierter Desinfektionsmittel gegenüber *P. aeruginosa* DSM 939 (Surrogat-Organismus) im Vergleich zu anderen DSM-Spezies (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*) und gegenüber multiresistenten Gram-negativen Stäbchenbakterien (zwei Umwelt- und einem Patientenisolat) gibt. Im Ergebnis sollte eine Aussage getroffen werden können, ob sich *P. aeruginosa* DSM 939 weiterhin als Surrogat für die Wirksamkeitsprüfung bei der Flächendesinfektion eignet. Da bei diesen Experimenten nicht die gutachterliche Prüfung von Desinfektionsmitteln im Vordergrund stand, sondern vielmehr eine Aussage zu den Sensitivitätsunterschieden zwischen den verwendeten Organismen getroffen werden sollte, wurden hier Konzentrations-Zeit-Relationen gewählt, die um mind. das 10fache unterhalb der eigentlichen Wirksamkeit lagen. Viele QAV-basierte Flächendesinfektionsmittel enthalten DDAC und ADBAC als mikrobizide Substanzen, deshalb wurde neben drei kommerziell erhältlichen QAV-basierten Formulierungen auch der Einzelwirkstoff DDAC in die Untersuchung aufgenommen.

Die vorliegenden Ergebnisse des DSM-Spezies-Vergleichs belegen die Eignung von *P. aeruginosa* DSM 939 als Surrogat-Organismus zur Bestimmung der bakteriziden Aktivität von QAV-basierten Flächendesinfektionsmitteln gegenüber anderen Gram-negativen Bakterien, denn die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 waren im Vergleich zu den Werten der anderen DSM-Spezies bei Produkt F-A und F-C durchweg signifikant niedriger (s. Kap. 3.3.5, Abb. 15 und 17). Nur für Produkt F-B (Abb. 16) war kein signifikanter Unterschied zwischen den \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 und den anderen Isolaten aus der Stammsammlung erkennbar. Der Vergleich mit

den zwei 4-MRGN Umwelt- und einem panresistenten Patientenisolat ergab ein differenziertes Bild: Gegenüber dem panresistenten Patientenisolat von *K. pneumoniae* waren die \log_{10} -Reduktionen von *P. aeruginosa* DSM 939 bei den Produkten F-A und F-C signifikant niedriger (s. Kap. 3.3.5, Abb. 18 und 20). Die \log_{10} -Reduktionen der Umweltisolate (*P. aeruginosa* 0224 und 1052) waren in der Einzelbetrachtung etwas niedriger als bei *P. aeruginosa* DSM 939, jedoch konnte hieraus kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der \log_{10} -Reduktionen aufgezeigt werden. Das Patientenisolat *K. pneumoniae* ließ sich bei Konzentrationen unterhalb der empfohlenen wirksamen Konzentration der Produkte F-A und F-C bei einer EWZ von 5 min im quantitativen Suspensionsversuch nicht mehr nachweisen (s. Kap. 3.3.4, Tab. 36). Dies weist darauf hin, dass die Antibiotika-Panresistenz dieses Testorganismus nicht zu einer erhöhten Toleranz gegenüber den hier verwendeten QAV-basierten Flächendesinfektionsmitteln geführt hat. Limitiert wird die Aussagekraft der Ergebnisse allerdings durch die geringere Anzahl vorgenommener Untersuchungen.

Der Vergleich der bakteriziden Wirksamkeit von DDAC-Laborherstellung (Einzelsubstanz) und Produkt F-A gegenüber *P. aeruginosa* DSM 939 und den 4MRGN-Umweltisolaten ergab, dass mit der Einzelsubstanz die gleiche bakterizide Wirkung wie bei Produkt F-A – nämlich eine \log_{10} -Reduktion von 2 – nur mit einer um 1,25fach erhöhten Wirkstoffmenge erzielt werden konnte (Kap. 3.3.3, Tab. 32 und 33). Das (kommerziell erhältliche) Produkt F-A enthält neben dem aktiven Wirkstoff DDAC zusätzlich Hilfsstoffe (Tenside, s. Kap. 2.1.9, Tab. 11) die, wie unter 1.5 diskutiert, die bakterizide Wirkung einer Substanz verstärken können (Knieler, 1997; Köhler et al., 2019). Dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass mit Produkt F-A bei geringerer Substanzmenge die gleiche \log_{10} -Reduktion der KbE erzielt wurde wie bei DDAC-Laborherstellung. Eine bakterizide Wirksamkeitsuntersuchung mit DDAC als Einzelsubstanz ist bei Giacometti et al. (2002) beschrieben. Der bakterizide Wert von DDAC an Patientenisolaten von *P. aeruginosa*, bei dem keine Bakterien mehr nachweisbar waren, lag bei 1 mg/ml bei 5 min EWZ (Giacometti et al., 2002). Der hier ermittelte bakterizide 5 min-Wert, bei dem keine KbE mehr nachweisbar waren, lag bei 2,5 mg/ml (Tab. 33). Als Ursache für die Abweichung wären unterschiedliche Versuchsbedingungen bei Giacometti et al. (2002) (z.B. N: 10^7 Zellen/ml, höhere Expositionstemperatur von 35 °C, Belastungssubstanz) und die Verwendung von Patientenisolaten im Vergleich zu Umweltisolaten bei den vorliegenden Untersuchungen zu

nennen. Köhler et al. (2019) berichten bei bakteriziden Wirksamkeitsuntersuchungen mit dem Wirkstoff Benzalkoniumchlorid (BAC) ebenfalls über Differenzen im Vergleich zu Aussagen in der Literatur: Bei Köhler lag der für die bakterizide Wirksamkeit ermittelte Wert 25fach niedriger als der von entsprechenden Untersuchungen (Köhler et al., 2019). Im Rahmen der bakteriziden Wirksamkeitsuntersuchungen nach den VAH-Methoden oder den europäischen Normen ist es bisher nicht gefordert, Referenzsubstanzen mitzuführen (Köhler et al., 2019). Der Umstand, dass die Hersteller von Desinfektionsmitteln regulatorisch nicht verpflichtet sind, die Hilfsstoffe eines Desinfektionsmittels zu deklarieren, ist für das Verfahren der Wirksamkeitsprüfung jedoch durchaus problematisch: Bei einer veränderten bakteriziden Wirksamkeit eines schon geprüften Desinfektionsmittels wäre nicht eindeutig unterscheidbar, ob dies auf prozedurale Gründe (z.B. die durchführende Person) oder aber auf eine veränderte Zusammensetzung des getesteten Desinfektionsmittels zurückzuführen ist. Aus verfahrenstechnischen Gründen wäre daher zu empfehlen, laborintern bei der Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln auch die Standardsubstanzen, die stabil und unverändert zur Verfügung stehen sollten, mitzutesten. Auf diese Weise könnten ggf. Abweichungen, die im Rahmen der Wirksamkeitsprüfung auftreten, mit der Standardsubstanz abgeglichen werden und Sensitivitätsunterschiede des Testorganismus leichter identifiziert werden. Die Ergebnisse mit Produkt DDAC könnten daher auch zur Etablierung einer laborinternen Qualitätskontrolle herangezogen werden. Hervorzuheben ist, dass in den hier durchgeführten Untersuchungen die quantitativen Suspensionsversuche in Gegenwart hoher organischer Belastung durchgeführt wurden. Somit wurden auch häufig anzutreffende Bedingungen in der Praxis wie beispielsweise hohe Verunreinigungen berücksichtigt, da Oberflächendesinfektion i.d.R. ohne vorherige Reinigung durchgeführt wird.

Eine grundsätzliche Schwierigkeit von Wirksamkeitsprüfungen besteht darin, dass sich die Reaktionen eines Organismus in seiner natürlichen Umgebung potenziell von denen unter Laborbedingungen unterscheiden. Beispielsweise erwiesen sich natürlich vorkommende Isolate von *S. marcescens* in einer Studie von Suwa et al. (2013) als toleranter gegenüber Benzalkoniumchlorid als Stämme desselben Organismus, die anschließend im Labor subkultiviert wurden. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen diese Beobachtung. Die Umweltisolate *P. aeruginosa* 0224 und 1052 erwiesen sich bei

Wirkstoffmengen im sublethalen Bereich bei Betrachtung der Reduktionswerte leicht toleranter im Vergleich zu *P. aeruginosa* DSM 939 (S. Kap. 3.3.4, Tab. 36). Allerdings konnte hier keine statistische Signifikanz aufgezeigt werden (s. Kap. 3.3.5, Abb. 18-20). Somit ist *P. aeruginosa* DSM 939 als Surrogat für die Desinfektionsmitteltestung geeignet. Dieses Ergebnis konnte durch die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bestätigt werden: Die MIC für *P. aeruginosa* DSM 939 lag höher als für die Umweltisolate *P. aeruginosa* 0224 und 1052 (s. Kap. 3.3.2., Tab. 31). Basierend auf diesen Daten scheint es vorstellbar, dass QAV-haltige Flächendesinfektionsmittel, die gegen *P. aeruginosa* DSM 939 wirksam sind, nicht das gleiche Maß an bakterieller Abtötung gegenüber multiresistenten Umweltstämmen von *P. aeruginosa* bieten könnten, wenn diese zu gering konzentriert eingesetzt werden. Dies wäre beispielsweise bei falscher Dosierung von Flächendesinfektionsmitteln oder bei Anwendung in Nassräumen, in welchen noch vorhandene Wasserreste in Waschbecken oder Dusche ggf. Verdünnungen von Desinfektionsmitteln verursachen können, der Fall. Zu berücksichtigen ist außerdem, dass es für die bakterizide Wirkung unerlässlich ist, ein ausreichendes Desinfektionsmittelvolumen auf die Fläche aufzubringen.

Im Hinblick auf die Frage der Eignung der Substanzen als Flächendesinfektionsmittel sind die vorliegenden Ergebnisse als Hinweise zu werten, da es möglich ist, dass die Substanzen im Praxistest bei gleichen Konzentrationen gegenüber den Umweltisolaten keinen hinreichenden mikrobiziden Effekt aufweisen könnten. Es müsste überprüft werden, ob das vergleichsweise geringe Desinfektionsmittelvolumen im praxisnahen Test einen Einfluss nimmt. In einer Studie von Gebel et al. (2019) konnte beispielsweise gezeigt werden, dass bei einem Toleranzvergleich von *E. faecium* insbesondere im praxisnahen Test die ausreichende Benetzung der Oberfläche entscheidend für den Desinfektionserfolg war. Praxisnahe Methoden haben aber für qualifizierte Aussagen zur bakteriziden Wirkung von chemischen Flächendesinfektionsmitteln eine vergleichsweise größere Relevanz, wofür die Tatsache ausschlaggebend ist, dass sich Bakterien auf unbelebten Oberflächen potenziell anders verhalten als in Suspension (Møretrø et al., 2009). Beispielsweise können Bakterien relativ lange auf Oberflächen überdauern (Kramer et al., 2006). Im quantitativen Suspensionsversuch als bakterizid wirksam getestete Desinfektionsmittel zeigten bei der Testung mit praxisnahen Methoden (z. B. im 4-Felder Test) eine verminderte Wirkung (Møretrø et al., 2009), wobei hier vermutlich auch die höhere Desinfektionsmittelmenge

im quantitativen Suspensionsversuch einen Einfluss auf die bakterizide Wirkung genommen hatte.

4.4 Limitationen

In wissenschaftlichen Untersuchungen ist die Messunsicherheit für die verwendeten Methoden anzugeben. Hierbei handelt es sich um einen dem Messverfahren zugeordneten Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet (Bureau International des Poids et Mesures, 2017). In der vorliegenden Arbeit wurden mikrobiologische Methoden angewendet. Im Gegensatz zu physikalischen Messverfahren beobachtet man in der Mikrobiologie häufig eine deutliche Streuung der ermittelten Daten, insbesondere bei Methoden zur Bestimmung der Zellzahl (Bast, 2014). Hinsichtlich ihrer Bewertung kann dies oftmals ein grundsätzliches Problem darstellen.

Bei der Desinfektionsmitteltestung werden die Untersuchungen durch weitere Faktoren beeinflusst, die zusätzlich zu einer Streuung der Daten beitragen können, wie z.B. die nicht-gleichbleibende Qualität des Testmaterials (Testfläche, Standard-Tuch und Desinfektionsmittel) aufgrund von Produktionsschwankungen. Bei Ringversuchen von Desinfektionsmittel-Wirksamkeitsprüfungen wird daher eine Streuung der Untersuchungsergebnisse interlaboriel von 1–1,5 \log_{10} -Reduktionen akzeptiert (Gemein et al., 2019). Gemäß VAH-Methodenbuch gilt für die Methoden der bakteriziden Wirksamkeitsuntersuchungen für die Flächendesinfektion mit Mechanik (VAH-Methode 14.2) die Vorgabe, dass „die Prüfungen in zwei Durchgängen zu erfolgen haben“ (Desinfektionsmittelkommission im VAH, 2015) – dies deckt sich mit den Prüfbedingungen der übergeordneten Norm 14885 (Deutsches Institut für Normung, 2019). Für die Zertifizierung von Desinfektionsprodukten in der VAH-Liste werden darüber hinaus zwei unabhängige Gutachten mit je zwei Versuchsdurchgängen gefordert. Im VAH-Methodenbuch wird auch eingeräumt, dass sich die Ergebnissicherheit durch eine erhöhte Zahl an Einzeluntersuchungen verbessern ließe. Obwohl die Anzahl der Einzeluntersuchungen (3–6) in dieser Arbeit der geforderten Anzahl nach VAH-Methode entsprechen, wirken sie sich für die Bewertung der vorliegenden Ergebnisse einschränkend aus. Ebenfalls als limitierend in Bezug auf die Aussagen zu bakteriziden Wirksamkeitsprüfungen von QAV

bei Gram-negativen und multiresistenten Gram-negativen Bakterien dürfte sich ein Mangel an Versuchen mit praxisnahen Methoden erweisen.

4.5 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Fragestellungen, die sich mit der Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Flächendesinfektionsverfahren auseinandersetzten, untersucht. Der Vergleich von zwei verschiedenen praxisnahen Methoden – dem 4-Felder Test und der Wiperator-Methode – ergab signifikante Unterschiede hinsichtlich der jeweils ermittelten \log_{10} -Reduktionen zwischen beiden Verfahren. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass der 4-Felder Test die tatsächlichen Gegebenheiten in der Praxis besser widerspiegelt und die vorliegenden Daten statistisch relevante Divergenzen zwischen den Methoden aufzeigten, ist der 4-Felder Test vorzuziehen. Ein weiterer Vorteil des 4-Felder Tests ist die Möglichkeit der Adaptation dieser Methode an unterschiedliche Fragestellungen, wie in dieser Arbeit aufgezeigt werden konnte.

Die Ergebnisse zeigen ferner auf, dass bei der Verwendung von *P. aeruginosa* als Testorganismus für den 4-Felder Test die für die anschließende Wirksamkeitsprüfung erforderliche Ausgangszellzahl von *P. aeruginosa* infolge von Wegrocknen nicht mehr in vorgegebener Menge von $>6,88 \log_{10}$ vorhanden war. Hieraus wird deutlich, dass das für einen bestimmten Testorganismus geeignete Verfahren (*S. aureus*) nicht ohne weiteres auf einen anderen Organismus (*P. aeruginosa*) übertragen werden kann. Daher wird im derzeitigen Verfahren *P. aeruginosa* in Glycerin aufgetragen. Um die Rückgewinnung von *P. aeruginosa* zu erhöhen, wird als Teilergebnis aus dieser Arbeit empfohlen, die Methodik des 4-Felder Tests weiter zu modifizieren, damit ausreichend Zellen für die darauffolgende Durchführung des Testverfahrens vorhanden sind. Dies könnte durch eine veränderte Auftragechnik des Inokulums erzielt werden, die darin bestünde, das Inokulum von 50 ml als 16 kleine Einzelportionen aufzutragen und gleichmäßig flächendeckend zu verteilen. Durch diese Auftragungsart kann der Trocknungsverlust der KbE um 1 \log_{10} -Stufe vermindert werden.

Als weitere Schlussfolgerung ist festzuhalten, dass ein ausreichendes auf die Fläche aufgetragenes Volumen eine Grundvoraussetzung für die bakterizide Wirksamkeit eines im

Wischverfahren angewendeten Flächendesinfektionsmittels ist. Im Rahmen der durchgeführten Experimente konnte festgestellt werden, dass sich auch der sichtbare und intakte Benetzungsfilm nicht als verlässliches Kriterium eignet, sondern der Benetzungsgrad (sattnass) ein wesentlicher Indikator für die Bestimmung der sicher zu desinfizierenden Fläche darstellte. Obwohl diese Problematik so offensichtlich und einleuchtend erscheint, wird derzeit noch nicht gefordert, diesen Aspekt bei der Wirksamkeitsprüfung mit zu betrachten. Eine Flächendesinfektionsmaßnahme kann aber nur dann wirksam sein, wenn sie unter Berücksichtigung sämtlicher relevanter Einflussfaktoren richtig durchgeführt wird. Die Einführung des 4-Felder Tests war daher ein entscheidender Schritt im Bereich der Desinfektionsmittelprüfung von Flächendesinfektionsmittel mit Mechanik, den unterschiedlichen Volumenabgaben der Tuchsysteeme Rechnung zu tragen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen daher die Notwendigkeit der Angabe einer Mindest-Flächenleistung seitens der Hersteller für ihre Produkte. Unter Berücksichtigung der VAH-Methoden könnten die Firmen eine Mindest-Flächenleistung von z.B. 0,5 m² pro Tuch zusichern. Dies wäre besonders für rtu-Desinfektionstücher wichtig und würde die Sicherheit dieser Produkte erhöhen. Zusätzlich sollte die Vorgabe, bei Desinfektionsmaßnahmen stets auf eine sattnasse Oberfläche zu achten, in der Gebrauchsanweisung von Desinfektionsprodukten angegeben werden.

Die vorliegenden Untersuchungen demonstrieren eine Reduktion der Prüforganismen *S. aureus* und *P. aeruginosa* von 2 bis 3,5 log₁₀-Stufen auf Testfeld 1 unter Verwendung eines mit WSH getränkten SCA-Tuchs. Dabei kommt es auch zu einer Verteilung der Prüforganismen ins Umfeld auf die Testfelder 2–4. Im klinischen Bereich sollten daher ausschließlich qualitätsgesicherte Flächendesinfektionsmittel eingesetzt werden, die in vitro Phase-2, Stufe 1 und den 4-Felder Test durchlaufen haben und eine mindestens bakterizide und levurozide Wirksamkeit bestätigen. Im häuslichen Umfeld sollten Desinfektionsmittel nur eingesetzt werden, wenn dies ärztlich indiziert ist. Zum einen können Fehlanwendungen und mögliche Toleranzbildungen der Zielorganismen gegenüber Desinfektionsmitteln vermindert werden, und zum anderen ist im privaten Umfeld in der Regel eine Reduktion der mikrobiellen Erregerlast durch Verwendung von Tüchern und Reinigern ausreichend.

Bakterizide Wirksamkeitsverfahren für Flächendesinfektionsmittel werden mit Surrogat-Organismen durchgeführt, die als repräsentative Vertreter einer Gruppe humanpathogener Mikroorganismen gelten. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die Verwendung von *P. aeruginosa* DSM 939 als Surrogat für die Gram-negativen Bakterien und liefern somit einen Beitrag für die sichere Anwendung der Prüfverfahren. Sensitivitätsunterschiede zwischen den 4MRGN-Umweltisolaten von *P. aeruginosa* und *P. aeruginosa* DSM 939 wurden erst weit unterhalb der Anwendungskonzentration sichtbar. Ein panresistentes Patientenisolat von *K. pneumoniae* erwies sich sensitiver als der verwendete Surrogat-Organismus. Zusammengefasst kann aufgrund der vorliegenden Untersuchungen festgestellt werden, dass die Wirksamkeitsprüfung mit *P. aeruginosa* DSM 939 auch eine ausreichende Sicherheit gegenüber antibiotikaresistenten Bakterien darstellt.

Beim Vergleich der eigenen Resultate mit Daten aus der bisherigen wissenschaftlichen Literatur wird deutlich, dass es hinsichtlich einzelner Aspekte Differenzen gibt, die auch auf abweichende Versuchsbedingungen zurückzuführen sein dürften. Dies unterstreicht die herausragende Bedeutung der Entwicklung von Testverfahren für die bakterizide Wirksamkeitsuntersuchung, um eine standardisierte Prüfung zu gewährleisten und den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Forschungsgruppen zu ermöglichen.

5 Zusammenfassung

In der Krankenhaushygiene stellt die Prävention von Erregertransmissionen und nosokomialen Infektionen ein Thema von herausragender Relevanz dar. Die Flächendesinfektion spielt hierbei als eine in vielfältigen Bereichen zum Einsatz kommende Hygienemaßnahme eine besondere Rolle. Vor der Verwendung eines Desinfektionsverfahrens muss dessen mikrobizide Wirksamkeit *in vitro* und unter praxisnahen Bedingungen geprüft werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden drei Fragestellungen aus diesem Kontext für den Bereich der Flächendesinfektion untersucht. In den vergleichenden Experimenten mit der Wiperator-Methode (ASTM Standard E2967-15) und dem 4-Felder Test (DIN EN 16615) erwiesen sich beide Verfahren für die bakterizide Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsprodukten als geeignet. Die Methoden unterschieden sich indessen hinsichtlich der ermittelten Reduktionsraten der koloniebildenden Einheiten von *P. aeruginosa* und *S. aureus* unter Verwendung von WSH signifikant voneinander. Als hervorstechende Einflussfaktoren auf das Desinfektionsergebnis wurden das verwendete Wischtuch und die Menge der Desinfektionsflüssigkeit identifiziert.

In einem weiteren Experiment zeigte sich der 4-Felder Test als besonders geeignet, die Flächenleistung des Desinfektionsproduktes und die Verteilung der Testorganismen in Abhängigkeit von der Größe der desinfizierten Fläche zu ermitteln. Deutlich wurde, dass ein intakter Benetzungsfilm allein kein verlässliches Kriterium für eine bakterizide Wirkung darstellt. Die zu desinfizierende Oberfläche muss stets sattnass sein. Eine Mindestangabe zur Flächenleistung seitens der Hersteller könnte die sichere Anwendung insbesondere von fertig konfektionierten Desinfektionstüchern entscheidend verbessern.

Die bakterizide Wirksamkeitsprüfung von QAV gegenüber Gram-negativen Bakterien aus der Stammsammlung und gegen multiresistente Isolate im quantitativen Suspensionstest ergab, dass *P. aeruginosa* DSM 939 aufgrund seiner im Vergleich zu anderen Gram-negativen Spezies aus der Stammsammlung (*A. baumannii*, *K. pneumoniae* und *S. marcescens*) signifikant geringeren Sensitivität gegenüber den getesteten Desinfektionsmitteln als Surrogat-Organismus weiterhin geeignet ist.

Das panresistente *K. pneumoniae* Patientenisolat erwies sich ebenfalls als signifikant empfindlicher gegenüber den geprüften Desinfektionsmitteln als *P. aeruginosa* DSM 939.

Die 4MRGN-Isolate aus der Krankenhausumgebung waren bei Dosierungen unterhalb der gelisteten wirksamen Konzentration toleranter gegenüber den verwendeten Desinfektionsprodukten als der DSM 939-Teststamm, dies konnte jedoch nicht als statistisch signifikanter Unterschied bestätigt werden.

Der Vergleich der Einzelsubstanz DDAC-Laborherstellung mit einem kommerziell erhältlichen Flächendesinfektionsprodukt auf Basis dieses Wirkstoffs ergab, dass mit dem letzteren bei geringerer Massenkonzentration die gleiche \log_{10} -Reduktion der Prüforganismen erzielt werden konnte. Dies ist ein Hinweis auf den wirksamkeitsunterstützenden Beitrag der Hilfsstoffe in kommerziellen Produkten. Die Daten deuten darauf hin, dass es sinnvoll ist, bei der bakteriziden Wirksamkeitsuntersuchung von Desinfektionsmitteln laborintern eine Referenzsubstanz mitzuführen, damit nicht-deklarierte Veränderungen in der Rezeptur von Desinfektionsmitteln und Veränderungen in der Sensitivität der Testorganismen leichter identifiziert werden können. Mit Hilfe unabhängig geprüfter und gelisteter Produkte, bei denen sich die Hersteller von Desinfektionsprodukten dazu verpflichten, Änderungen der Rezeptur anzuzeigen (z.B. VAH), kann hier eine größere Sicherheit gewährleistet werden. Vor allem erleichtert dies dem Anwender die Auswahl eines geeigneten Desinfektionsmittels, ohne selbst über tiefgreifende Erkenntnisse über die Notwendigkeit diverser Prüfungen und Normen zu verfügen.

Die Wirksamkeitsprüfung von Flächendesinfektionsmitteln ist ein von vielen Faktoren abhängiger Prozess. Durch neuartige Desinfektionsprodukte, Veränderung der Übertragungswege oder veränderte Mikroorganismen müssen die Verfahren kontinuierlich angepasst werden, damit stets wirksame Produkte bei den krankenhaushygienischen Maßnahmen zur Prävention von Infektionskrankheiten zur Verfügung stehen.

6 Abbildungsverzeichnis und Tabellenverzeichnis

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Anzahl der jährlichen Einsendungen aus deutschen Krankenhäusern an das Nationale Referenzzentrum für Gram-negative Krankenhauserreger 2009–2017	11
Abb. 2: Intervalle von der Entdeckung von Antibiotika bis zur Resistenzentwicklung....	12
Abb. 3: Infektionskreislauf im Krankenhaus (modifiziert nach Russotto et al., 2015). ...	15
Abb. 4: Einflussfaktoren auf die bakterizide Wirksamkeit der Flächendesinfektion	21
Abb. 5: Antimikrobielle Wirkstoffe (modifiziert nach Jatros, 2013).....	25
Abb. 6: Schematische Darstellung des 4-Felder Tests.....	45
Abb. 7: Wischvorgang auf der Testfläche des 4-Felder Tests (eigene Darstellung).....	46
Abb. 8: Wattetupfer-Abstrichverfahren (eigene Darstellung).	46
Abb. 9: Auswiegen der Tücher vor und nach dem Wischvorgang (eigene Darstellung).	47
Abb. 10: Optische Überprüfung des Benetzungsfilms (eigene Darstellung).....	49
Abb. 11: Wiperator (Filtaflex, 2015).....	51
Abb. 12: \log_{10} -Reduktion der KbE von <i>P. aeruginosa</i> und <i>S. aureus</i> auf Testfeld 1 bei Verwendung des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode mit WSH und SCA-Wipe (5 und 15 min EWZ).	60
Abb. 13: \log_{10} -Reduktion der KbE beim 4-Felder Test für <i>S. aureus</i> für das Produkt F-H (2 %, 15 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche.....	66
Abb. 14: \log_{10} -Reduktion der KbE beim 4-Felder Test für <i>S. aureus</i> für das Produkt rtu-QAV (5 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche.	67
Abb. 15: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A bei 1 %, 1,5 % und 2,5 % (5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststämme im quantitativen Suspensionsversuch.....	76
Abb. 16: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,15 %, 0,25 % und 0,35 %, 5 min EWZ) – Vergleich der \log_{10} -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststämme im quantitativen Suspensionsversuch.....	77

Abb. 17: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) – Vergleich der log ₁₀ -Reduktionen Gram-negativer DSM-Teststämme im quantitativen Suspensionsversuch.	78
Abb. 18: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A (2,5 %, 1,5 % und 1,0 %, 5 min EWZ) – Vergleich der log ₁₀ -Reduktionen von <i>P. aeruginosa</i> DSM 939 mit zwei 4 MRGN	79
Abb. 19: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,35 %, 0,25 % und 0,15 %, 5 min EWZ) – Vergleich der log ₁₀ -Reduktionen von <i>P. aeruginosa</i> DSM 939 mit zwei 4MRGN <i>P. aeruginosa</i> Umweltisolaten im quantitativen Suspensionsversuch.....	80
Abb. 20: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1,0 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) – Vergleich der log ₁₀ -Reduktionen von <i>P. aeruginosa</i> DSM 939 mit zwei 4MRGN	81
Abb. 21: Ursachen für die reduzierte Wirksamkeit von Bioziden	88

6.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Transmissionsbegünstigende Aspekte für eine nosokomiale Infektion.....	14
Tab. 2: Einteilung der Patientenumgebung in Trocken- und Feuchtbereiche	15
Tab. 3: Bakterien in feuchter Umgebung assoziiert mit nosokomialen Infektionen	16
Tab. 4: Bakterien in trockener Umgebung assoziiert mit nosokomialen Infektionen	16
Tab. 5: Infektionsdosis verschiedener bakterieller Erreger	18
Tab. 6: Prüfverfahren von Desinfektionsmitteln in der europäischen Normung	22
Tab. 7: Wirkstoffgruppen in Flächendesinfektionsmitteln der VAH-Liste	26
Tab. 8: Geräte und Materialien	32
Tab. 9: Chemikalien.....	34
Tab. 10: Neutralisatoren	37
Tab. 11: Lösungen für Flächendesinfektionsmittel.....	38
Tab. 12: Gebrauchsfertige Desinfektionstücher (rtu-Wipes)	39
Tab. 13: Testflächen	39
Tab. 14: Standard-Wischtücher	40
Tab. 15: Bakterienstämme.....	40
Tab. 16: Charakteristika des 4-Felder Tests und der Wiperator-Methode	54

Tab. 17: Rückgewinnung von <i>S. aureus</i> und <i>P. aeruginosa</i> , (n = 3).....	56
Tab. 18: Bakterizide Wirksamkeit der Desinfektionslösung F-H (2 %, SCA-Wipe, 15 min EWZ) – log ₁₀ -Reduktion von <i>S. aureus</i> und <i>P. aeruginosa</i> im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3).....	57
Tab. 19: Einfluss des Tuchmaterials – Reduktion von <i>S. aureus</i> bei Nutzung von SCA-Wipes bzw. J-Cloth in Kombination mit der Desinfektionslösung F-H (1 %, 15 min EWZ) im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3).....	58
Tab. 20: Bakterizide Wirksamkeit des Desinfektionstuchs rtu-Alkohol (5 min EWZ) – log ₁₀ -Reduktion von <i>S. aureus</i> und <i>P. aeruginosa</i> im 4-Felder Test und mit der Wiperator-Methode auf Testfeld (T) 1, (n = 3).....	59
Tab. 21: Mann-Whitney-U Test: Vergleich der log ₁₀ -Reduktionen von <i>S. aureus</i> und ...	59
Tab. 22: Versuchsanordnung Flächentest.....	61
Tab. 23: Bakterizide Wirksamkeit des Prüfprodukts F-H (2 %, SCA-Wipe, 15 min EWZ) gegenüber <i>S. aureus</i> in Abhängigkeit von der Flächengröße im 4-Felder Test – log ₁₀ -Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4	63
Tab. 24: Bakterizide Wirksamkeit des Prüfprodukts rtu-QAV (5 min EWZ) gegenüber <i>S. aureus</i> in Abhängigkeit von der Flächengröße im 4-Felder Test – log ₁₀ -Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4	64
Tab. 25: Kruskal-Wallis-H Test: Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche für <i>S. aureus</i> bei den Produkten F-H, 2 % und rtu-QAV	64
Tab. 26: Mann-Whitney-U Test: Paarweiser Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests mit <i>S. aureus</i> und dem Prüfprodukt F-H (2 %, 15 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche	65
Tab. 27: Mann-Whitney-U Test: Paarweiser Vergleich der Ergebnisse des 4-Felder Tests mit <i>S. aureus</i> und dem Prüfprodukt rtu-QAV (5 min EWZ) in Abhängigkeit von der Größe der Testfläche	65
Tab. 28: Bakterizide Wirksamkeit des Desinfektionsmittel-Prüfprodukts rtu-QAV (5 min EWZ) mit zusätzlichem Tränkvolumen von 2 und 4 ml gegenüber <i>S. aureus</i> im 4-Felder Test bei vorgeschalteter Testfläche von 0,5 m ² – log ₁₀ -Reduktion auf Testfeld (T) 1 und Verteilung der KbE auf die Testfelder 2 – 4, (n = 3).....	68

Tab. 29: Freigesetzte Flüssigkeitsmenge der Prüfprodukte und von WSH bei Gebrauch des 4-Felder Tests in Abhängigkeit der Größe der Wischfläche, (n = 6).....	69
Tab. 30: Versuchsanordnung des quantitativen Suspensionsversuchs.....	70
Tab. 31: Minimale Hemmkonzentrationen dreier Flächendesinfektionsmittel für <i>P. aeruginosa</i> DSM 939 und zwei 4MRGN-Umweltisolaten von <i>P. aeruginosa</i> , (n = 3).....	71
Tab. 32: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-A (1 %, 1,5 % und 2,5 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – log ₁₀ -Reduktion der KbE, (n = 3).....	72
Tab. 33: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt DDAC (0,5 % u. 0,1 %, 5 min EWZ) gegenüber <i>P. aeruginosa</i> DSM 939 und zwei <i>P. aeruginosa</i> 4MRGN-Umweltisolaten im quantitativen Suspensionsversuch - log ₁₀ -Reduktion der KbE, (n = 3).....	73
Tab. 34: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-B (0,15 %, 0,25 % und 0,35 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – log ₁₀ -Reduktion der KbE, (n = 3).....	74
Tab. 35: Bakterizide Wirksamkeit von Produkt F-C (1 %, 0,5 % und 0,25 %, 5 min EWZ) gegenüber verschiedenen Gram-negativen Bakterien im quantitativen Suspensionsversuch – log ₁₀ -Reduktion der KbE, (n = 3).....	74
Tab. 36: Bakterizide Wirksamkeit der Produkte F-A, F-B, F-C (je 5 min EWZ) bei verschiedenen Konzentrationen gegenüber <i>P. aeruginosa</i> DSM 939, zwei <i>P. aeruginosa</i> Umweltisolaten und einem panresistenten <i>K. pneumoniae</i> Patientenisolat – log ₁₀ -Reduktion der KbE im quantitativen Suspensionsversuch, (n = 3).....	75

7 Literaturverzeichnis

Adams CE, Smith J, Watson V, Robertson C, Dancer SJ. Examining the association between surface bioburden and frequently touched sites in intensive care. *J Hosp Infect* 2017; 95: 76-80

Adriaanse AH, Pel M, Bleker OP. Semmelweis: the combat against puerperal fever. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 90: 153-158

Ali S, Moore G, Wilson AP. Effect of surface coating and finish upon the cleanability of bed rails and the spread of *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2012; 80: 192-198

American Hospital Association. Statement on microbiologic sampling in the hospital. *Hospitals* 1974; 48: 125-126

American Society for Testing and Materials (ASTM). Standard method for assessing the ability of pre-wetted towelettes to remove and transfer bacterial contamination on hard, non-porous environmental surfaces using the wiperator – method E2967-15. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International, 2015

American Society for Testing and Materials. Standard quantitative disk carrier test method for determining bactericidal virucidal, fungicidal, mycobactericidal and sporicidal activities of chemicals – method E2197-17e1. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International, 2017

Archibald LK, Corl A, Shah B, Schulte M, Arduino MJ, Aguero S, Fisher DJ, Stechenberg BW, Banerjee SN, Jarvis WR. *Serratia marcescens* outbreak associated with extrinsic contamination of 1% chlorxylenol soap. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 704-709

Ayliffe GA, Collins BJ, Lowbury EJ, Babb JR, Lilly HA. Ward floors and other surfaces as reservoirs of hospital infection. *J Hyg (Lond)* 1967; 65: 515-536

Bast E. *Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken.* Berlin – Heidelberg: Springer 2014

Barry MA, Craven DE, Goularte TA, Lichtenberg DA. *Serratia marcescens* contamination of antiseptic soap containing triclosan: implications for nosocomial infection. *Infect Control* 1984; 5: 427-430

Best M und Neuhauser D. Ignaz Semmelweis and the birth of infection control. *Qual Saf Health Care* 2004; 13: 233-234

Bioanalytic GmbH, 2019. McFarland PMS turbidity standards product information. <http://www.bioanalytic.de/de/product/article/mcfarland-pms-turbidity-standards.html> (Zugriff 15.1.2020)

Bloomfield SF, Carling PC, Exner M. A unified framework for developing effective hygiene procedures for hands, environmental surfaces and laundry in healthcare, domestic, food handling and other settings. *GMS Hyg Infect Control* 2017; 12: 1-16

Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 622-627

Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J Hosp Infect* 2007; 65: 50-54

Boyce JM, Sullivan L, Booker A, Baker J. Quaternary ammonium disinfectant issues encountered in an environmental services department. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2016; 37: 340-342

Buffet-Bataillon S, Tattevin P, Bonnaure-Mallet M, Jolivet-Gougeon A. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds – a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39: 381-389

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), 2020: Biozidmeldeverordnung. <https://www.baua.de/DE/Biozid-Meldeverordnung/Offen/offen.html/> (Zugriff 16.01.2020)

Bundesinstitut für Risikobewertung, 2014: Fragen und Antworten zu Nutzen und Risiken von Desinfektionsmitteln im Privathaushalt. www.bfr.bund.de/.../fragen-und-antworten-zu-nutzen-und-risiken-von-desinfektionsmitteln-im-Privathaushalt (Zugriff 06.05.2018)

Bureau International des Poids et Mesures (BIPM), 2017: International vocabulary of metrology. Definitions with informative annotations. Definition 2.26 measurement uncertainty. <https://jcgpm.bipm.org/vim/en/2.26.html> (Zugriff 06.03.2020)

Chan-Myers H, McAlister D, Antonoplos P. Natural bioburden levels detected on rigid lumened medical devices before and after cleaning. *Am J Infect Control* 1997; 25: 471-476

Chen KH, Chen LR, Wang YK. Contamination of medical charts: an important source of potential infection in hospitals. *PLoS One* 2014; 9: 1-7

Cooksey RC, Jhung MA, Yakrus MA, Butler WR, Adekambi T, Morlock GP, Williams M, Shams AM, Jensen BJ, Morey RE, Charles N, Toney SR, Jost K. CJr, Dunbar DF, Bennett V, Kuan M, Srinivasan A. Multiphasic approach reveals genetic diversity of environmental and patient isolates of *Mycobacterium mucogenicum* and *Mycobacterium phocaicum* associated with an outbreak of bacteremias at a Texas hospital. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 2480-2487

Corbella X, Montero A, Pujol M, Dominguez MA, Ayats J, Argerich MJ, Garrigosa F, Ariza J, Gudiol F. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4086-4095

DAB, 1926: Deutsches Arzneibuch 6. Ausgabe. https://publikationsserver.tu-braunschweig.de/receive/dbbs_mods_00000785 (Zugriff 04.03.2018)

Dancer SJ. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 2009; 73: 378-385

Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 665-90

Denyer SP. Mechanisms of action of antibacterial biocides. *Int. Biodeterior Biodegrad* 1995; 36: 227-245

Desinfektionsmittelkommission des VAH. Empfehlung zur Kontrolle kritischer Punkte bei der Anwendung von Tuchspendersystemen im Vortränksystem für die Flächendesinfektion. *Hyg Med* 2012; 37: 468-470

Desinfektionsmittelkommission im VAH unter Mitwirkung der 4+4-Arbeitsgruppe. Überprüfung der Wirksamkeit der Kombination von einem spezifizierten Wischtuch und einem Desinfektionsmittel im praxisnahen 4-Felder-Test (z. B. Tuchtränkesysteme). Hyg Med 2013; 38: 252-256

Desinfektionsmittelkommission des VAH. Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren. Wiesbaden: mhp-Verlag GmbH, 2015

Desinfektionsmittelkommission des VAH. Zur Äquivalenz der Desinfektionsmittel-Testung gemäß VAH-Methoden und der Testung gemäß den aktuellen europäischen Normen. Hyg Med 2016; 41: 83-84

Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2017: Desinfektionsmittel-Liste des VAH. Online-Version. <https://vah-liste.mhp-verlag.de/#erweiterte-suche> (Zugriff 06.06.2017)

Desinfektionsmittelkommission des VAH, 2020: Desinfektionsmittel-Liste des VAH. Online-Version. <https://vah-liste.mhp-verlag.de/#erweiterte-suche> (Zugriff 06.05.2020)

Dettenkofer M und Block C. Hospital disinfection: efficacy and safety issues. Curr Opin Infect Dis 2005; 18: 320-325

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 556-1:2006-12. Sterilisation von Medizinprodukten- Anforderungen an Medizinprodukte, die als steril gekennzeichnet werden – Teil 1. Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2006

Deutsches Institut für Normung DIN-EN 12353:2006. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Aufbewahrung von Testorganismen, die zur Bestimmung der bakteriziden mykobakteriziden, sporiziden und fungiziden Wirkung verwendet werden. Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2016

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 13624:2013-12. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden oder levuroziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1). Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2013

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 13727:2014-03. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1). Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2014

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 14885:2019-10. Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Anwendung europäischer Normen für chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika. Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2019

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 1500:2017-10 Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Hygienische Händedesinfektion – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2/Stufe 2). Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2013

Deutsches Institut für Normung. DIN EN 16115:2015-06 – Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitatives Prüfverfahren zur Bestimmung der bakteriziden und levuroziden Wirkung auf nicht-porösen Oberflächen mit mechanischer Einwirkung mit Hilfe von Tüchern im humanmedizinischen Bereich (4-Felder Test) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase II, Stufe 2). Deutsche Fassung. Berlin: Beuth, 2015

Döring G, Ulrich M, Müller W, Bitzer J, Schmidt-Koenig L, Müntz L, Grupp H, Wolz C, Stern M, Botzenhart K. Generation of *Pseudomonas aeruginosa* aerosols during hand-washing from contaminated sink drains, transmission to hands of hospital personnel and its prevention by use of a new heating device. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1991; 191: 494-505

Döring G, Horz M, Ortelt J, Grupp H, Wolz C. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Epidemiol Infect* 1993; 110: 427-436

Ecolab 2020. Incidin-Foam Produktinformation. <https://de-de.ecolab.com/offerings/incidin-foam> (Zugriff 24.02.2020)

Edwards NWM, Best EL, Connell SD, Goswami P, Carr CM, Wilcox MH, Russell SJ. Role of surface energy and nano-roughness in the removal efficiency of bacterial contamination by nonwoven wipes from frequently touched surfaces. *Sci Technol Adv Mater* 2017; 18: 197-209

Edwards NWM, Best EL, Goswami P, Wilcox MH, Russell SJ. Factors affecting removal of bacterial pathogens from healthcare surfaces during dynamic wiping. *Text Res J* 2019; 89: 580-589

Engelke K und Oldhafer 2010. Prävention postoperativer Wundinfektionen. *Der Chirurg* 2010; 81: 577-586

Epstein AB. In the aftermath of the *Fusarium* keratitis outbreak: what have we learned? *Clin Ophthalmol* 2007; 4: 355-366

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Incidence and attributable mortality of healthcare-associated infections in intensive care units in Europe, 2008-2012. Stockholm: ECDC, 2018

Exner M, Vacata V, Hornei B, Dietlein E, Gebel J. Household cleaning and surface disinfection: new insights and strategies. *J Hosp Infect* 2004; 56: 570-575

Exner M. Divergent opinions on surface disinfection: Myths or prevention? A review of the literature. *GMS Krankenhhyg Interdiszip* 2007; 2: 1-7

Exner M, Bhattacharya S, Christiansen B, Gebel J, Goroncy-Bermes P, Hartemann P, Heeg P, Ilschner C, Kramer A, Larson E, Merckens W, Mielke M, Oltmanns P, Ross B, Rotter M, Schmithausen RM, Sonntag HG, Trautmann M. Antibiotic Resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *GMS Hyg Infect Control* 2017; 12: 1-24

Filtaflex, 2015. Wiperator. <http://www.filtaflex.ca/wiperator.htm> (Zugriff 10.12.2019)

Frank JP und Fahner JC. System einer vollständigen medizinischen Polizey. Berlin: Vieweg, 1792

Gans O, Grillitsch B, Fürhacker M, Kreuzinger N, Uhl M. Grundlagen zur Risikoabschätzung für quaternäre Ammoniumverbindungen. Wien: Umweltbundesamt Wien, 2005

Gastmeier P. Nosokomiale Infektionen. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz T, Hrsg. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin – New York: Springer, 2012: 882-885

Gebel J, Werner H, Kirsch-Altena A, Bansemir K. Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren. Wiesbaden: mhp, 2001

Gebel J, Exner M, French G, Chartier Y, Christiansen B, Gemein S, Goroncy-Bermes P, Hartemann P, Heudorf U, Kramer A, Maillard JY, Oltmanns P, Rotter M, Sonntag HG. The role of surface disinfection in infection prevention. *GMS Hyg Infect Control* 2013; 8: 1-12

Gebel J, Gemein S, Kampf G, SJ Pidot, Buetti N, Exner M. Isopropanol at 60 % and at 70 % are effective against isopropanol-tolerant *Enterococcus faecium*. *J Hosp Infect* 2019; 103: 88-91

Gemein S, Gebel J, Christiansen B, Martiny H, Vossebein L, Brill FHH, Decius M, Eggers M, Koburger-Janssen T, Meckel M, Werner S, Hunsinger B, Selhorst T, Kampf G, Exner M. Interlaboratory reproducibility of a test method following 4-field test methodology to evaluate the susceptibility of *Clostridium difficile* spores. *J Hosp Infect* 2019; 103: 78-84

Giacometti A, Cirioni O, Greganti G, Fineo A, Ghiselli R, Del Prete MS, Mocchegiani F, Fileni G, Caselli F, Petrelli E, Saba V, Scalise G. Antiseptic compounds still active against bacterial strains isolated from surgical wound infections despite increasing antibiotic resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect* 2002; 21: 553-556

Gillespie EE, Scott C, Wilson J, Stuart R. Pilot study to measure cleaning effectiveness in health care. *Am J Infect Control* 2012; 40: 477-478

Goldsmith MT, Latlief MA, Friedl JL, Stuart LS. Adsorption of available chlorine and quaternary by cotton and wool fabrics from disinfecting solutions. *Appl. Microbiol* 1954; 2: 360-364

Gonzalez EA, Nandy P, Lucas AD, Hitchins VM. Ability of cleaning-disinfecting wipes to remove bacteria from medical device surfaces. *Am J Infect Control* 2015; 43: 1331-1335

Gundermann KO. Influence of atmospheric humidity on the survival of bacteria in dust. *Zentralbl Bakteriol* 1972; 156: 422-429

Hancock EW. The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends in microbiology* 1997; 5: 37-42

Hancock RE und Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resist Updat* 2000; 3: 247-255

Havill NL. Best practices in disinfection of noncritical surfaces in the health care setting: creating a bundle for success. *Am J Infect Control* 2013; 41: 26-30

Hess AS, Shardell M, Johnson JK, Thom KA, Roghmann MC, Netzer G, Amr S, Morgan DJ, Harris AD. A randomized controlled trial of enhanced cleaning to reduce contamination of healthcare worker gowns and gloves with multidrug-resistant bacteria. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34: 487-493

Hinchliffe DJ, Condon, BD, Madison, CA, Reynolds, M, Hron RJ. An optimized co-formulation minimized quaternary ammonium compounds adsorption onto raw cotton disposable disinfecting wipes and maintained efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Text Res J* 2018; 88: 2329-2338

Hirsch EB, Raux BR, Lancaster JW, Mann RL, Leonard SN. Surface microbiology of the iPad tablet computer and the potential to serve as a fomite in both inpatient practice settings as well as outside of the hospital environment. *Plos One* 2014; 9: 1-5

Holdsworth SR und Law CJ. The major facilitator superfamily transporter *mdtm* contributes to the intrinsic resistance of *E. coli* to quaternary ammonium compounds. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 831-839

Hota B. Contamination, disinfection and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1182-1189

Huslage K, Rutala WA, Sickbert-Bennett E, Weber DJ. A quantitative approach to defining high-touch surfaces in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31: 850-853

Jacobshagen A, Gebel J, Gemein S, Koch S, Theles J, Exner M, 2016: Die EN 16615 (4-Felder-Test) im Vergleich zur ASTM-Methode. 13. DGKH-Kongress 2016. <https://www.google.com/search?q=Vergleich+4+Felder+Test+Wiperator+Methode&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b> (Zugriff 10.10.2019)

Jacobshagen A, Gemein S, Exner M, Gebel J. Test methods for surface disinfection: comparison of the wiper ASTM standard E2967-15 and the 4-field test EN 16615. *GMS Hyg Infect Control* 2020; 15: 1-9

Jatros, 2013. Überblick antimikrobieller Substanzen: Abgrenzung zwischen Antiseptika und Desinfektionsmitteln. <https://ch.universimed.com/fachthemen/324> (Zugriff 07.03.2020)

Johani K, Abualsaud D, Costa DM, Hu H, Whiteley G, Deva A, Vickery K. Characterization of microbial community composition, antimicrobial resistance and biofilm on intensive care surfaces. *J Infect Public Health* 2018; 11: 418-424

Kampf G, Degenhardt S, Lackner S, Jesse K, von Baum H, Ostermeyer C. Poorly processed tissue dispensers surface disinfection may be a source of infection. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 37

Kampf G. Antiseptic stewardship – biocide resistance and clinical implications. Cham, Switzerland: Springer, 2018a

Kampf G. Biocidal agents used for disinfection can enhance antibiotic resistance in gram-negative species. *Antibiotics* 2018b; 1-24

Kenters N, Huijskens EGW, de Wit SCJ, van Rosmalen J, Voss A. Effectiveness of cleaning-disinfection wipes and sprays against multidrug-resistant outbreak strains. *Am J Infect Control* 2017; 45: 69-73

Kenters N, Gottlieb T, Hopman J, Mehtar S, Schweizer ML, Tartari E, Isac working group Infection Prevention Control, Huijskens EGW, Voss A. An international survey of cleaning and disinfection practices in the healthcare environment. *J Hosp Infect* 2018; 100: 236-241

Khan LH. Antimicrobial resistance: A one health perspective. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2017; 111: 255-260

Kizny-Gordon AE, Mathers AJ, Cheong EYL, Gottlieb T, Kotay S, Walker AS, Peto TEA, Crook DW, Stoesser N. The hospital water environment as a reservoir for carbapenem-resistant organisms causing hospital-acquired infections - a systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 1435-1444

Klein HJ, Werner HP. Experimental investigations into the spread of organisms by room air. *Zentralbl Bakteriol* 1970; 214: 123-129

Kloß F und Gerbach S. Hürden und Aussichten neuer antimikrobieller Konzepte in Forschung und Entwicklung. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2018; 61: 595-605

Knieler R. Moderne Desinfektionsmittel. Einfluss der Hilfsstoffe auf die Wirksamkeit. *Hyg Med* 1997; 9: 487-488

Koch R. Über Desinfektion. In: *Aus Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte* 1881. Bd I. Berlin: Robert-Koch-Institut, 2010: 1-52

Köhler AT, Rodloff AC, Lbahn M, Reinhardt M, Truyen U, Speck S. Evaluation of disinfectant efficacy against multidrug-resistant bacteria: a comprehensive analysis of different methods. *Am J Infect Control* 2019; 47: 1181-1187

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention. Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2004; 47: 51-61

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten Gram-negativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2012; 55: 1311-1354

Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 130

Kramer A, Reichwagen S, Below H, Heldt P, Weber U, Widulle H, Nürnberg W. Alkohole. In: Kramer A, Assadian O, Hrsg. *Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart – New York: Georg Thieme, 2008a: 643-669

Kramer A, Reichwagen S, Below H, Heldt P, Weber U, Widulle H, Nürnberg W. Aldehyde. In: Kramer A, Assadian O, Hrsg. *Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*. Stuttgart – New York: Georg Thieme, 2008b: 670-678

Kramer A, Reichwagen S, Heldt P, Weber U, Widulle H, Nürnberg W. Oxidanzien. In: Kramer A, Assadian O, Hrsg. Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart – New York: Georg Thieme, 2008c: 713-746

Kramer A, Eberlein T, Müller G, Dissemond J, Assadian O. Re-evaluation of polihexanide use in wound antiseptics in order to clarify ambiguities of two animal studies. J Wound Care 2019; 28: 246-55

Krummenauer F, Wojciechowski C, Baulig C, Al-Nawas B. Boxplots – die flexible Alternative zum Antennen-Bildchen. Zahnärztl Impl 2007; 23: 308-311

Kundrapu S, Sunkesula V, Jury LA, Sitzlar BM, Donskey CJ. Daily disinfection of high-touch surfaces in isolation rooms to reduce contamination of healthcare workers hands. Infect Control Hosp Epidemiol 2012; 33: 1039-1042

Kupferschmidt K. Resistance fighters. Science 2016; 352: 758-761

Landelle C, Legrand P, Lesprit P, Cizeau F, Ducellier D, Gouot C, Bréhaut P, Soing-Altrach S, Girou E, Brun-Buisson C. Protracted outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* after intercontinental transfer of colonized patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2013; 34: 119-124

Langsrud S, Møretrø T, Sundheim G. Characterization of *Serratia marcescens* surviving in disinfecting footbaths. J Appl Microbiol 2003a; 95: 186-195

Langsrud S, Sundheim G, Borgmann-Strahsen R. Intrinsic and acquired resistance to quaternary ammonium compounds in food-related *Pseudomonas* spp. J Appl Microbiol 2003b; 95: 874-882

Le Saux NM, Sekla L, McLeod J, Parker S, Rush D, Jeffery JR, Brunham RC. Epidemic of nosocomial legionnaires disease in renal transplant recipients: a case-control and environmental study. CMAJ 1989; 140: 1047-1053

Leung HW. Ecotoxicology of glutaraldehyde: review of environmental fate and effects studies. Ecotoxicol Environ Saf 2001; 49: 26-39

Lister J. An address on the antiseptic system of treatment in surgery. Br Med J 1868; 2: 515-517

Loveday HP, Wilson JA, Pratt RJ, Golsorkhi M, Tingle A, Bak A, Browne J, Prieto J, Wilcox M. epic3: National evidence-based guidelines for preventing healthcare-associated infections in NHS hospitals in England. *J Hosp Infect* 2014; 86: 1-70

Lowe C, Willey B, O'Shaughnessy A, Lee W, Lum M, Pike K, Larocque C, Dedier H, Dales L, Moore C, McGeer A. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella oxytoca* infections associated with contaminated handwashing sinks. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1242-1247

Madani TA, Alsaedi S, James L, Eldeek BS, Jiman-Fatani AA, Alawi MM, Marwan D, Cudal M, Macapagal M, Bahlas R, Farouq M. *Serratia marcescens*-contaminated baby shampoo causing an outbreak among newborns at king abdulaziz university hospital, Jeddah, Saudi Arabia. *J Hosp Infect* 2011; 78: 16-19

Maki DG, Alvarado CJ, Hassemer CA, Zilz MA. Relation of the inanimate hospital environment to endemic nosocomial infection. *N Engl J Med* 1982; 307: 1562-1566

Meyer B und Cookson B. Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? *J Hosp Infect* 2010; 76: 200-205

Mielke M. Prevention and control of nosocomial infections and resistance to antibiotics in Europe - primum non-nocere: elements of successful prevention and control of healthcare-associated infections. *Int J Med Microbiol* 2010; 300: 346-350

Mielke M. Die Rolle der Infektionsprävention bei der Eindämmung der Antibiotikaresistenzentwicklung. Jede vermiedene Infektion trägt zur Reduktion des Antibiotikaeinsatzes bei. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2018; 61: 553-561

Milton R. An extended table of critical values for the mann-whitney (-wilcoxon) two sample statistic. *J Amer Statis Asso* 1964; 59: 925-934

Moralejo D, El Dib R, Prata RA, Barretti P, Correa I. Improving adherence to standard precautions for the control of health care-associated infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 2: 1-67

Møretrø T, Vestby LK, Nesse LL, Storheim SE, Kotlarz K, Langsrud S. Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. *J Appl Microbiol* 2009; 106: 1005-1012

Mosqueda N, Espinal P, Cosgaya C, Viota S, Plasencia V, Alvarez-Lerma F, Montero M, Gomez J, Horcajada JP, Vila J, Roca I. Globally expanding carbapenemase finally appears in Spain: Nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing plasmid-encoded OXA-23 in Barcelona, Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 5155-5157

Nakashima AK, Highsmith AK, Martone WJ. Survival of *Serratia marcescens* in benzalkonium chloride and in multiple-dose medication vials: relationship to epidemic septic arthritis. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1019-1021

Nasr AM, Mostafa MS, Arnaout HH, Elshimy AAA. The effect of exposure to sub-inhibitory concentrations of hypochlorite and quaternary ammonium compounds on antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Infect Control* 2018; 46: 57-63

Nishihara T, Okamoto T, Nishiyama N. Biodegradation of didecyldimethylammonium chloride by *Pseudomonas fluorescens* TN4 isolated from activated sludge. *J App Microbiology* 2000; 88: 641-647

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2013: Guidance document on quantitative methods for evaluating the activity of microbicides used on hard non-porous surfaces. Series on testing and assessment. No. 187.

<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm>
(Zugriff 03.07.2019)

Otter JA, Yezli S, Salkeld JA, French GL. Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *Am J Infect Control* 2013; 41: 6-11

Pareiro-Muore M, Arias-Estévez M and Simal-Gándara J. Critical review on the environmental fate of quaternary ammonium herbicides in soils devoted to vineyards. *Environmental Science & Technology* 2013; 47: 4984-4998

Peters M, Heidel J, Steinhauer K. Untersuchung der Reichweite von ready-to-use-Tüchern zur Wischdesinfektion von Oberflächen. *Hyg Med* 2011; 36: 128-133

Pettit F und Lowbury EJ. Survival of wound pathogens under different environmental conditions. *J Hyg (Lond)* 1968; 66: 393-406

Pieper C, Schwebke I, Noeh I, Uhlenbrock K, Hübner NO, Solecki R. Antimikrobielle Produkte im Haushalt – eine Betrachtung zu Auswirkungen auf Gesundheit und Umwelt sowie zum Nutzen für den Anwender. *Hyg Med* 2014; 39: 68-77

Pidot SJ, Gao W, Buultjens AH, Monk IR, Guerillot R, Carter GP et al. Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to handwash alcohols. *Sci Transl Med* 2018; 10: 1-10

Pfennigwerth N. Bericht des Nationalen Referenzzentrums (NRZ) für Gram-negative Krankenhauserreger – Zeitraum 1. Januar 2017 bis 31. Dezember 2017. *Epid Bull* 2018; 28: 263-267

Potts M, Slaughter SM, Hunneke FU, Garst JF, Helm RF. Desiccation tolerance of prokaryotes: application of principles to human cells. *Integr Comp Biol* 2005; 45: 800-809

Ramm L, Siani H, Wesgate R, Maillard JY. Pathogen transfer and high variability in pathogen removal by detergent wipes. *Am J Infect Control* 2015; 43: 724-728

Ray AJ, Hoyen CK, Taub TF, Eckstein E, Donskey CJ, Stokes L. Nosocomial transmission of vancomycin-resistant enterococci from surfaces. *JAMA* 2002; 287: 1400-1401

Robert-Koch-Institut (RKI), 2019: EHEC-Erkrankung. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_EHEC.html#doc2374530bodyText2 (Zugriff 30.10.2019)

Robert-Koch-Institut (RKI) 2020: Salmonellose. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Salmonellose.html (Zugriff 29.02.2020)

Roberts C. Studies on the bioburden on medical devices and the importance of cleaning. In: Rutala WA Hrsg. *Disinfection, sterilization and antisepsis: principles and practices in healthcare facilities*. New York: Association for professionals in infection control and epidemiology 2001: 63-69

Roux D, Aubier B, Cochard H, Quentin R, van der Mee-Marquet N. Contaminated sinks in intensive care units: an underestimated source of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in the patient environment. *J Hosp Infect* 2013; 85: 106-111

Rubenstein AD und Morse LJ. Study reveals hand lotions may be source of gram-negative bacteria. *Mod Hosp* 1968; 110: 119

Russell AD. Do biocides select for antibiotic resistance? *J Pharm Pharmacol* 2000; 52: 227-233

Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 794-802

Russotto V, Cortegiani A, Raineri SM, Giarratano A. Bacterial contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit. *J Intensive Care* 2015; 3: 54-62

Salm F, Deja M, Gastmeier P, Kola A, Hanse S, Behnke M, Gruhl D, Leistner R. Prolonged outbreak of clonal MDR *Pseudomonas aeruginosa* on an intensive care unit: contaminated sinks and contamination of ultra-filtrate bags as possible route of transmission? *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5: 53-61

Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC, Arbeit RD, Karchmer AW. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Med* 1996; 100: 32-40

Sanderson PJ und Weissler S. Recovery of coliforms from the hands of nurses and patients: activities leading to contamination. *J Hosp Infect* 1992; 21: 85-93

Sattar SA und Maillard JY. The crucial role of wiping in decontamination of high-touch environmental surfaces: review of current status and directions for the future. *Am J Infect Control* 2013; 41: 97-104

Sattar SA, Bradley C, Kibbee R, Wesgate R, Wilkinson MA, Sharpe T, Maillard JY. Disinfectant wipes are appropriate to control microbial bioburden from surfaces: use of a new ASTM standard test protocol to demonstrate efficacy. *J Hosp Infect* 2015; 91: 319-325

Sattar SA. Decontamination of high-touch environmental surfaces in healthcare: quantitative assessment of disinfectant pre-soaked wipes. *Intern J Infect Dis* 2016; 45: 285

Schröppel K und Riessen R. Multiresistente Gram-negative Bakterien. Problemkeime des 21. Jahrhunderts. *Med Klin Intensivmed* 2013; 108: 107-112

Schweins M, Stegmaier T, Gresser TG. Einflussfaktoren auf die Flächenleistung wirkstoffgetränkter Einmal-Wischtücher zur Reinigung und Desinfektion im medizinischen Bereich. *Hyg Med* 2015; 40: 144-149

Scott E und Bloomfield SF. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J Appl Bacteriol* 1990; 68: 271-278

Shek K, Patidar R, Kohja Z, Liu S, Gawaziuk JP, Gawthrop M, Kumar A, Logsetty S. Rate of contamination of hospital privacy curtains on a burns and plastic surgery ward: a cross-sectional study. *J Hosp Infect* 2017; 96: 54-58

Shiomori T, Miyamoto H, Makishima K, Yoshida M, Fujiyoshi T, Udaka T, Inaba T, Hiraki N. Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *J Hosp Infect* 2002; 50: 30-35

Siani H und Maillard JY. Best practice in healthcare environment decontamination. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34: 1-11

Soumet C, Méheust D, Pissavin C, Le Grandois P, Frémaux B, Feurer C, Le Roux A, Denis M, Maris P. Reduced susceptibilities to biocides and resistance to antibiotics in food-associated bacteria following exposure to quaternary ammonium compounds. *J Appl Microbiol* 2016; 121: 1275-1281

Starlander G und Melhus A. Minor outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit due to a contaminated sink. *J Hosp Infect* 2012; 82: 122-124

Stewardson A, Allegranzi B, Sax H, Kilpatrick C, Pittet D. Back to the future: rising to the Semmelweis challenge in hand hygiene. *Future Microbiol* 2011; 6: 855-876

Stiefel U, Cadnum JL, Eckstein BC, Guerrero DM, Tima MA, Donskey CJ. Contamination of hands with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after contact with environmental surfaces and after contact with the skin of colonized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32: 185-192

Suwa M, Oie S, Furukawa H. Efficacy of disinfectants against naturally occurring and artificially cultivated bacteria. *Biol Pharm Bull* 2013; 36: 360-363

Tajeddin E, Rashidan M, Razaghi, M, Javadi SS, Sherafat SJ, Alebouyeh M, Sarbazi MR, Mansouri N, Zali MR. The role of the intensive care unit environment and health-care workers in the transmission of bacteria associated with hospital acquired infections. *J Infect Public Health* 2016; 9: 13-23

Tamma PD, Savard P, Pal T, Sonnevend A, Perl TM, Milstone AM. An outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012; 33: 631-634

Tuladhar E, Hazeleger WC, Koopmans M, Zwietering MH, Beumer RR, Duizer E. Residual viral and bacterial contamination of surfaces after cleaning and disinfection. *Appl Environ Microbiol* 2012; 21: 7769-7775

Umezawa K, Asai S, Ohshima T, Iwashita H, Ohashi M, Sasaki M, Kaneko A, Inokuchi S, Miyachi H. Outbreak of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST219 caused by oral care using tap water from contaminated hand hygiene sinks as a reservoir. *Am J Infect Control* 2015; 43: 1249-1251

Vonberg RP und Graf K. Epidemiologie und Prävention. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz T, Hrsg. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin-New York: Springer, 2012: 157-160

Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens. *Am J Infect Control* 2010; 38: 25-33

Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26: 338-344

Weber DO, Gooch JJ, Wood WR, Britt EM, Kraft RO. Influence of operating room surface contamination on surgical wounds: a prospective study. *Arch Surg* 1976; 111: 484-488

Webster J, Faogali JL, Cartwright D. Elimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a neonatal intensive care unit after hand washing with triclosan. *J Paediatr Child Health* 1994; 30: 59-64

Weinstein RA. Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units. *Am J Med* 1991; 91: 179-184

Werner J. Medizinische Statistik. Eine praktische Anleitung für Studierende, Doktoranden, Ärzte und Biologen. München-Wien-Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1984

Werner S, Naujox K, Rehm ME, Brückner E. Methode zur Beurteilung der Flächenleistung wirkstoffgetränkter Einmaltücher zur Flächendesinfektion. *Hyg Med* 2018; 43: 93-99

Wessels S und Ingmer H. Modes of action of three disinfectant active substances: a review. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013; 67: 456-467

West AM, Nkemngong CA, Voorn MG, Wu T, Li X, Teska P, Oliver HF. Surface area wiped, product type, and target strain impact bactericidal efficacy of ready-to-use disinfectant towelettes. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018; 7: 122-130

West AM, Teska P, Oliver HF. There is no bacterial efficacy on environmental protection agency-registered disinfectant towelettes after surface drying or beyond label contact time. *Am J Infect Control* 2019; 45: 27-32

Widulle A, Kramer A, Reichwagen S, Heldt P. Oberflächenaktive Verbindungen. In: Kramer A, Assadian O, Hrsg. Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart – New York: Georg Thieme, 2008: 770-771

Zhou Z, Hu B, Gao X, Bao R, Chen M, Li H. Sources of sporadic *Pseudomonas aeruginosa* colonizations/infections in surgical ICUs: association with contaminated sink trap. *J Infect Chemother* 2016; 22: 450-455