



Firma Alltec GmbH
Herrn Andreas Dölling
Stettiner Straße 16

35410 Hungen



Akkreditiertes analytisches
Labor und Beratungsstelle
Humboldtallee 34A
D-37073 Göttingen

Dr. med. Ulrich Schmelz
Tel.: 05 51 / 39 4973
E-Mail: Ullischmelz@aol.com

Labor:
Telefon: 05 51 / 39-4970
Fax: 05 51 / 39-4957

Datum: 09. April 2013

Prüfbericht

Bestimmung der mikrobioziden Inaktivierungsleistung des DIOSOL-Verfahrens im quantitativen Suspensionsversuch mit praxisnahen Keimträgern am Beispiel von *Mycobacterium terrae* und *Mycobacterium tuberculosis*

1. Fragestellung:

Im quantitativen Suspensionsversuch soll die mikrobiozide Inaktivierungsleistung des DIOSOL-Verfahrens mit praxisnahen Keimträgern geprüft werden. Das DIOSOL - Verfahren (DIOSOL-Generator Standard) beruht auf der definierten Kaltvernebelung von DIOSOL-Lösung 12 und 19 (Wasserstoffperoxidlösung w=12%, respektive 19%) in einem Raum zum Zweck der Raum - und Oberflächendesinfektion. Hierbei wird in Abhängigkeit des Raumvolumens ein definiertes Volumen DIOSOL -Lösung in ein Aerosol überführt; das Aerosol wird über eine definierte Expositionszeit den Flächen des Raumes gegenüber expositioniert.

Folgende Testkeime werden geprüft:
Mycobacterium terrae (ATCC 15755)
Mycobacterium tuberculosis

Auf diese Weise wird sowohl die Wirksamkeit gegenüber in dem in den DGHM - Standardprüfmethoden vorgesehenen Keim (*Mycobacterium terrae*), als auch gegenüber dem infektiologisch relevanten Keim (*Mycobacterium tuberculosis*) geprüft.

Als praxisnahe Keimträger werden Edelstahlplatten 10*10cm Kantenlänge (Fläche = 100cm²) verwendet. Die Edelstahlplatten weisen eine Rauhtiefe von 100µm auf.

Zur Vorbereitung des Inaktivierungsversuches werden die Keimträger zunächst mittels Dampf entsprechend DIN EN 285 sterilisiert.

Anschließend werden die Keimträger auf einer Seite mit einer Suspension des jeweiligen Testkeims bestrichen. Jeder Ansatz wird doppelt angelegt. Einer der beiden Ansätze wird direkt mit der Keimsuspension beladen (im folgenden bezeichnet als „Keimträger“), der andere Ansatz wird mit einer Keimsuspension, die zusätzlich 0,3% Rinderserumalbumin und 0,3% Schaferythrozyten enthält, behandelt (im folgenden bezeichnet als „Keimträger + organische Last“). Die Aufschaltung einer organischen Last erfolgt analog der Empfehlung in den Standardprüfmethoden der DGHM.

Nach Beaufschlagung mit dem jeweiligen Testkeim werden die Keimträger zunächst bei 36°C getrocknet und anschließend für die Untersuchung verwendet.

Zur Prüfung der mikrobioziden Reduktionsleistung werden die beaufschlagten Keimträger in den Prüfraum verbracht (Raumvolumen 16m³). Die Keimträger werden im Prüfraum horizontal plaziert, die keimbeaufschlagte Seite weist nach unten. Die Keimträger werden auf Regalböden, die im Raum in einer Höhe von 1m über dem Fußboden angebracht sind, plaziert. Zwischen Regalboden und Prüfkörper wird mittels Distanzhülsen ein Abstand von 5cm gewährt, sodaß das Aerosol an die nach unten weisende, keimbeaufschlagte Seite des Prüfkörpers gelangen kann.

Das DIOSOL-Verfahren wird nach Herstellervorgabe angewandt, sobald die vorbereiteten Prüfkörper wie zuvor beschrieben plaziert sind. Nach der vorgeschriebenen Wartezeit des DIOSOL-Verfahrens (die Wartezeit ist abhängig vom Raumluftvolumen) werden die Prüfkörper unter sterilen Bedingungen eingepackt und unmittelbar für die Bestimmung der Keimzahl nach Desinfektion verwendet.

Es wird der dekadische Logarithmus der Keimzahl vor Desinfektion (initiale Keimzahl) und der dekadische Logarithmus nach der Keimzahl nach Desinfektion gebildet. Durch Subtraktion der Logarithmen der Keimzahl wird der logarithmische Reduktionsfaktor gebildet, welcher die Keimreduktionsleistung darstellt. Ein log. Reduktionsfaktor von 4 entspricht beispielsweise einem Wert von $10^4 = 10.000$, d.h. ein solcher Reduktionsfaktor entspricht einer 10.000-fachen Keimzahlreduktion.

2. Methodik:

Prüfmethodik nach DGHM -Vorgaben im Rahmen eines quantitativen Suspensionsversuches.

Die Keimträger werden zur Keimzahlbestimmung mit steriler Kochsalzlösung 0,9%, die noch 0,01% TWEEN 80 enthält, abgeschwemmt.

Von der Abschwemm -Suspension wird eine dekadische Verdünnungsreihe angelegt; von jeder Verdünnungsstufe wird eine Ausspatelung von 0,1mL auf Löwenstein-Jensen-Schrägagar angelegt. Es wird nach Inkubation der Nährboden der Verdünnungsstufe ausgezählt, der 10 bis 100 Kolonien zeigt. Auf diese Weise kann unter Berücksichtigung der Verdünnungsstufe die Keimzahl je Prüfkörper berechnet werden.

Die Inkubation erfolgt über 25 bis 35 Tage (je nach Wachstumsverhalten der Mikroorganismen) bei 36°C im Brutschrank.

Die Abschwemm-Suspension enthält noch 200ppm Natriumthiosulfat, um Rückstände des oxidativen Desinfektionsmittels (Wasserstoffperoxid als Wirkstoff des DIOSOL - Verfahrens) nach Abschluß der vorgesehenen Expositionszeit (entsprechend der Einstellungen des DIOSOL-Gerätes) zu inaktivieren.

Je Testkeim werden drei Prüfkörper parallel angelegt. Ein Prüfkörper dient der Bestimmung der initialen Keimzahl vor Desinfektion, der zweite Prüfkörper dient der Bestimmung der Keimzahl nach Desinfektion und der dritte Prüfkörper wird zur Bestimmung der Keimzahl nach Desinfektion mit organischer Last gemäß Punkt 1 verwendet.

3. Ergebnisse:

3.1 *Mycobacterium terrae* – DIOSOL 12:

Keimzahl initial:	$6,1 \cdot 10^6$ KbE/Prüfkörper = log 6,79
Keimzahl nach Desinfektion	$3,3 \cdot 10^3$ KbE/Prüfkörper = log 3,52
Keimzahl nach Desinfektion + org. Last	$4,1 \cdot 10^4$ KbE/Prüfkörper = log 4,61
Reduktionsfaktor ohne org. Last:	3,27
Reduktionsfaktor mit org. Last:	2,18

3.2 *Mycobacterium tuberculosis* – DIOSOL 12:

Keimzahl initial:	$6,8 \cdot 10^6$ KbE/Prüfkörper = log 6,83
Keimzahl nach Desinfektion	$5,8 \cdot 10^3$ KbE/Prüfkörper = log 3,76
Keimzahl nach Desinfektion + org. Last	$6,9 \cdot 10^4$ KbE/Prüfkörper = log 4,84
Reduktionsfaktor ohne org. Last:	3,07
Reduktionsfaktor mit org. Last:	1,99

3.3 *Mycobacterium terrae* – DIOSOL 19:

Keimzahl initial:	$6,1 \cdot 10^6$ KbE/Prüfkörper = log 6,79
Keimzahl nach Desinfektion	$2,3 \cdot 10^2$ KbE/Prüfkörper = log 2,36
Keimzahl nach Desinfektion + org. Last	$2,9 \cdot 10^2$ KbE/Prüfkörper = log 2,46
Reduktionsfaktor ohne org. Last:	4,43
Reduktionsfaktor mit org. Last:	4,33

3.4 Mycobacterium tuberculosis – DIOSOL 19:

Keimzahl initial:	$6,8 \cdot 10^6$ KbE/Prüfkörper = log 6,83
Keimzahl nach Desinfektion	$2,1 \cdot 10^2$ KbE/Prüfkörper = log 2,32
Keimzahl nach Desinfektion + org. Last	$2,4 \cdot 10^2$ KbE/Prüfkörper = log 2,38
Reduktionsfaktor ohne org. Last:	4,51
Reduktionsfaktor mit org. Last:	4,45

4. Interpretation:

Die initiale rel. Luftfeuchtigkeit bei 22°C im Prüfraum betrug 55 %; nach Ablauf der Desinfektion wurden ca. 67 % rel. Luftfeuchtigkeit festgestellt. Damit liegt die Taupunkttemperatur bei 15,6°C. Die durch das DIOSOL-Verfahren eingebrachte Feuchtigkeit führt demnach nicht zu einer nachteiligen Auswirkung auf das Innenraumklima. Die Befunde bei DIOSOL 12 und 19 sind nahezu identisch.

Die nachgewiesenen Reduktionsleistungen des DIOSOL-Verfahrens in Form des logarithmischen Reduktionfaktors weisen unter Verwendung von DIOSOL 19 (Wasserstoffperoxid-Konzentration $w = 19\%$) durchweg eine suffiziente mikrobiologische Inaktivierungsleistung im Sinne des Anspruches einer Desinfektion (Reduktionsleistung > 4 log-Stufen) aus.

Dabei wirkt eine organische Last (3,0% Rinderserumalbumin und 0,3% Schafererythrozyten) nur in geringer Weise zehrend auf das Desinfektionsprodukt. Selbst unter Zugewesenheit von organischer Last werden nur marginal geringere Reduktionsleistungen erreicht.

Unter den geprüften Bedingungen kann demnach eine mikrobiozide Wirkung im Sinne einer mycobakteriziden Wirkung für DIOSOL 19 testiert werden.

Die Verwendung von DIOSOL 12 führt im Vergleich mit DIOSOL 19 zu deutlich geringeren Reduktionsleistungen, d.h. im Falle einer annehmbaren oder sicher vorhandenen Kontamination durch Mycobakterien sollte immer DIOSOL 19 verwendet werden.

Das Verfahren ist ein oberflächenschonendes, passives und rückstandsfreies Desinfektionsverfahren, das unter Berücksichtigung der erreichbaren Reduktionsleistungen im Bereich der Raum- und Flächendesinfektion im humanmedizinischen, zahnmedizinischen und veterinärmedizinischen Anwendungsfeld das Desinfektionsverfahren als exzellentes Desinfektionsverfahren darstellt.

Gerade Oberflächen, die durch übliche Wischdesinfektionsverfahren nicht erreicht werden (Verwinkelungen, Hinterschneidungen, Sacklöcher) können auf diese Weise desinfiziert werden.

Gerne stehen wir für Rückfragen unter 0551 / 39 -4973 oder 0175 / 9150334 direkt zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen

A handwritten signature in black ink, reading "Ulrich Schmelz". The signature is written in a cursive style with a prominent initial 'U'.

Dr.med. Dipl.-Chem. Dipl.-Ing.(FH) Ulrich F. Schmelz
Arzt, Dipl.-Lebensmittelchemiker, Dipl.-Ing.(FH) Verfahrens- und Anlagentechnik
Ärztlicher Leiter des Trinkwasser- und Hygielabors der Universitätsmedizin Göttingen