

HyGES GmbH Postfach 100 654 41006 Mönchengladbach

Krankenhaus Düren gem. GmbH
Hygieneabteilung (z. Hd. Herrn Rey)
Roonstraße 30

D- 52351 Düren



Gesellschaft für Hygieneberatung
und -analytik GmbH

Wallstraße 10
41061 Mönchengladbach

Telefon 0 21 61 / 81 94 -113, -413
Telefax 0 21 61 / 81 94 -50

info@hyges.de
www.hyges.de

26. März 2013
Se/ HyGES

Bakteriologische Prüfung „der Wirksamkeit von ICIDIN Rapid 0,5% (v/v) bei Anwendung an Wandkacheln mit dem Farbanstrich Lucite LacTec 2k Pur Xtrem Satin.“

Sehr geehrter Herr Rey,

wie von Ihnen beauftragt, übersenden wir Ihnen den Prüfbericht zur bakteriologischen Prüfung „der Wirksamkeit von ICIDIN Rapid 0,5% (v/v) bei Anwendung an gestrichenen Wandkacheln (Lucite LacTec 2k Pur Xtrem Satin)“, in Anlehnung an die Standardtestmethoden der DGHM, Punkt 1. „Überprüfung der bakteriziden und fungiziden Wirkung auf nicht porösen Oberflächen“.

1. Beauftragung und Spezifikation:

Sie beauftragten uns mit der Durchführung zur Bestimmung der Desinfizierbarkeit von Wandkacheln.

Die Wandkacheln (OP- Fliesen) sind mit der Farbe „Lucite LacTec 2k Pur Xtrem Satin“ bestrichen und wurden vom Auftraggeber, in den Testgrößen 50 x 50 mm, gestellt. Das Desinfektionsmittelkonzentrat INCIDIN RAPID; 2432M S1611, MHD 10.2016, Fa. ECOLAB, wurde ebenfalls vom Auftraggeber gestellt. Die bakteriologische Prüfung hat gemäß ihrer Spezifikation mit drei unterschiedlichen Prüfkeimen, zu fünf unterschiedlichen Einwirkzeiten des Desinfektionsmittels auf den gestrichenen Wandkacheln, zu erfolgen.

2. Material und Methoden:

Die bakteriologischen Prüfungen wurden in Anlehnung an die Standardtestmethoden der DGHM, Punkt 14, „Überprüfung der bakteriziden und fungiziden Wirkung auf nicht porösen Oberflächen“, durchgeführt (siehe Anlage „Methodenteil“).

2.1 Testorganismen:

Es wurden drei Prüfkeime verwendet:
Staphylococcus aureus ATCC 6538P,
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
und *Candida albicans* ATCC 10231

Geschäftsführer: Martin Senger, Diplom-Biologe

Gesellschafter: Medizinisches Versorgungszentrum Dr. Stein + Kollegen, Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie, Infektionsepidemiologie, Virologie, Transfusionsmedizin, Humangenetik GbR

In beratender Funktion: Prof. Dr. med. Sören Gatermann, Arzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie
Dipl.- Biol. Dr. med. K. H. Nachtsheim, Arzt für Mikrobiologie, Infektionsepidemiologie und Virologie
Prof. Dr. med. Constanze Wendt, Ärztin für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie, Fachärztin für Hygiene



Von jedem frisch angezüchtetem Prüfkeim aus der hauseigenen Stammsammlung wird eine Prüfsuspension mit einem MacFarland von 0,5 hergestellt, welches einer Einsaat von etwa 1×10^7 bis 1×10^8 KBE/ ml entsprechen sollte.

Zur Simulation praxisnaher Bedingungen wird den Prüfsuspensionen maximal 2h vor den jeweiligen Prüfungen 0,3 % Rinderserum- Albumin (RSA, Fraktion V, Charge K43146818, Fa. MERCK) und 0,3 % Schaferthrythythen (Charge 52042000, MHD: 26.03.2013) – höhere organische Belastung – zugesetzt.

2.2 Testzeiten:

Als Testzeiten wurde t_0 (Start), $t_1 = 5$ min., $t_2 = 15$ min., $t_3 = 30$ min., $t_4 = 60$ min. und $t_5 = 240$ min ausgewählt.

2.3 Prüflösungen:

Als Prüflösungen wurden verwendet:

- 0,9% NaCl, eigene Herstellung, Charge 17, haltbar bis: 05.04.2013
- Natriumchlorid- Pepton- Lösung, eigene Herstellung, Charge 99, haltbar bis 13.03.13 (verwendet für bakteriologische Untersuchung mit Prüfkeim *Staphylococcus aureus*)
- Natriumchlorid- Pepton- Lösung, eigene Herstellung, Charge 20, haltbar bis 07.04.13 (verwendet für bakteriologische Untersuchung mit Testorganismen *P. aeruginosa* und *C.albicans*)
- Casein- Sojamehl- Pepton- Lösung (CSL, Fa. OXOID, Charge 1310304, MHD: 10.02.2014)

2.4 Testflächen:

Alle Testflächen werden während des gesamten Versuches waagrecht geführt. Als Testflächen dienen mit Farbe „Lucite LacTec 2k Pur Xtrem Satin“ bestrichene Kacheln, in den Testgrößen 50 x 50 mm. Zur Vorbereitung wurden die sauberen, noch nicht benutzten Testflächen in Sterilisierbeutel doppelt verpackt und autoklaviert (siehe Fotoanhang).

2.4.1 Kontamination der Wandkacheln:

Auf je Testfläche pro Prüfzeit wird 0,1 ml der Prüfsuspension(inkl. 0,3% RSA und 0,3% Schaferthrythyten) mit einer Pipette aufgebracht, mit einem Spatel auf dem mittleren Areal der Testfläche von 30 x 30 mm gleichmäßig verteilt und bis zur optischen Trockenheit (max. jedoch 60 min.) unter der Laminar Airflow aufbewahrt (siehe Fotoanhang, Foto 2).

2.4.2 Methodik:

Nach Antrocknung der Prüfsuspensionen (wie unter 2.4.1 beschrieben) werden die Testflächen mit 0,2 ml einer 0,5% (v/v) Incidin rapid-Lösung durch Verteilen mit einem Spatel behandelt.

Für den Nachweis rückgewinnbarer Prüforganismen (in KBE) werden die Testflächen in Petrischalen (10 cm Durchmesser) überführt, die 10 ml CSL- Lösung und Glasperlen (Fa. Behr, 4 mm Durchmesser) enthalten.

Das Abschwemmen erfolgt (mit den angeschmutzten Seiten zu den Glasperlen gerichtet) auf einem Schüttler (Fa. Neolab) für 2 Minuten, bei 700 rpm. Unmittelbar anschließend erfolgt eine Direktaussaat, 0,5 ml auf:

- MacConkey- Agar 3, Fa. OXOID, Lot- Ch.-B.: 1247576, MHD: 20.05.2013,

TSA- Blut- Agar, Fa, OXOID, Lot- Ch.-B.: 1319402, MHD: 30.04.2013,

für den Prüfkeim *Pseudomonas aeruginosa*

- CNA- Agar, Fa. OXOID, Lot- Ch.-B.: 1307347, MHD: 03.04.2013,

für den Prüfkeim *Staphylococcus aureus*

- Chromagar Candida, Fa. Beckton Dickinson, Lot- Ch.-B.: 3023304, MHD: 26.04.2013,

für den Prüfkeim *Candida albicans*.

Nach 5 Minuten wird eine 1: 10 Verdünnung aus den Abschwemmungen in Natriumchlorid- Pepton- Lösung angelegt (siehe Anlage „Methodenteil“).

Zu jedem Versuchsansatz werden Positivkontrollen (1. Testflächen angeschmutzt mit Prüfkeim + RSA + Schafblut und 2. Testfläche mit Prüfkeim + NaCl) und Negativkontrollen (Testflächen ohne Prüfkeim mit NaCl) mitgeführt.

2.4.3 Inkubation:

Die Bebrütung der CNA- und MacConkey- Agarplatten erfolgt für 48 h bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$, die Bebrütung der Chromagar-Platten wird für 72 h bei $30 \pm 1^\circ\text{C}$ vorgenommen.

2.5. Auswertung:

Es werden Nährböden ausgezählt, bei denen die Anzahl der KBE zwischen 15 und 300 liegt. Die Reduktionswirkung (RF) wird berechnet nach:

$$\text{RF} = \log_{10} (\text{KBE Ko1}) - \log_{10} (\text{KBE D})$$

KBE Ko1: Anzahl der KBE pro ml ohne Einwirkung des Desinfektionsmittels

KBE D : Anzahl der KBE pro ml nach Einwirkung des Desinfektionsmittels

3. Ergebnisse:

Den Ergebnistabellen 1-3 ist deutlich zu entnehmen, dass die eingesetzten Testkeime schon nach 15 minütiger Einwirkzeit des Desinfektionsmittels auf die mit Prüfsuspension (Testkeim + RSA+ Blut) angeschmutzten Prüfkacheln (Kacheln mit Farbanstrich Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin) nicht mehr nachweisbar waren (siehe Ergebnistabellen 1-3).

Ergebnistabelle 1: „Kachelversuch“ in Anlehnung an DGHM- Standardmethoden zur Flächendesinfektion: Überprüfung der bakteriziden und fungiziden Wirkung auf nicht porösen Oberflächen

Testkeim: **Staphylococcus aureus** + 0,3 % Rinderserumalbumin + 0,3% Schafsblut:
 Inkubation: 36°C, 48 h

Datum: Versuchsansatz am: 08.03.2013
 Uhrzeit: ab 9.00 Uhr – ca. 15.00 Uhr
 MTA: Frau Emine Cagan

Testkeim / Wiederfindung nach den Zeiten	t ₀ = 0 min. [KBE/ml]	t ₁ = 5 min. [KBE/ml]	t ₂ = 15 min. [KBE/ml]	t ₃ = 30 min. [KBE/ml]	t ₄ = 60 min. [KBE/ml]	t ₅ = 240 min. [KBE/ml]
Testreihe Kachel m. Farbe + S. aureus +RSA + Blut (0,1 ml) +INCIDIN 0,5% (v/v)	3,0 x 10 ⁶ RF = 0	130 RF= 4,4	n.n. RF = 4,3	n.n. RF = 5,0	n.n. RF = 5,18	n.n. RF = 5,3
Positivkontrolle1 Kachel mit Farbe + S. aureus +RSA + Blut (0,1 ml) ohne INCIDIN 0,5%	9 x 10 ⁵	3,2 x 10 ⁶	4 x 10 ⁵	2 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶
Positivkontrolle 2 Kachel mit Farbe + S. aureus + NaCl (0,9%)	4 x 10 ⁵	8 x 10 ⁵	1 x 10 ⁵	9 x 10 ⁴	6 x 10 ⁵	8 x 10 ⁴
Negativkontrolle- Kachel mit Farbe (Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin) + NaCl (0,9%)	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Legende: RSA = Rinderserum- Albumin; NaCl = Natriumchlorid;
 n.n. = nicht nachweisbar, unter der Nachweisgrenze von < 20 KBE/ ml

Ergebnistabelle 2: „Kachelversuch“ in Anlehnung an DGHM- Standardmethoden zur
Flächendesinfektion: Überprüfung der bakteriziden und fungiziden Wirkung auf
nicht porösen Oberflächen

Testkeim: **Candida albicans** + 0,3 % Rinderserumalbumin + 0,3% Schafsblut:
Inkubation: 30°C, 72 h

Datum: Versuchsansatz am: 13.03.2013
Uhrzeit: ab 10.00 – ca. 16.30 Uhr
MTA: Frau Emine Cagan

Testkeim / Wiederfindung nach den Zeiten	t ₀ = 0 min. [KBE/ml]	t ₁ = 5 min. [KBE/ml]	t ₂ = 15 min. [KBE/ml]	t ₃ = 30 min. [KBE/ml]	t ₄ = 60 min. [KBE/ml]	t ₅ = 240 min. [KBE/ml]
Testreihe Kachel m. Farbe + C. albicans +RSA + Blut (0,1 ml) +INCIDIN 0,5% (v/v)	4,0 x 10 ⁵ RF = 0	2,5 x 10 ² RF= 3,6	n.n. RF = 5,18	n.n. RF = 4,7	n.n. RF = 5,3	n.n. RF = 5,0
Positivkontrolle 1 Kachel mit Farbe + C. albicans +RSA + Blut (0,1 ml) ohne INCIDIN 0,5%	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶
Positivkontrolle 2 Kachel mit Farbe + C. albicans + NaCl (0,9%)	9 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	8 x 10 ⁴	4,8 x 10 ⁴	7,2 x 10 ⁴	6,2 x 10 ⁴
Negativkontrolle- Kachel mit Farbe (Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin) + NaCl (0,9%)	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Legende: RSA = Rinderserum- Albumin; NaCl = Natriumchlorid;
n.n. = nicht nachweisbar, unter der Nachweisgrenze von < 20 KBE/ ml

Ergebnistabelle 3: „Kachelversuch“ in Anlehnung an DGHM- Standardmethoden zur Flächendesinfektion: Überprüfung der bakteriziden und fungiziden Wirkung auf nicht porösen Oberflächen

Testkeim: ***Pseudomonas aeruginosa*** + 0,3 % Rinderserumalbumin + 0,3% Schafsblut:
Inkubation: 30°C, 72 h

Datum: Versuchsansatz am: 19.03.2013
Uhrzeit: ab 10.00 – ca. 16.30 Uhr
MTA: Frau Emine Cagan

Testkeim / Wiederfindung nach den Zeiten	t ₀ = 0 min. [KBE/ml]	t ₁ = 5 min. [KBE/ml]	t ₂ = 15 min. [KBE/ml]	t ₃ = 30 min. [KBE/ml]	t ₄ = 60 min. [KBE/ml]	t ₅ = 240 min. [KBE/ml]
Testreihe Kachel m. Farbe +<i>P.aeruginosa</i> +RSA + Blut (0,1 ml) +INCIDIN 0,5% (v/v)	1,0 x 10 ⁵ RF = 0	1,2 x 10 ² RF= 4,22	n.n. RF = 4,8	n.n. RF = 5,0	n.n. RF = 4,6	n.n. RF = 5,0
Positivkontrolle 1 Kachel mit Farbe + <i>P.aeruginosa</i> +RSA + Blut (0,1 ml) ohne INCIDIN 0,5%	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	8 x 10 ⁵	2 x 10 ⁶
Positivkontrolle 2 Kachel mit Farbe + <i>P.aeruginosa</i> + NaCl (0,9%)	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	7 x 10 ⁵	8 x 10 ⁵	1 x 10 ⁶
Negativkontrolle- Kachel mit Farbe (Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin) + NaCl (0,9%)	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Legende: RSA = Rinderserum- Albumin; NaCl = Natriumchlorid;
n.n. = nicht nachweisbar, unter der Nachweisgrenze von < 20 KBE/ ml

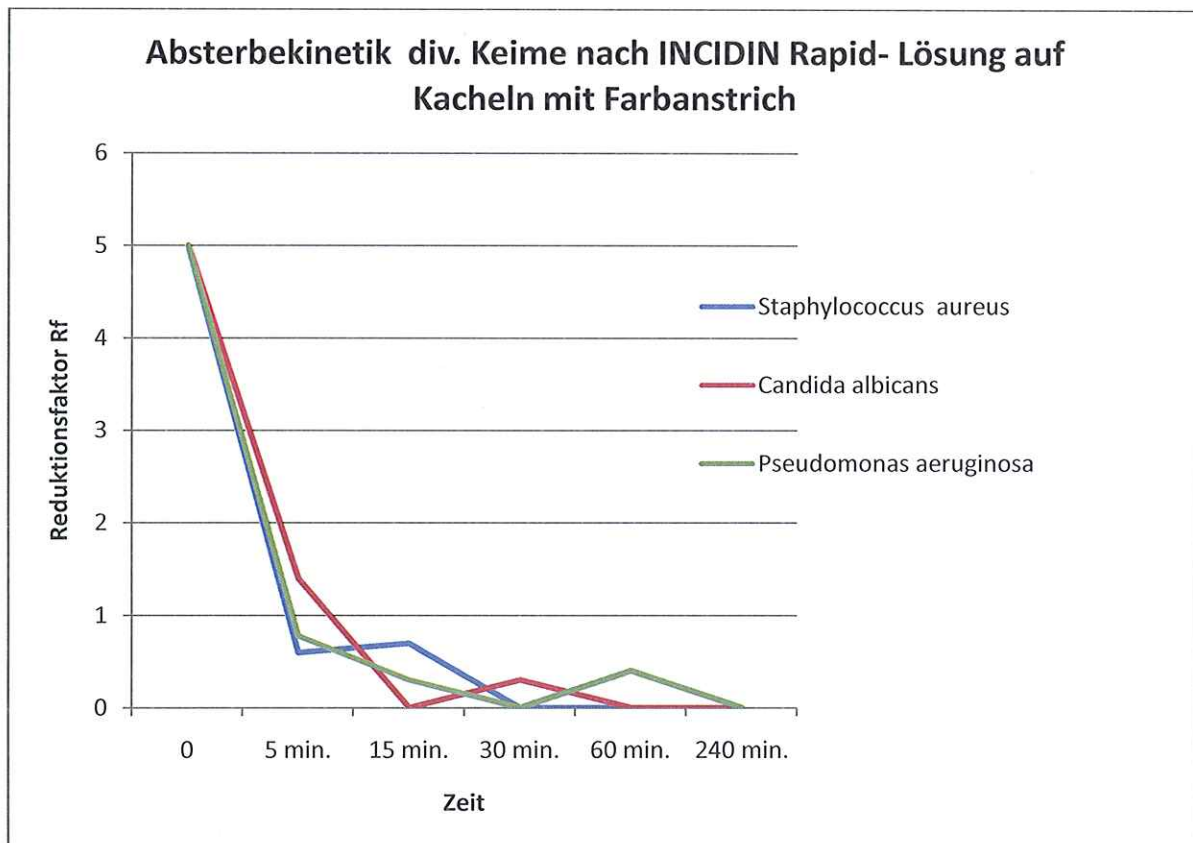


Abbildung 1: Absterbekinetik

Die Abbildung zeigt anschaulich die Absterberaten von *Staphylococcus aureus* (stellvertretend für grampositive Kokken), *Pseudomonas aeruginosa* (stellvertretend für gramnegative Stäbchenbakterien) und *Candida albicans* (Sprosspilze) nach Einwirken einer 0,5% (v/v) Incidin Rapid- Lösung auf den zur Überprüfung überlassenen Wandkacheln mit Farbanstrich Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin.

Der leicht oszillierende Kurvenverlauf bei *Candida albicans* und *Pseudomonas aeruginosa* bei 30 und 60 min. begründet sich rein rechnerisch aus dem Verhältnis der Einsaat zum Zeitpunkt t_0 zur Anzahl der Überlebenden nach der Zeit t , unter besonderer Berücksichtigung der Nachweisgrenze von 20 KBE.

4. Fazit:

Die vorgenommene Überprüfung erbrachte, dass die orientierend eingesetzten Testkeime *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* und *Pseudomonas aeruginosa* schon nach 15 minütiger Einwirkzeit des Desinfektionsmittels auf die mit Prüfsuspension, Testkeime versetzt mit Rinderserum-Albumin und Schafsblut, angeschnitzten Wandkacheln (Testkacheln, 50 x 50 mm, mit Farbanstrich *Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin*), nicht mehr nachweisbar waren (siehe Tabellen 1-3).

Der Farbanstrich *Lucite Lac Tec 2k Pur Xtrem satin* auf den Wandkacheln zeigt in der vorliegenden, orientierenden Überprüfung somit keinen negativen Einfluss auf Wischdesinfektionsmaßnahmen mit Incidin rapid, 0,5% (v/v).

Inwieweit sich wiederholte Anwendungen mit gleichem oder anderen Flächendesinfektionsmitteln sowie unterschiedliche Einwirkkonzentrationen (z. B. 2%- Lösungen) auf die Materialverträglichkeit des Farbanstrichs auf den Wandkacheln auswirken, ist und war nicht Gegenstand der vorliegenden Überprüfung.

Mit freundlichen Grüßen



Dr. med. Dipl. Biol. K.-H. Nachtsheim
Arzt für Mikrobiologie, Virologie
und Infektionsepidemiologie



M. Senger
Dipl. Biol.



E. Cagan
Medizinisch-
Technische Assistentin

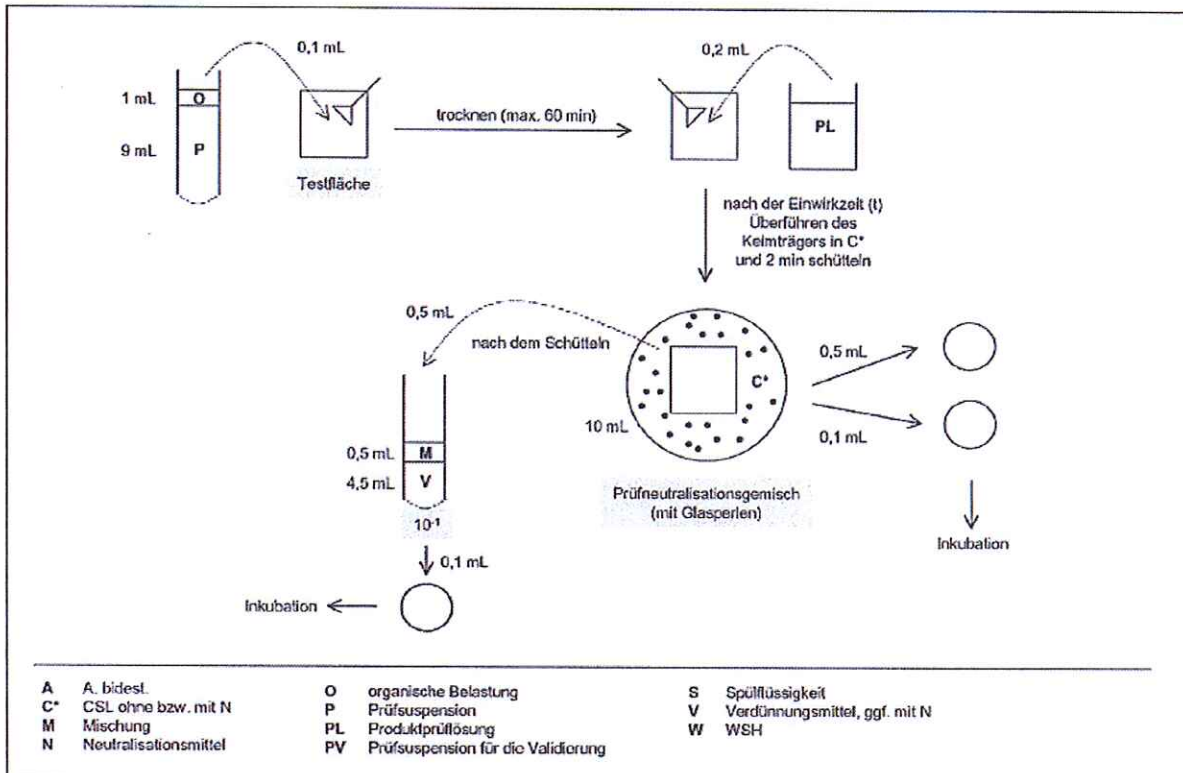
- ANLAGEN:
- Anlage 1: Schemadarstellung der DGHM- Standardmethode (Schema D5 zu Kapitel 14, Flächendesinfektion zur Hospitalismusprophylaxe und in der allgemeinen Medizin mit Mechanik)
 - Anlage 2: Fotoanhang, Foto- Nr. 1 bis 9

Anlage 1: Standardmethode der DGHM zur Prüfung
 chemischer Desinfektionsverfahren

hier: Schematische Darstellung der Prüfmethode

Schema D5 zu Kapitel 14:

Flächendesinfektion zur Hospitalismusprophylaxe und in der allgemeinen Praxis mit Mechanik.



Quelle: J. Gebel, H.- P. Werner, A. Kirsch- Altena, K. Bansemir: Standardmethode der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren, mhp- Verlag GmbH, Stand: Sept. 2001

Anlage 2: Fotoanhang

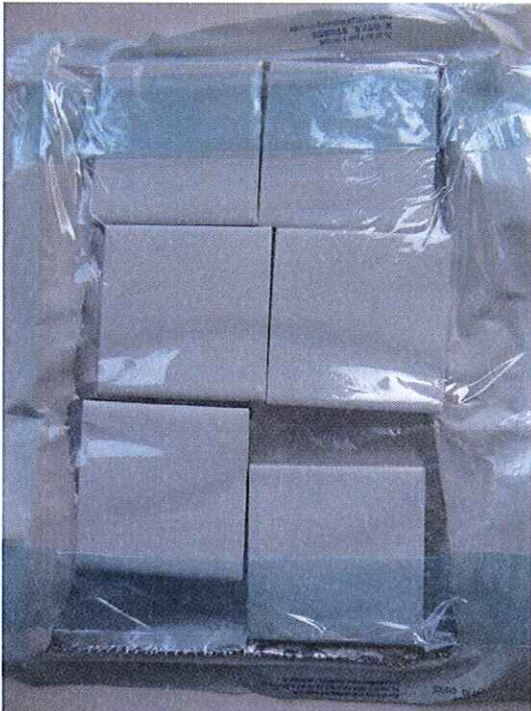


Foto 1: Autoklavierte Kacheln, vorbereitet für die Testungen



Foto 2: Prüfsuspension auf Kachel aufgegeben



Foto 3: Eintrocknete Prüfsuspension auf der Testfläche nach 60 min. Trockenzeit unter der Laminar Airflow.
(hier: *S. aureus* + RSA + Blut)



Foto 4: Eintrocknete Prüfsuspension auf der Testfläche nach 60 min. Trockenzeit unter der Laminar Airflow.
(hier: *C. albicans* + RSA + Blut)



Foto 5: Abschwemmen der Prüfsuspension von der Kachel, unter Zuhilfenahme von Glasperlen und Schüttler.

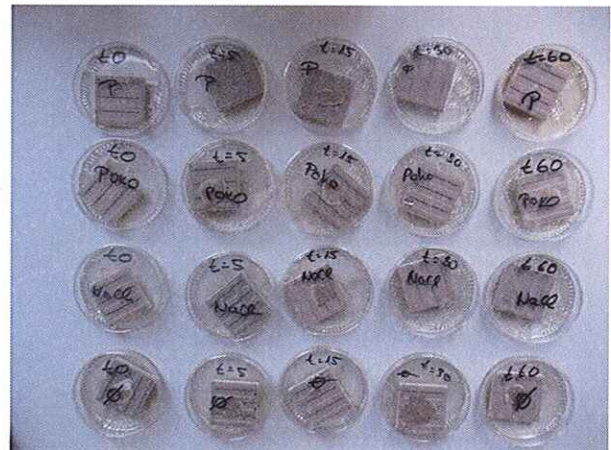


Foto 6: Kacheltestung, P = Testreihe mit Incidin, POKO = Positivkontrolle 1, NaCl = Positivkontrolle 2, Ø = Negativkontrolle

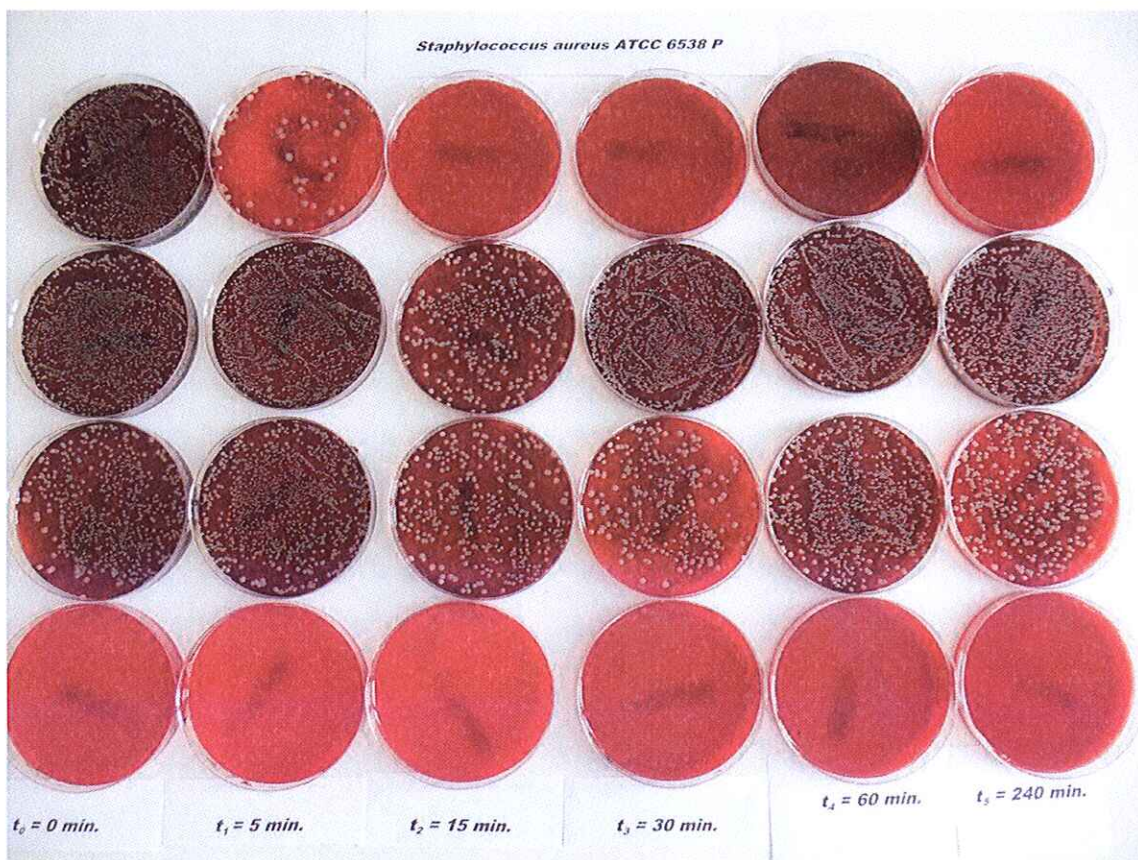


Foto 7: Testung mit *S. aureus* (von oben nach unten: Testreihe, POKO 1, POKO 2, Negativkontrolle)

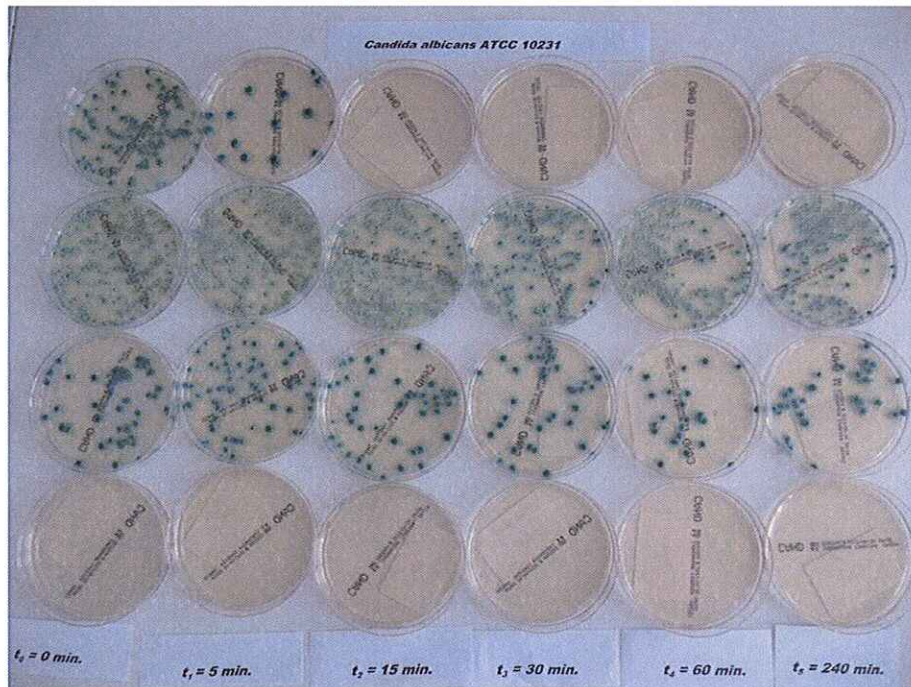


Foto 8: Testung mit *Candida albicans*, Verdünnungsstufen berücksichtigt.
(von oben nach unten: Testreihe, POKO 1, POKO 2, Negativkontrolle).

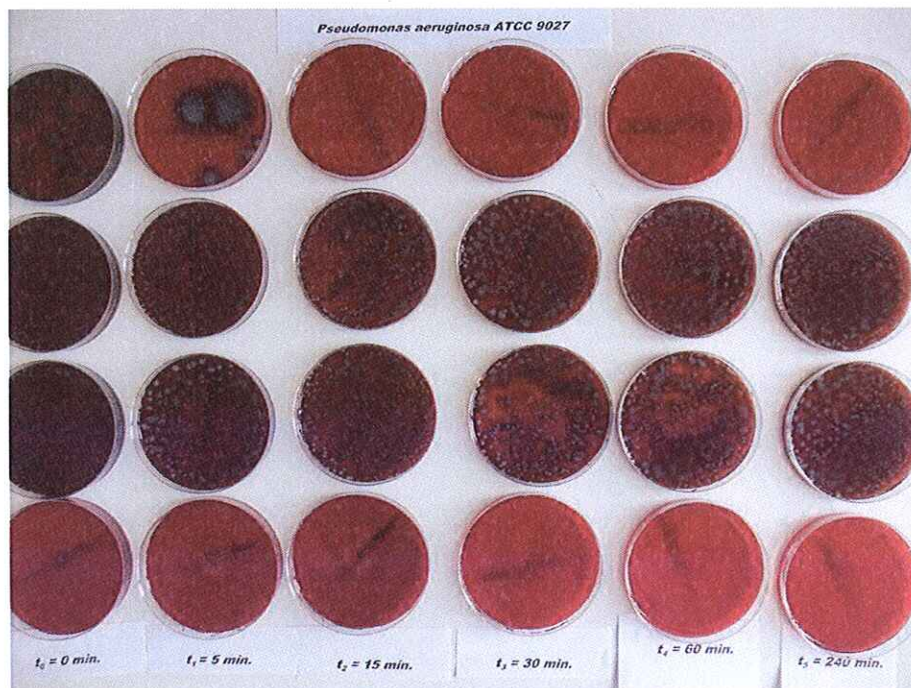


Foto 9: Testung mit *Pseudomonas aeruginosa*, Verdünnungsstufen berücksichtigt.
(von oben nach unten: Testreihe, POKO 1, POKO 2, Negativkontrolle).