

Herrn Thomas Nass,  
Geschäftsführer DIOP  
Herrn Christian Lüder-Weckler  
Hygienefachkraft  
Diop GmbH

**Per E-Mail**

**Sachverständigenbüro**

Ansprechpartner:  
**PD Dr. med. Andreas Schwarzkopf**  
Phone: 09708-9100-730  
Fax: 09708-9100-860  
Mobil: 0171-8255748  
[a.schwarzkopf@institutschwarzkopf.de](mailto:a.schwarzkopf@institutschwarzkopf.de)

Anschrift Geschäftsstelle:  
**Institut Schwarzkopf GbR**  
Mangelsfeld 16  
97708 Bad Bocklet

Datum: 22.10.18

**Stellungnahme zur Validierung des Verneblungsverfahrens DiosolGenerator®, Schwerpunkt Sporozidie**

Sehr geehrter Herr Nass, sehr geehrter Herr Lüder-Weckler,

in oben genannter Angelegenheit haben Sie den Auftrag erteilt, Stellung zu den Validierungsmöglichkeiten der Wasserstoffperoxid-Verneblung in Bezug auf die Sporozidie zu nehmen.

**1. Situation**

Die Firma Diop vertreibt das Verneblungsgerät DiosolGenerator® und hat es sowie die zu vernebelnde Substanz ausführlich begutachten lassen. Dabei wurde für das in verschiedenen Konzentrationen vernebelbare Präparat Diosol® nach Richtlinien der DGHM vorgegangen. In abweichenden Versuchsaufbauten wurde mittels mikrobiologischer Prüfkörper (unter anderem mit dem Sporenbildner *Bacillus subtilis*) auch die Wirkung der Verneblung beurteilt. Zunehmend verlangen Kunden nun eine standardisierte Validierung, wobei derzeit der Standard des Robert-Koch-Instituts heranzuziehen ist. Potentielle Erreger, die Sporen bilden, sind derzeit vor allem *Clostridium difficile* (Erreger der Antibiotika-assoziierten Colitis), seltener *Clostridium perfringens* (Gasbrand). Erwähnenswerte menschenpathogene Sporenbildner sind *Bacillus cereus* (Lebensmittelintoxikationen, Wundinfektionen) und *Bacillus anthracis* (Pustula maligna, Milzbrand).

**2. Genereller Wirksamkeitsnachweis in der Flächendesinfektion**

2.1 Gesetzliche Anforderungen

Die gesetzlichen Anforderungen an die Flächendesinfektion sind zum einen in der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV, Risiko und Risikovermeidung im Umgang mit chemischen Substanzen) mit Technischen Regeln für Gefahrstoffen (TRGS), zum anderen in der Biostoff-Verordnung (BiostoffV) und den dazugehörigen Technischen Regeln für biologische Arbeitsstoffe (TRBA) festgelegt. Im letzteren Fall geht es um den Schutz von Mitarbeitenden vor Krankheitserregern, hierzu sind funktionierende Verfahren zur Desinfektion zu etablieren und die Durchführung zu kontrollieren.

Der Patientenschutz ist der mit der Novelle des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) 2011 nach § 23 Abs. 3 IfSG in den Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) am Robert-Koch-Institut in Berlin (RKI) geregelt. Anzuwenden ist hier die KRINKO/RKI-Empfehlung

„Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen“, die 2004 veröffentlicht wurde.

Nach § 18 IfSG kann darüber hinaus bei amtsärztlich angeordneten Desinfektionen seitens der Behörde das Desinfektionsverfahren vorgeschrieben werden, dann sind verbindlich Verfahren aus der Liste des Robert-Koch-Institutes anzuwenden. In diese wurde die Wasserstoffperoxid-Verneblung 2013 aufgenommen.

### 2.2 Normative Anforderungen ohne verbindlichen Charakter

Rechtlich gesehen entsprechen Normen dem Stand der Technik, sind somit nicht verbindlich. Zu beachten ist aber, dass eine Begutachtung stattfinden muss, um den Wirkungsnachweis im Sinne von IfSG, BiostoffV und TRBA zu führen. Daher ist es sinnvoll, wenn Präparate zur Flächendesinfektion die Anforderungen des Ausschusses CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erfüllen. Diese sind in der Übersichtsnorm EN 14885:2014 dargelegt.

### **3. Zusammensetzung des zu vernebelnden Flächendesinfektionsmittels**

Das Produkt hat als wirksame Komponenten Wasserstoff und Silberionen. Bescheinigungen über die toxikologische Unbedenklichkeit bei bestimmungsgemäßem Gebrauch liegen vor, sind jedoch dosis- und anwendungsabhängig. Das Risiko kann anhand der gefahrstoffrechtlichen Symbolkennzeichnung ermittelt werden, auf die jedoch im Weiteren nicht eingegangen wird. Die höchste zur Verneblung vorgesehene Konzentration (sporo- und viruzid) ist bei der Diosol®-Produktreihe 19 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### **4. Anforderungen an das zu vernebelnde Flächendesinfektionsmittel**

#### 4.1 Generelle Erwägungen

Welcher Test für welche Anwendung erforderlich ist, um eine bestimmte Desinfektionswirkung nachzuweisen, ist detailliert in der Norm DIN EN 14885:2014 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Anwendung europäischer Normen für chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“, veröffentlicht im Mai 2014 beschrieben.

In Deutschland werden traditionell die Methoden der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) angewendet. Diese sind ebenfalls nach Anwendungsgebieten aufgeteilt, nämlich Hygienische Händewaschung, Hygienische und chirurgische Händedesinfektion, Hautantiseptik, Flächendesinfektion, Instrumentendesinfektion (manuell), Wäschedesinfektion, wobei eine Harmonisierung mit den Europäischen Normen stattgefunden hat, wenn diese bereits abgeschlossen vorliegen. Der Verbund für Angewandte Hygiene e.V. (VAH) veröffentlicht regelmäßig eine Liste von Desinfektionsmitteln. Ein normativer Charakter besteht – für Amtsärzte und deren Desinfektionsanordnungen – aber nur bei der RKI-Liste.

Generell ist weiterhin darauf zu achten, dass das zur Desinfektion verwendete Präparat kompatibel mit der zur Ausbringung angewandten Technik ist, im Falle der Wischdesinfektion darf es nicht zur Interaktion mit dem zur Lappen- oder Wechselbezugsaufbereitung genutzten Chemikalien kommen, im Falle der Verneblung muss die Verneblungstechnik passen.

#### 4.2 Abtötung bakterieller Erreger und Hefepilze im Suspensionstest

Zu ermitteln sind Paarungen aus Konzentration und Einwirkzeit bei definierten Bedingungen und organischen Belastungen. Für Diosol® wurden hierzu bereits aktuelle Gutachten vorgelegt. Die Methodik

ist der Norm EN 13727-2012 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Suspensionstest zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich — Prüfverfahren und Anforderungen“ (Phase 2, Stufe 1) zu entnehmen, die Stufe 2 ist dann nach EN 13697 zu meistern. Für Pilze gelten entsprechend EN 13624 und 13697. Die Wirksamkeit gegen Erreger mit lipidhaltiger Zellwand (Mykobakterien) wird nach EN 14348 und von Sporen nach EN 13704:2002 (die allerdings für den Lebensmittelbereich gilt) nachgewiesen bzw. getestet. Im vorliegenden Fall wurden hierzu die folgenden Gutachten vorgelegt:

#### 4.3 Sporozidie

Hier liegen frühere Begutachtungen gegen Sporenbildner (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus anthracis*) vor. In beiden Fällen wurde ein Suspensionstest ohne Belastung durchgeführt.

Eingewandt werden kann, dass dies praxisfremd ist, umso mehr, da Sporenbildner, die versorgt sind, kaum Sporen bilden.

Eine europäische Norm zur Prüfung der Sporozidie speziell für humanmedizinische Einrichtungen steht derzeit nicht zur Verfügung, jedoch kann die für Lebensmittel entwickelte EN 13704:2002 mit reinen und unreinen (0,3 bzw. 3 % Albumin) herangezogen werden. Für Phase 1-Tests wird DIN 14 347:2005-08 angewendet.

Als aktuelle Begutachtung aus der Praxis liegt hier vor:

Universitätsmedizin Göttingen, Dr. U. Schmelz, Mikrobiologische und chemische Validierung einer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Desinfektionskammer mittels Kaltvernebelung, Sporen: *Geobacillus atrophaeus*, 2014

Mittlerweile wurde mit Sporenträgern mit dem vom RKI präferierten *Geobacillus stearothermophilus* in Feldversuchen (Medizinprodukteaufbereitung, Aufbereitung von Fahrzeugen des Rettungsdienstes und der Polizei) gezeigt, dass ein Reduktionsfaktor von 6 zu erreichen ist, wenn eine entsprechende Konzentration von Wasserstoffperoxid vernebelt wird.

### **5. Praxistest Verneblung**

Ziel dieser Untersuchung war es, zu prüfen wie effektiv das System in der Lage ist, in einem Raum kontaminierte Flächen, ohne begleitende Maßnahmen wie Wischen, Vorreinigen etc. zu dekontaminieren bzw. effektiv zu desinfizieren. Das Raumvolumen eines geeigneten Testraumes wurde errechnet und das Gerät für die Versuche auf die Reglerstufe 30 eingestellt. Alle folgenden Versuchsdarstellungen wurden unter den hier genannten Bedingungen durchgeführt.

#### 5.1 Verneblungsleistung

Im ersten Versuch wurde in einer Messreihe die Konstanz der Pumpleistung bzw. des Desinfektionsmittelverbrauches des Gerätes bei 10 aufeinander folgenden Betriebszyklen bestimmt. Hierzu wurde einerseits die Laufzeit der Schaltuhr gemessen, andererseits das Gewicht der verbrauchten Lösung (simuliert durch Leitungswasser) bestimmt. Die Messung der Betriebskonstanz ergab bei der Laufzeit eine Abweichung von  $\pm 1,7\%$ . Dies entspricht einer Lösungsmenge von  $\pm 1,1\text{g}$ . Bei der Messung der verbrauchten Lösung wurde eine Abweichung von  $\pm 4,8\%$  bzw.  $\pm 3\text{g}$  gemessen. Mit einer Abweichung von 5% kann das System als konstant angesehen werden, eine Reproduzierbarkeit der Verneblungsleistung ist damit gegeben. Durch technische Optimierungen konnte dieser Wert konstant beibehalten werden.

#### 5.2 Bestimmung der Toleranz bei Fehleinstellung

Diese Versuche dienten der Feststellung, welche Desinfektionsleistung bei Unterdosierung z.B. durch Fehler bei der Raumvolumen-Berechnung oder der entsprechenden Einstellung erzielt werden kann.

Hierzu wurde eine „Teststrecke“ in Form einer glatten Fläche von 4,00 m x 0,5 m aufgebaut, die mit einer Bakteriensuspension + Proteinzusatz (E. coli, Keimkonzentration ca.  $10^3 - 10^4$  KBE/ml Keimsuspension, S. aureus, Keimkonzentration ca.  $10^3 - 10^4$  KBE/ml Keimsuspension und Candida albicans, Keimkonzentration ca.  $10^3 - 10^4$  KBE/ml + 0,3 % Albumin als Eiweißbelastung) homogen kontaminiert wurde. Nach Aufbringen der Keimsuspension und einer Stunde Antrocknungszeit für die Suspension wurde das Gerät am Ende der Teststrecke aufgestellt und zunächst wie vorgeschrieben, dann – jeweils nach Reinigung, Ethanoldesinfektion und Neukontamination - mit einer um 25 % und schließlich mit einer um 50 % reduzierten Nebelmenge eingesetzt. Zum Nachweis der Keimabtötung werden jeweils 45 Minuten nach Ende der Verneblung von der Testfläche in verschiedenen Abständen zum Gerät 8 Abklatschproben (mit geeignetem Enthemmer) entnommen und anschließend bei 36°C bebrütet. Eine Bewertung der Platten erfolgte nach 18, 48 und 72 Stunden Bebrütung, auch dann noch negative Platten wurden maximal 120 Stunden bebrütet. Parallel dazu wurden an kritischen Stellen (Hohlräume, mögliche Sprüschatten, rückwärtige Seite des Gerätes etc.) Indikatoren für den H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Nachweis ausgelegt und am Versuchsende hinsichtlich H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Kontakt ausgewertet. Darüber hinaus wurde vor und nach jedem Versuch die Raumtemperatur und die relative Feuchte bestimmt und dokumentiert.

### 5.3 Inaktivierung von Bioindikatoren

Mit dem Einsatz kontaminierter Indikatorträger aus unterschiedlichen Materialien wurde Phase 2, Stufe 2 eingeleitet. Dabei wurden auch schwierige Situationen, z.B. das Innere von Schubladen, simuliert. Diese Untersuchungen wurden vom Labor Bionovis, Gießen, Herr Dr. Käflein, in den Jahren 2006-2007 durchgeführt.

Auch höher belastete Indikatoren mit Bacillus subtilis in jeweils 1 % Albumin und Erythrozyten ergaben im unmittelbaren Nebelbereich des Geräts eine Desinfektion mit dem Reduktionsfaktor 5 (100.000 Bakterien auf ein Bakterium) der Testkeime. Selbst bei den der Verneblung am wenigsten ausgesetzten Prüfkörpern wurde noch ein Reduktionsfaktor von 2 entsprechend einer Reinigung erzielt (Institut Schwarzkopf/Labor L+S AG, Bad Bocklet, 2010).

## **6. Vor-Ort-Validierung**

Auf Grund der Mobilität und breiten Einsetzbarkeit des Verfahrens müssen zur Planung der Validierung die örtlichen Gegebenheiten mitberücksichtigt werden. Dies gilt insbesondere für die vorhandenen Medizinprodukte, wenn diese mit desinfiziert werden sollen.

### 6.1 Vorbereitungen zur Validierung

#### 6.1.1 Bestimmung der benötigten Konzentration

Zur sicheren Desinfektion von Sporenbildnern beträgt die benötigte Konzentration 19 % Wasserstoffperoxid.

#### 6.1.2 Ermittlung des Raumvolumens und damit des Verneblungsvolumens

Das Raumvolumen kann auch auf Grund der Fläche in Quadratmetern und der Raumhöhe (in der Regel 2,60 m – 3 m) abgeschätzt werden. Bei der Einstellung der Verneblungszeit sollte ein Sicherheitszuschlag von > 10 % eingerechnet werden.

### 6.1.3 Feststellung der Raumdichtigkeit gegenüber Luft

Alle aerogenen Verfahren sind darauf angewiesen, dass keine nennenswerten Luftbewegungen während der Einwirkzeit stattfinden. Daher ist die Raumdichtigkeit zu prüfen und sicherzustellen, z.B. durch Verkleben von Türen, Abluftschächten etc..

### 6.1.4 Auswahl des Messverfahrens zur Prozesskontrolle

Zur Analyse der Durchdringung des Raums mit dem vom Gerät erzeugten Nebel können verschiedene nichtbiologische Messverfahren herangezogen werden. Als praktikabel haben sich Logger für die relative Luftfeuchte und/oder Chemoindikatoren für H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erwiesen, mit orientierender Anzeige der ppm/m<sup>3</sup> durch unterschiedliche Blaufärbung des Testfeldes.

Diese sind an Stellen zu platzieren, die bei der vorherigen in Augenscheinnahme als schwer zugänglich identifiziert wurden.

Das nichtbiologische Messverfahren entspricht der Prozesskontrolle und wird bei der Erstvalidierung etabliert. Da jeder Einsatzort andere Kriterien hat, sind die Messpunkte zu bestimmen, an denen eine Erreichung der definierten Zielgröße (z. B. Indikatorumschlag, Anstieg der relativen Luftfeuchtigkeit um 20 %) gefordert wird. Daher ist es sinnvoll, die Validierung jeweils für viele Räume oder Geräte repräsentativen Testräumen oder Geräte durchzuführen. Dann kann – unter Verwendung einheitlicher Messpunkte – eine Prozesskontrolle durchgeführt und dokumentiert werden. Ein Gerät zur ppm Bestimmung erlaubt die Freimessung der Räume nach Belüftung, die Restkonzentration darf 0,5 ppm nicht übersteigen.

### 6.1.5 Auswahl der Bioindikatoren zur Leistungskontrolle/Erstvalidierung

Bei der Auswahl wird wiederum die Risikobewertung berücksichtigt. Mitarbeitende des RKI haben *Geobacillus stearothermophilus* als Prüfkeim favorisiert, der den Vorteil hat, in gebrauchsfertigen Streifen kommerziell zur Verfügung zu stehen, allerdings ohne Blutbelastung. Diese Teststreifen empfehlen sich immer dann, wenn Räume mit sehr geringer Belastung vernebelt werden sollen, also beispielsweise Reinnräume. Da die Verneblung nach RKI nach einer Wischinfektion eingesetzt wird, ist auch hier in aller Regel von saubereren Verhältnissen auszugehen. Bei möglicher Blutbelastung empfehlen sich die oben beschriebenen OP-Fliesen als Prüfkörper, für die sich *Enterococcus faecium* oder *Geobacillus stearothermophilus* als Prüfkeime eignen. Die Teststreifen-Prüfkörper sind möglichst vor Ort in eine Nährbouillon zu geben, um den Prozess der Desinfektion zu unterbrechen. Dies ist bei den blutkontaminierten Prüfkörpern nicht möglich, aber auch wegen der Katalase nicht unbedingt erforderlich. Dennoch ist auch hier auf einen schnellen Transport zu achten.

Bei Flächen ohne Vordesinfektion können auch Abklatschplatten (RODAC mit Enthammer, 25cm<sup>2</sup>) zum Einsatz kommen.

Der Test gilt als bestanden, wenn ein Reduktionsfaktor > 5 erreicht wird, bei RODAC-Platten im Vorher-Nachher-Vergleich mindestens 90 % Unterschied bestehen (Keimreduktion).

### 6.1.6 Dokumentationspflichten im Validierungsprozess

Die folgenden Daten sind im Validationsbericht aufzuführen:

- Ort, Datum, Durchführende(r)
- Eingesetzter Generator (Seriennummer), gewählte Konzentration, Verfallsdatum des Gebindes
- Geschätzte oder gemessene Raumgröße, gewählte Einstellung, % Sicherheitszuschlag (berechnet)
- Abdichtung des Raums, wenn erforderlich, auch wo und wie
- Raumtemperatur in °C, relative Feuchte (jeweils zulässiges Minimum/Maximum)

- Beschreibung des Standorts des Gerätes (Skizze, Foto), bei Medizinprodukten (z. B. Indikatoren) auch Beschreibung des Geräts und/oder Foto, Skizze zeigt Messpunkte am Gerät.
- Verwendete Indikatoren, Logger, RODAC oder biologische Prüfkörper mit genauer Beschreibung und Kalibrierungsunterlagen (Logger), bei Bioindikatoren Ausgangskeimzahl und verwendeter Testkeim.
- Messpunkte (in Räumen obligat einer hinter dem Gerät oder, falls nicht möglich, auf dem Gerät, die anderen in verschiedenen Abständen an schwer zu erreichenden Stellen nach Wahl, einer in der weitesten Entfernung vom Gerät oder z.B. in der Nasszelle, wenn das Gerät im Zimmer steht). Die Messpunkte sind mit Entfernungen und Identifikationsnummern in eine Skizze einzutragen.
- Ergebnisse der Indikatoren und Bioprüfkörper und/oder RODAC (hier Laborprotokoll des DAkkS-akkreditierten Labors)
- Schlussfolgerung (Bestanden oder nicht Bestanden)
- Empfehlungen des Validierenden zur Prozesskontrolle (Indikatoren, Messpunkte)

## 7. Arbeitsanweisung

Zur Darstellung eines Prozesses gehört obligat die Arbeitsanweisung, die im Idealfall zur Validierung vorliegt und mit geprüft wird. Hier sind die folgenden Anforderungen zu erfüllen:

Indikationen festlegen, z. B.

- Medizinproduktaufbereitung (hier § 8 MPBetreibV beachten!)
- Raumaufbereitung von Isolierzimmern

### Medizinproduktvorbereitung

- Entfernung von Einmalmaterial
- Grobreinigung, Wischdesinfektion

### Vorbereitung des Generators

- Gebinde des Desinfektionsmittels prüfen (intakt, Verfallsdatum)
- Gebinde in Gerät einbringen
- Gerät nach Herstellerangaben in Bereitschaft versetzen
- Protokoll beginnen (Datum, Uhrzeit, Durchführender, Raum- oder Lotnummer)
- Logger und Indikatoren prüfen und bereitstellen, bei Validierungen auch Bioindikatoren

### Raumvorbereitung

- Entfernen von gelagertem Sterilgut
- Öffnen von Schränken und Schubladen
- Fenster schließen, ggf. Raumluftechnische Anlage abstellen (nicht reine Abluft in Nasszellen, hier abkleben)
- Markieren des Raumes („Desinfektionsprozess, Betreten verboten“), Einbringen des nach Herstellerangaben aufgerüsteten Geräts
- Auslegen von Indikatoren, Logger

### Durchführung Raumdesinfektion

- Messung von Temperatur und relativer Feuchte, Eintragen in das Protokoll
- Einstellen des Geräts (nach Raumgröße, wie festgelegt und validiert)
- Betätigen der Schaltuhr (wie validiert), Verlassen des Raumes

- Türe schließen, Einwirkzeit berechnen und an Tür befestigen
- Lüftung nach Ende der Einwirkzeit (Schutzkleidung!)
- Ablesen der Chemoindikatoren, Auslesen Logger
- Raum freigeben (Freimessung ppm!)

Gerät abrüsten, nach Herstellerangaben reinigen, lagern.

Diese Punkte können selbstverständlich nach Bedarf modifiziert werden. Weiter Angaben können dem Anhang 3 der KRINKO/RKI-Empfehlung „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“ zu entnehmen, wobei zu beachten ist, dass diese für Reinigungs- und Desinfektionsgeräte gilt. Dennoch können bezüglich einer Validierung hier Elemente entnommen werden. Eine weitere Informationsquelle sind die Angaben in der RKI-Liste zu diesem Verfahren.

### 8. Zusammenfassende Bewertung

Eine Validierung muss zeigen, dass ein Desinfektionsprozess reproduzierbar sicher funktioniert. Daher sind die Toleranzen auszuloten und mehrere Läufe müssen zeigen, dass die festgelegten Standorte für das Gerät in verschiedenen Räumen und die Messpunkte ihren Zweck den Anforderungen entsprechend erfüllen. Im Gegensatz zu anderen Desinfektionsverfahren sind Temperatur und Luftfeuchtigkeit von tragender Bedeutung. Die obligat zu erstellende Arbeitsanweisung soll sicherstellen, dass kein Schritt vergessen oder fehlerhaft durchgeführt wird. Dann kann Sporozidie mit der entsprechenden Konzentration reproduzierbar erreicht werden.

Für Rückfragen stehe ich gerne zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen



PD Dr. med. A. Schwarzkopf  
Facharzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie  
Ö.b.u.b. Sachverständiger für Krankenhaushygiene