

Aus dem Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

Vergleichende Untersuchung von Alternativmethoden zur Desinfektionsmittelprüfung nach DVG-Richtlinie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von

Jan Rockhoff
aus Wangen im Allgäu

Leipzig, 2006

Aus dem Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

Vergleichende Untersuchung von Alternativmethoden zur Desinfektionsmittelprüfung nach DVG-Richtlinie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von

Jan Rockhoff
aus Wangen im Allgäu

Leipzig, 2006

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Betreuer: Prof. Dr. Uwe Truyen

Gutachter:

1.Gutachter: Prof. Dr. Uwe Truyen
Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig,
Leipzig

2.Gutachter: Prof. Dr. Reinhard Böhm
Institut für Umwelt- und Tierhygiene
der Universität Hohenheim,
Stuttgart

3.Gutachter: Prof. Dr. Arwid Dauschies
Institut für Parasitologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig,
Leipzig

Tag der Verteidigung: 08.11.2005

Meinen Eltern

in

Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	DESINFEKTION	3
2.1.1	Begriffe	3
2.1.2	Desinfektion in der Veterinärmedizin	5
2.1.3	Durchführung der Desinfektion in der Tierhaltung	6
2.1.3.1	Amtliche Desinfektion	6
2.1.3.2	Prophylaktische Desinfektion	6
2.1.4	Desinfektionsverfahren	8
2.1.4.1	Einteilung nach Art der Desinfektionsmaßnahme	8
2.1.4.2	Einteilung nach Anwendungsgebieten	12
2.1.4.3	Einteilung nach Resistenzstufen	13
2.1.5	Chemische Desinfektionsmittel	13
2.1.5.1	Aldehyde	14
2.1.5.2	Alkohole	15
2.1.5.3	Halogene	15
2.1.5.4	Oxidationsmittel	16
2.1.5.5	Laugen	17
2.1.5.6	Säuren	18
2.1.5.7	Phenole	18
2.1.5.8	Oberflächenaktive Substanzen	19
2.1.5.9	Schwermetalle	20
2.1.6	Die Desinfektionswirkung beeinflussende Faktoren	21
2.2	PRÜFUNG VON DESINFEKTIONSMITTELN UND -VERFAHREN	24
2.2.1	Desinfektionsmittelprüfung in Deutschland	24
2.2.1.1	Wirksamkeitsprüfung	25
2.2.1.2	Anwendungstechnische Prüfung	26
2.2.1.3	Ökotoxikologische Prüfung	26
2.2.2	Desinfektionsmittelprüfung in Europa	27
2.2.3	Prüfmaterial und -methoden: Entwicklung und Probleme	29
2.2.3.1	Kultur- und Basalmedien	29
2.2.3.2	Testorganismen	30
2.2.3.3	Eiweiß- und Seifenfehler	31
2.2.3.4	Temperaturfehler	32
2.2.3.5	Inaktivierungsmittel	33
2.2.3.6	Keimträger	33
2.2.3.7	Testprinzipien	34
3	MATERIAL UND METHODEN	37
3.1	MATERIAL	37
3.1.1	WSH (Wasser standardisierter Härte)	37
3.1.2	Nährmedien	37
3.1.2.1	Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar	37
3.1.2.2	Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung	37
3.1.2.3	CSA + Dextrose und CSL + Dextrose	38
3.1.2.4	Blut-Agar	38
3.1.2.5	Sabouraud-Agar	38
3.1.3	Inaktivierungsmittel (Enthemmer)	38
3.1.3.1	Polyvalente Inaktivierungskombination nach DVG	38
3.1.3.2	Polyvalente Inaktivierungskombination + 0,5% Natriumthiosulfat	38
3.1.3.3	Polyvalente Inaktivierungskombination + Natriumhydrogenphosphat	38

3.1.4	Testorganismen	39
3.1.4.1	Bakterien.....	39
3.1.4.2	Pilze	39
3.1.5	Testtemperaturen	39
3.1.6	Rinderserum	39
3.1.7	Desinfektionsmittel.....	40
3.1.7.1	Geprüfte Desinfektionsmittel.....	40
3.1.7.2	Desinfektionsmittel zur Kontrolle.....	40
3.2	METHODEN	41
3.2.1	Allgemeines	41
3.2.2	Herstellung der Keimsuspension	41
3.2.2.1	Bakterien.....	41
3.2.2.2	Pilze	41
3.2.2.3	Feststellung der Keimzahl.....	42
3.2.3	Herstellung der Desinfektionsmittelkonzentrationen.....	42
3.2.4	Reihenverdünnungstest.....	42
3.2.5	Ermittlung geeigneter Inaktivierungsmittel.....	42
3.2.6	Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Suspensionstest.....	42
3.2.6.1	Qualitativer Suspensionstest im Röhrchen.....	43
3.2.6.2	Alternativmethode in der Mikrotiterplatte	43
3.2.7	Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgerstest.....	44
3.2.8	Kontrollen.....	44
3.2.8.1	Wachstumskontrolle (= Kontrolle 1).....	44
3.2.8.2	Empfindlichkeitskontrolle der Teststämmen (= Kontrolle 2).....	44
3.2.9	Auswerten und Bewertung der Ergebnisse	45
3.2.9.1	Bestimmung der bakterio- /fungistatischen Wirkung.....	45
3.2.9.2	Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung	45
3.2.10	Desinfektionsmittelprüfung mit Alternativkeimen	45
3.2.11	Statistische Auswertung	45
4	ERGEBNISSE	46
4.1	DESINFEKTIONSMITTELPRÜFUNG NACH DVG IM RÖHRCHEN	46
4.1.1	Reihenverdünnungstest.....	47
4.1.2	Qualitativer Suspensionstest in der Röhrchenmethode.....	48
4.1.3	Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgerstest.....	48
4.2	DESINFEKTIONSMITTELPRÜFUNG IN DER ALTERNATIVEN MIKROMETHODE	49
4.2.1	Praktische Aspekte	49
4.2.1.1	Material	49
4.2.1.2	Methoden	49
4.2.2	Vergleich zweier Ansätze in der Mikrotiterplattenmethode.....	49
4.3	VERGLEICH ZWISCHEN RÖHRCHEN- UND MIKROTITERPLATTENMETHODE	51
4.3.1	Praktikabilität und Durchführbarkeit.....	51
4.3.2	Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit	52
4.3.2.1	Inter-Assay-Variation der Röhrchenmethode.....	52
4.3.2.2	Inter-Assay-Variationen der Mikrotiterplattenmethode.....	53
4.3.2.3	Vergleich der Ergebnisse beider Methoden.....	60
4.4	ALTERNATIVE TESTORGANISMEN.....	64
4.4.1	Praktische Aspekte	64
4.4.2	Vergleich der Prüfergebnisse	64
4.4.2.1	<i>Enterococcus hirae</i>	64
4.4.2.2	<i>Proteus hauseri</i>	66
4.4.2.3	<i>Salmonella cholerasuis</i> subsp. <i>cholerasuis</i>	67

5	DISKUSSION	69
5.1	AUSWAHL DER GEPRÜFTEN DESINFEKTIONSMITTEL UND ENTHEMMER	70
5.2	REPRODUZIERBARKEIT UND STANDARDISIERBARKEIT VON METHODEN	72
5.3	VERGLEICH ZWISCHEN RÖHRCHEN- UND MIKROTITERPLATTENMETHODE	74
5.3.1	Praktikabilität und Durchführbarkeit der zwei Methoden	74
5.3.2	Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit der zwei Methoden	77
5.3.2.1	Ergebnisse der Prüfung nach DVG.....	77
5.3.2.2	Ergebnisse der Inter-Assay-Variationen	78
5.3.2.3	Direkter Vergleich der Methoden und Resultate des Äquivalenztests	80
5.4	EINSATZ ALTERNATIVER ODER ZUSÄTZLICHER TESTORGANISMEN	83
5.4.1	<i>Enterococcus hirae</i>	85
5.4.2	<i>Proteus hauseri</i>	85
5.4.3	<i>Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis</i>	86
6	ZUSAMMENFASSUNG	89
7	SUMMARY	91
8	LITERATURVERZEICHNIS	93
	ANHANG.....	102
	TABELLEN UND ABBILDUNGEN	102
	Ergebnisse der Prüfung nach DVG-Richtlinie im Röhrchen	102
	Ergebnisse der Prüfung nach der Alternativmethode in Mikrotiterplatten	116
	Inter-Assay-Variationen	124
	Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina (Mikrotiterplattenmethode)	124
	Vergleich zwischen Röhrchen- und Mikrotiterplattenmethode	134
	CHEMIKALIEN UND REAGENZIEN	148
	DANKSAGUNG	150

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1:	SYSTEMATIK DER AUSBRINGUNG VON DESINFEKTIONSMITTELN	12
TABELLE 2:	WIRKSAMKEITSSPEKTRUM DER WICHTIGSTEN DESINFEKTIONSMITTEL	13
TABELLE 3:	EINFLUSS VON STALLKLIMAFAKTOREN AUF DIE DESINFEKTION	21
TABELLE 4:	AUFBAU DER ANWENDUNGSTECHNISCHEN PRÜFUNG	26
TABELLE 5:	DIE DREI PHASEN DER DESINFEKTIONSMITTELPRÜFUNG IN EUROPA	28
TABELLE 6:	VORAUSSICHTLICHER ABLAUF DER DESINFEKTIONSMITTELPRÜFUNG FÜR BAKTERIEN UND PILZE IN EUROPA	28
TABELLE 7:	PRÜFORGANISMEN FÜR DIE VETERINÄRMEDIZIN UND DEN LEBENSMITTELBEREICH	30
TABELLE 8:	VORGESCHRIEBENE TESTS NACH DVG-RICHTLINIE AN BAKTERIEN UND PILZEN	36
TABELLE 9:	GEPRÜFTE DESINFEKTIONSMITTEL	40
TABELLE 10:	DESINFEKTIONSMITTEL ZUR KONTROLLE DER EMPFINDLICHKEIT DER TESTORGANISMEN.....	40
TABELLE 11:	EMPFINDLICHKEITSKONTROLLE	44
TABELLE 12:	ZUSAMMENFASSUNG ALLER ABWEICHUNGEN ZWISCHEN ANSÄTZEN DER STANDARDMETHODE NACH DVG	46
TABELLE 13:	VERGLEICH DER BAKTERIO- /FUNGISTATISCHEN WIRKUNG ZWISCHEN ZWEI ANSÄTZEN.....	47
TABELLE 14:	ABWEICHUNGEN BEI DREI GETESTETEN DESINFEKTIONSMITTELN IM KEIMTRÄGERTEST	48
TABELLE 15:	GEGENÜBERSTELLUNG DES UNTERSCHIEDLICHEN MATERIALAUFWANDES DER METHODEN	51
TABELLE 16:	INTER-ASSAY-VARIATION DER RÖHRCHENMETHODE (ANZAHL UND VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN).....	53
TABELLE 17:	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN VERSCHIEDENEN EINSATZMENGEN DES KEIM-DESINFEKTIONSMITTEL-GEMISCHES	54
TABELLE 18:	INTER-ASSAY-VARIATION DER MIKROTITERPLATTENMETHODE (ANZAHL UND VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN).....	55
TABELLE 19:	INTER-ASSAY-VARIATION DES QUALITATIVEN SUSPENSIONSTESTS IN DER RÖHRCHENMETHODE UNTER ANGABE DER JEWEILS NIEDRIGSTEN WIRKSAMEN KONZENTRATION (ALDEKOL DES AKTIV®)	56
TABELLE 20:	INTER-ASSAY-VARIATION DES QUALITATIVEN SUSPENSIONSTESTS IN DER RÖHRCHENMETHODE UNTER ANGABE DER JEWEILS NIEDRIGSTEN WIRKSAMEN KONZENTRATION (SUMA BAC D10®).....	57
TABELLE 21:	INTER-ASSAY-VARIATION DES QUALITATIVEN SUSPENSIONSTESTS IN DER MIKROMETHODE UNTER ANGABE DER JEWEILS NIEDRIGSTEN WIRKSAMEN KONZENTRATION (ALDEKOL DES AKTIV®)	58
TABELLE 22:	INTER-ASSAY-VARIATION DES QUALITATIVEN SUSPENSIONSTESTS IN DER MIKROMETHODE UNTER ANGABE DER JEWEILS NIEDRIGSTEN WIRKSAMEN KONZENTRATION (SUMA BAC D10®).....	59
TABELLE 23:	VERGLEICH ZWISCHEN RÖHRCHEN- UND MIKROTITERPLATTENMETHODE.....	62
TABELLE 24:	ERGEBNISSE DER BERECHNUNG DER POWER UND DES ÄQUIVALENZTESTS	63
TABELLE 25:	VERGLEICH DER BAKTERIOSTATISCHEN WIRKUNG (<i>E. HIRAE</i> MIT <i>E. FAECIUM</i>).....	64
TABELLE 26:	VERGLEICH DER BAKTERIZIDEN WIRKUNG IM KEIMTRÄGERTEST (<i>E. HIRAE</i> MIT <i>E. FAECIUM</i>)....	65
TABELLE 27:	VERGLEICH DER BAKTERIO- /FUNGISTATISCHEN WIRKUNG (<i>PR. HAUSERI</i> MIT <i>PR. MIRABILIS</i>)... 66	66
TABELLE 28:	VERGLEICH DER BAKTERI- /FUNGIZIDEN WIRKUNG IM KEIMTRÄGERTEST (<i>PR. HAUSERI</i> MIT <i>PR. MIRABILIS</i>)	67
TABELLE 29:	VERGLEICH DER BAKTERIOSTATISCHEN WIRKUNG (<i>S. CHOLERASUIS</i> MIT <i>PR. MIRABILIS</i> UND <i>PS. AERUGINOSA</i>).....	67
TABELLE 30:	VERGLEICH DER BAKTERIZIDEN WIRKUNG IM KEIMTRÄGERTEST (<i>S. CHOLERASUIS</i> MIT <i>PR. MIRABILIS</i> UND <i>PS. AERUGINOSA</i>).....	68
TABELLE 31:	REIHENVERDÜNNUNGSTEST MIT ALDEKOL DES AKTIV®	102
TABELLE 32:	REIHENVERDÜNNUNGSTEST MIT SUMA BAC D10®	102
TABELLE 33:	REIHENVERDÜNNUNGSTEST MIT ALDEKOL DES AZID®	103
TABELLE 34:	REIHENVERDÜNNUNGSTEST MIT VIRUCIDAL EXTRA®	103
TABELLE 35:	QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT ALDEKOL DES AKTIV® BEI 20°C	104
TABELLE 36:	QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT ALDEKOL DES AKTIV® BEI 10°C	105

Tabellenverzeichnis

TABELLE 37: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT SUMA BAC D10 [®] BEI 20°C.....	106
TABELLE 38: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT SUMA BAC D10 [®] BEI 10°C.....	107
TABELLE 39: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT ALDEKOL DES AZID [®] BEI 20°C	108
TABELLE 40: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT ALDEKOL DES AZID [®] BEI 10°C	109
TABELLE 41: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT VIRUCIDAL EXTRA [®] BEI 20°C	110
TABELLE 42: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IM RÖHRCHEN MIT VIRUCIDAL EXTRA [®] BEI 10°C	111
TABELLE 43: KEIMTRÄGERTEST MIT ALDEKOL DES AKTIV [®]	112
TABELLE 44: KEIMTRÄGERTEST MIT SUMA BAC D10 [®]	113
TABELLE 45: KEIMTRÄGERTEST MIT ALDEKOL DES AZID [®]	114
TABELLE 46: KEIMTRÄGERTEST MIT VIRUCIDAL EXTRA [®]	115
TABELLE 47: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] BEI 20°C.....	116
TABELLE 48: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] BEI 10°C.....	117
TABELLE 49: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT SUMA BAC D10 [®] BEI 20°C.....	118
TABELLE 50: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT SUMA BAC D10 [®] BEI 10°C.....	119
TABELLE 51: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT ALDEKOL DES AZID [®] BEI 20°C	120
TABELLE 52: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT ALDEKOL DES AZID [®] BEI 10°C	121
TABELLE 53: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT VIRUCIDAL EXTRA [®] BEI 20°C.....	122
TABELLE 54: QUALITATIVER SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTE MIT VIRUCIDAL EXTRA [®] BEI 10°C.....	123
TABELLE 55: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (I UND II)	124
TABELLE 56: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (III UND IV) .	125
TABELLE 57: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (V UND VI)..	126
TABELLE 58: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (VII U. VIII)..	127
TABELLE 59: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (IX UND X)..	128
TABELLE 60: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT SUMA BAC D10 [®] (I UND II).....	129
TABELLE 61: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT SUMA BAC D10 [®] (III UND IV)	130
TABELLE 62: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT SUMA BAC D10 [®] (V UND VI).....	131
TABELLE 63: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT SUMA BAC D10 [®] (VII UND VIII)	132
TABELLE 64: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER ANSATZVOLUMINA MIT SUMA BAC D10 [®] (IX UND X).....	133
TABELLE 65: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (I UND II)	134
TABELLE 66: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (III UND IV).....	135
TABELLE 67: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (V UND VI).....	136
TABELLE 68: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (VII UND VIII).....	137
TABELLE 69: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT ALDEKOL DES AKTIV [®] (IX UND X).....	138
TABELLE 70: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT SUMA BAC D10 [®] (I UND II).....	139
TABELLE 71: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT SUMA BAC D10 [®] (III UND IV)	140
TABELLE 72: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT SUMA BAC D10 [®] (V UND VI).....	141
TABELLE 73: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT SUMA BAC D10 [®] (VII UND VIII).....	142
TABELLE 74: VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER METHODEN MIT SUMA BAC D10 [®] (IX UND X).....	143
TABELLE 75: VERGLEICH DER BAKTERI- /FUNGIZIDEN WIRKUNG UNTERSCHIEDLICHER TESTORGANISMEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST MIT ALDEKOL DES AKTIV [®]	144
TABELLE 76: VERGLEICH DER BAKTERI- /FUNGIZIDEN WIRKUNG UNTERSCHIEDLICHER TESTORGANISMEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST MIT SUMA BAC D10 [®]	145
TABELLE 77: VERGLEICH DER BAKTERI- /FUNGIZIDEN WIRKUNG UNTERSCHIEDLICHER TESTORGANISMEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST MIT ALDEKOL DES AZID [®]	146
TABELLE 78: VERGLEICH DER BAKTERI- /FUNGIZIDEN WIRKUNG UNTERSCHIEDLICHER TESTORGANISMEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST MIT VIRUCIDAL EXTRA [®]	147

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: DIE WICHTIGSTEN ANWENDUNGSBEREICHE DER DESINFEKTION IN DER TIERMEDIZIN	5
ABBILDUNG 2: DESINFEKTIONSMITTEL-RESISTENZ VON MIKROORGANISMEN	23
ABBILDUNG 3: VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST IN DER RÖHRCHENMETHODE	48
ABBILDUNG 4: VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST IN DER MIKROTITERPLATTENMETHODE.....	50
ABBILDUNG 5: VERGLEICH DER ANZAHL UND DARSTELLUNG DER VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN ZWISCHEN JE ZWEI UNABHÄNGIGEN ANSÄTZEN BEI DER PRÜFUNG VON INSGESAMT VIER DESINFEKTIONSMITTELN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST	60
ABBILDUNG 6: VERGLEICH DER ANZAHL UND DARSTELLUNG DER VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN ZWISCHEN 20-MAL WIEDERHOLTEN, UNABHÄNGIGEN VERGLEICHANSÄTZEN IM RAHMEN DER ERMITTLUNG DER INTER-ASSAY-VARIATION DES QUALITATIVEN SUSPENSIONSTESTS BEI ZWEI AUSGESUCHTEN MITTELN UND PARAMETERN	60
ABBILDUNG 7: DARSTELLUNG DER VERTEILUNG DER ABWEICHUNGEN ZWISCHEN 20-MAL WIEDERHOLTEN, UNABHÄNGIGEN VERGLEICHANSÄTZEN BEI ZWEI AUSGESUCHTEN MITTELN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST IN PROZENT	61
ABBILDUNG 8: DURCHSCHNITTLICHER VARIATIONSKOEFFIZIENT VERSCHIEDENER METHODEN IM QUALITATIVEN SUSPENSIONSTEST.....	61

Abkürzungsverzeichnis

AFNOR	A ssociation F rançaise de N ormalisation
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
Aqua dest.	Aqua destillata
ATCC	A merican T ype C ulture C ollection, Manassas, USA
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CSA	C aseinpepton- S ojabohnenmehlpepton- A gar (=TSA)
CSL	C aseinpepton- S ojabohnenmehlpepton- L ösung (=TSB)
DGHM	D eutsche G esellschaft für H ygiene und M ikrobiologie
d.h.	das heißt
DIN	D eutsches I nstitut für N ormung e.V., Berlin, D
DLG	D eutsche L andwirtschafts G esellschaft
DSM	D eutsche S ammlung von M ikroorganismen, Braunschweig, D
DVG	D eutsche V eterinärmedizinische G esellschaft
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>E. hirae</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
EN	E uropäische N orm
Fa.	Firma
HCl	Salzsäure (Chlorwasserstoff)
KBE	K olonie- b ildende E inheiten
KOH	Kaliumhydroxid
MHK	m inimale h emmende K onzentration
min	Minuten
mm	Millimeter
nm	Nanometer
<i>Pr. hauseri</i>	<i>Proteus hauseri</i>
<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
„Quats“	Quaternäre Ammoniumverbindungen
RF	relative Luftfeuchtigkeit
<i>S. cholerasuis</i>	<i>Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TKBA	T ier k örper b eseitigungs a nlagen
TSA	T ryptic S oy A gar (= CSA)
TSB	T ryptic S oy B roth (= CSL)
WSH	W asser s tandardisierter H ärte
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Die Desinfektion nimmt in verschiedenen Teildisziplinen der Veterinärmedizin eine zunehmend wichtigere Rolle ein. So ist zum Beispiel die Überwachung des Hygienestandards eines ansteigenden Tierverkehrs innerhalb der Europäischen Union und über deren Grenzen hinaus von großer Wichtigkeit, ebenso gewinnen die hygienischen Anforderungen in jedem Schritt der Lebensmittelherstellung immer mehr an Bedeutung.

Infolge dessen stehen auch die Desinfektionsmittel bzw. deren Hersteller vor allem in Bezug auf Wirksamkeit, aber auch hinsichtlich z.B. der Toxizität für Mensch und Tier oder Umweltverträglichkeit vor neuen, größeren Herausforderungen.

Um diesen wachsenden Ansprüchen bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf deren Wirksamkeit und Eignung Rechnung zu tragen, wurde von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG) der Ausschuss ‚Desinfektion in der Veterinärmedizin‘ gegründet.

Als Basis für eine vergleichbare Beurteilung von Desinfektionsmitteln verfasste dieser die ‚Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin‘. Die sachgemäße Prüfung eines Desinfektionsmittels entsprechend dieser Richtlinien durch zwei unabhängige Gutachten führt zur Aufnahme in die regelmäßig veröffentlichten ‚Listen‘ der DVG für den Bereich Tierhaltung oder den Lebensmittelbereich.

Zweck der DVG-Richtlinie ist es, bei exakter Durchführung der Prüfung eine valide Beurteilung der bakteriziden, fungiziden, viruziden und antiparasitären Wirkung von Desinfektionsmitteln zu gewährleisten. Bereits in der Einleitung der DVG-Richtlinie wird die Problematik von einheitlichen und reproduzierbaren aber auch praxisnahen Prüfmethoden angesprochen. Zugleich müssen die angewandten Methoden praktikabel und durchführbar sein.

Das Europäische Komitee für Normung (Comité Européen de Normalisation) hat die Aufgabe, die schon lange international geforderte Vereinheitlichung der Bewertungskriterien für Desinfektionsmittel innerhalb Europas zu realisieren. Im Zuge dieses Prozesses werden unter anderem Versuche durchgeführt, arbeits- und zeitaufwändige Makromethoden durch Mikromethoden zu ersetzen.

Das Thema dieser Arbeit entwickelte sich daher im Kontext der derzeitigen Diskussion über Verbesserungsvorschläge zur bestehenden Richtlinie und deren Anpassung an die europäischen Normen.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich dabei auf Fragestellungen zu den Methoden der Prüfung von Desinfektionsmitteln an Bakterien und Pilzen für den Bereich Tierhaltung. Um repräsentative Aussagen diesbezüglich zu erhalten, wurden vier Desinfektionsmittel aus verschiedenen Wirkstoffklassen bei gleichen Bedingungen geprüft.

Ziel war zum einen, die Praktikabilität der Prüfmethode zur Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im qualitativen Suspensionstest zu verbessern. Dies sollte dadurch gewährleistet werden, dass das Verfahren im Röhrchen durch eines in der Mikrotiterplatte ersetzt wurde. Hierbei sollte sowohl die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel in der Alternativmethode vergleichend überprüft als auch deren Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit bewertet werden.

Vor dem Hintergrund, dass in Tierställen die bisher lediglich geprüfte Temperatur von 20°C häufig unterschritten wird, erscheint die Aufnahme einer niedrigeren Temperatur in die Prüfrichtlinien notwendig. In diesem Zusammenhang wurde der qualitative Suspensionstest, zusätzlich zur vorgeschriebenen Prüfung bei 20°C nach DVG, auch bei 10°C durchgeführt, um den Arbeitsschritt der Kühlung in die Überlegungen zur alternativen Mikromethodik einbinden zu können.

Ein weiterer Teil der Arbeit beschäftigte sich mit alternativen beziehungsweise zusätzlichen Testorganismen, die aufgrund verschiedener Vorteile das Spektrum der bisher geprüften Testorganismen ersetzen bzw. erweitern könnten.

2 Literaturübersicht

2.1 Desinfektion

2.1.1 Begriffe

In der Literatur ist eine Vielzahl verschiedener Definitionen zum Begriff ‚Desinfektion‘ und zu anderen antimikrobiellen Verfahren zu finden.

Die Mehrdeutigkeit eines derart wichtigen Begriffs verunsichert Wissenschaftler und Praktiker gleichermaßen und führt zu Missverständnissen. Vor allem aber werden verschiedene Maßstäbe gesetzt, was eine einheitliche Bewertung und Prüfung der Desinfektionsverfahren unmöglich macht (WEUFFEN et al. 1970; REBER 1973; SCHINZEL 1973).

REBER kritisierte diesen Zustand bereits 1973 und schlug seinerseits eine Definition vor:

‚**Desinfektion** ist die gezielte Entkeimung mit dem Zweck, eine Übertragung von bestimmten unerwünschten Mikroorganismen durch Eingriffe in deren Struktur oder Stoffwechsel unabhängig von ihrem Funktionszustand zu verhindern.‘

Darüber hinaus schlägt er ebenso vor, die Begriffe ‚Desinfektion‘, ‚Sterilisation‘, ‚Antisepsis‘ und ‚Asepsis‘ als Verfahren, die Gegenstände oder Lösungen von Mikroorganismen befreien, unter dem Oberbegriff ‚**Entkeimung**‘ zusammenzufassen.

SCHLIESSER (1974) macht deutlich, dass **Desinfektion** nicht mehr als ‚Abtötung‘, ‚Unschädlichmachung‘ oder Zerstörung von Krankheits- und Infektionserregern oder nur als ‚Entseuchung‘ im Sinne einer infektionsverhindernden Maßnahme verstanden werden kann. Einerseits hat der wissenschaftliche Fortschritt zahlreiche neue Einblicke in Struktur und Funktion von Mikroorganismen gebracht, andererseits haben sich die Anwendungsgebiete der Desinfektion weit über den medizinischen und veterinärmedizinischen Bereich hinaus ausgeweitet. Er hält den Vorschlag von REBER für eine allgemeingültige Definition, die diese Gesichtspunkte umfassend berücksichtigt.

Auch in der jüngeren Literatur existiert eine vielfältige und kontrovers diskutierte Terminologie.

So haben nach MAYR (2002) die Begriffe ‚Desinfektion‘ und ‚Antisepsis‘ und die Begriffe ‚Sterilisation‘ und ‚Asepsis‘ jeweils dieselbe Bedeutung. Unter **Desinfektion** oder **Antisepsis** versteht man danach ganz allgemein die gezielte Vernichtung bestimmter Krankheitserreger, **Sterilisation** oder **Asepsis** ist hingegen die generelle Vernichtung aller Mikroorganismen in einem bestimmten Milieu mit dem Ziel der Keimfreiheit.

In anderen Quellen, wie bei STEUER et al. (1998), lassen sich kleine Unterschiede zwischen den zuvor als gleich bedeutend bezeichneten Begriffen erkennen:

Desinfektion ist die Abtötung oder weitgehende Reduzierung der Zahl von Erregern übertragbarer Krankheiten, so dass eine Infektion nicht zu befürchten ist. **Antisepsis** sind hingegen alle Maßnahmen zur Bekämpfung vorhandener oder erwarteter Infektionen, so z.B. Maßnahmen der Abtötung, Schädigung oder Reduzierung von Keimen.

Sterilisation bedeutet Abtötung aller Mikroorganismen, also auch Abtötung der Bakteriensporen. Die **Asepsis** beschreibt hier alle Maßnahmen zur Verhütung einer Infektion mit Mikroorganismen.

Der vor allem in Kanada und den USA verwendete Begriff ‚**sanitation**‘ beschreibt die Gesamtheit aller Maßnahmen, die eine generelle Verminderung des Keimgehaltes auf ein hygienisch vertretbares Maß bewirken. Dies erfasst neben der Desinfektion auch regelmäßige Reinigungsprozeduren sowie bauliche und organisatorische Maßnahmen (Schleusen, Trennung von kontaminierten und nicht kontaminierten Gegenständen, Einweggeräte und Schutzkleidung) (WALLHÄUßER 1984; STEIGER 1986).

BÖHM (2002) definiert weitere Begriffe, die für diese Arbeit von Bedeutung sind.

So ist unter **Bakteriostase** die Fähigkeit eines Desinfektionsmittels zu verstehen, in einer bestimmten Konzentration bei Bakterien eine reversible Vermehrungshemmung hervorzurufen. **Fungistase** stellt die Fähigkeit dar, bei Pilzen eine solche Hemmung hervorzurufen bzw. das Auskeimen der Sporen temporär zu verhindern.

Die **Bakterizidie** kennzeichnet hingegen die Fähigkeit eines Desinfektionsmittels, in einer geeigneten Konzentration und bei einer bestimmten Einwirkzeit Schädigungen hervorzurufen, die zum irreversiblen Zelltod von Bakterien führen. **Fungizidie** führt zum irreversiblen Zelltod von Pilzen und Pilzsporen.

Faktoren, die die Wirkung von Desinfektionsmitteln beeinflussen können, sind folgendermaßen definiert:

Der **Eiweißfehler** stellt eine Beeinträchtigung der Wirkung von Desinfektionsmitteln in Gegenwart von Eiweiß dar (STELLMACHER et al. 1974).

Eine Wirkungsbeeinträchtigung bei Desinfektionsmitteln in Anwesenheit von Seifen wird als **Seifenfehler** bezeichnet. Werden saure Desinfektionsmittel in einem basischen Milieu eingesetzt, kann es zur Neutralisierung des Mittels kommen. Das ist zumeist der Fall, wenn zuvor entsprechende Reinigungsmittel verwendet wurden (HOY 2000).

Es kommt zur **Chlorzehrung**, wenn verunreinigtes Wasser oder Abwasser oxidierbare organische Substanzen enthält, die das wirksame Chlor aktivchlorhaltiger Desinfektionsmittel unwirksam an sich binden (STEIGER 1986).

2.1.2 Desinfektion in der Veterinärmedizin

Der Erfolg tierärztlicher Tätigkeiten ist weitgehend von einer Verhinderung oder Minimierung des Auftretens von Infektionskrankheiten abhängig. Im Gegensatz zur Humanmedizin hat der Tierarzt dabei die weitergehende Aufgabe, Mensch und Tier vor Infektionen zu schützen. Dies geschieht zum Großteil mit den modernen Methoden der Desinfektion und Sterilisation. Das Arbeits- und Leistungsspektrum der praktizierenden Tierärzte und spezialisierten Kliniken hat erheblich zugenommen; eine moderne Medizintechnik erschloss immer weitergehende diagnostische und therapeutische Möglichkeiten. Mit Erweiterung dieser Möglichkeiten wuchsen aber auch die Gefahren für Tier und Mensch, die aus einem Kontakt mit infektiösem Material entstehen (ARNDT 1983).

Die wichtigsten Anwendungsbereiche der Desinfektion sind in **Abbildung 1** dargestellt.

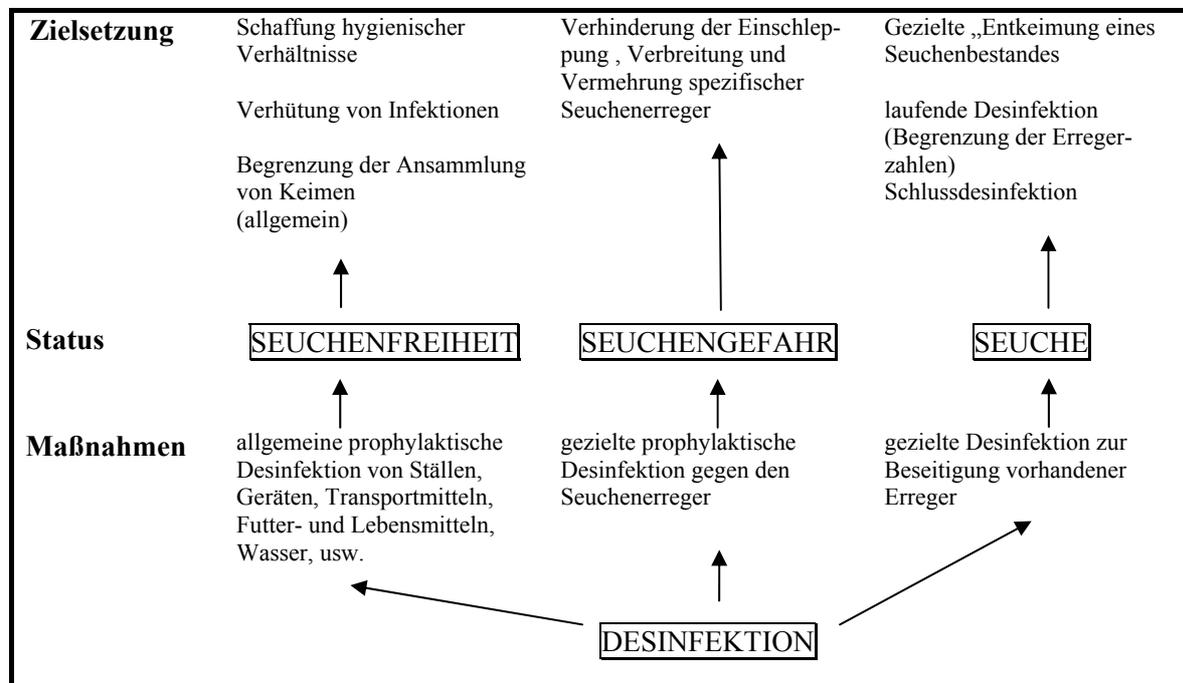


Abbildung 1: Die wichtigsten Anwendungsbereiche der Desinfektion in der Tiermedizin nach MAYR (1983)

In dieser Arbeit soll die ‚Reinigung‘ als Grundlage für eine erfolgreiche Desinfektion nicht weiter beschrieben werden. Es sei aber darauf hingewiesen, dass Reinigung und Desinfektion sich bei den meisten Hygienemaßnahmen in der Tierhaltung und im Bereich der Be- und Verarbeitung tierischer Erzeugnisse unabdingbar ergänzen müssen. Bereits durch Reinigungsmaßnahmen wird eine wahrnehmbare Keimreduktion und Wachstumshemmung erreicht (SCHMIDT 1989). Da diese aber nicht genügt, folgt der Reinigung eine gezielte Desinfektion, welche eine weitere Keimverminderung um zwei bis drei Zehnerpotenzen bewirkt (MROZEK 1976; GROW 1995). Im Hinblick auf die Verringerung der Keimbelastung von Oberflächen sind die Anteile, die die Reinigung an der Herabsetzung des Keimgehaltes hat unterschiedlich hoch, was von der Art der Verschmutzung und Beschaffenheit der Flächen und von dem angewendeten Verfahren abhängt (BÖHM 2002).

2.1.3 Durchführung der Desinfektion in der Tierhaltung

Es ist die Pflicht des tierärztlichen Berufsstandes, Maßnahmen zu ergreifen, die die Gesundheit der Tiere schützen und die Tierproduktion verbessern, aber dabei gleichzeitig den Schutz der Umwelt des Menschen nicht außer Acht zu lassen (BRUINS und DYER 1995).

Die Desinfektion in der Tierhaltung stellt hierbei eine komplexe und ausgesprochen situationsbedingte Aufgabe dar. Eine erfolgreiche Bekämpfung von Krankheits- und Verderbniserregern ist nur durch ein sinnvoll aufeinander abgestimmtes System von antimikrobiell wirkenden Maßnahmen möglich (WEUFFEN 1973).

Grundsätzlich sind zu unterscheiden:

(WEUFFEN et al. 1970; WILLINGER und THIEMANN 1972; STELLMACHER et al. 1974; SCHLIESSER 1974; MEHLHORN 1979; KLAWITTER 1980; SCHLIESSER und STRAUCH 1981; MAYR 1983; STEUER et al. 1998)

2.1.3.1 Amtliche Desinfektion

Hierbei handelt es sich um die Desinfektion, die aufgrund rechtlicher Vorschriften im Rahmen der staatlichen Bekämpfung von Tierseuchen angeordnet wird. Solange im Verlauf einer Seuche noch kranke oder seuchenverdächtige Tiere im Stall vorhanden sind, erfolgt eine Zwischendesinfektion in behördlich angeordneten Intervallen. Diese erstreckt sich auf die unmittelbare Umgebung der Tiere, ihre Abgänge und die benutzten Gerätschaften. Nach Erlöschen der Seuche oder wenn alle erkrankten, krankheits- oder ansteckungsverdächtigen Tiere entfernt sind, erfolgt die Schlussdesinfektion. Zum einen wird durch diese Maßnahmen eine mittelbare oder unmittelbare Übertragung eines bestimmten Seuchenerregers verhindert und letztendlich eine Aufhebung der Sperr- und Schutzmaßnahmen ermöglicht. Zum anderen richten sie sich gegen die ständigen Seuchengefahren im Zusammenhang mit dem Ortswechsel von Tieren bei Transporten, bei Tierversammlungen auf Märkten, Ausstellungen, Viehhöfen usw.

2.1.3.2 Prophylaktische Desinfektion

Dies sind nicht gesetzlich vorgeschriebene Desinfektionsmaßnahmen, für die sich durch die Umstrukturierung der landwirtschaftlichen Tierhaltung mit der steigenden Tendenz zu Großbetrieben ein breites Anwendungsgebiet ergeben hat. Anders als bei der Seuchendesinfektion geht es hier im Grunde weniger um eine gezielte Unschädlichmachung ganz bestimmter Krankheitserreger als vielmehr um eine allgemeine Infektionsprophylaxe als Voraussetzung für eine Umweltoptimierung. Welche Art des Verfahrens für diese Desinfektion in Frage kommt, hängt davon ab, ob ein Stall ständig belegt bleibt oder zumindest eine periodische Räumung von räumlich abgegrenzten Abteilungen erfolgen kann.

a) Schlussdesinfektion

Bei periodischer Räumung oder möglicher Ausstallung ist das Verfahren der Schlussdesinfektion einsetzbar. Mit ihr lässt sich der höchste Wirkungsgrad erreichen, weil die dazugehörige Reinigung erleichtert wird und Konzentration sowie Einwirkungszeit der Desinfektionsmittel am wenigsten limitiert sind.

b) Periodische Desinfektion

Eine periodisch oder laufend durchgeführte Desinfektion in ständig belegten Ställen ist dagegen viel problematischer. Die keimzahlreduzierende Wirkung der Oberflächenreinigung ist eingeschränkt, Konzentration und Einwirkungszeit der Desinfektionsmittel werden in erster Linie von ihrer Unschädlichkeit auf die im Stall verbleibenden Tiere bestimmt. Dabei wird aber gerade bei der vorbeugenden Desinfektion von den verwendeten Präparaten eine fast universelle Wirksamkeit gegen eine Vielzahl von Bakterien-, Pilz- und Virusarten verlangt.

Folgende Forderungen stellt KING (1995) an die Desinfektion im Bereich der Tierhaltung und der Lebensmittelherstellung:

- a) Einsatz von Desinfektionsmitteln, die gezielt bestimmte Mikroorganismen bekämpfen;
- b) Desinfektionsmittel, die keine schädlichen Rückstände verursachen, wenn sie in der Tierproduktion oder in Betrieben zur Lebensmittelherstellung genutzt werden;
- c) Desinfektionsmittel, die keine Materialien angreifen, besonders solche, die in der Luftfahrt, in Schiffen, Lastwagen und der Elektronik genutzt werden;
- d) Desinfektionsmittel, die weder das Grundwasser noch die Luft verschmutzen;
- e) Desinfektionsmittel, die nach Prüfung sicher nicht krebserregend und teratogen sind;
- f) Anwendung einer Methodik, die ein einheitliches Befeuchten der zu desinfizierenden Oberflächen gewährleistet, ohne exzessives Benutzen oder Verschwenden von Chemikalien, die möglicherweise die Umwelt schädigen;
- g) Anwendung von Prinzipien der Risikoanalyse beim Fällen von Entscheidungen im Hinblick auf die Anwendung von Desinfektionsmitteln und die Methoden der Anwendung, um (so weit wie möglich) zu sichern, dass nicht mehr Desinfektionsmittel als nötig eingesetzt werden;
- h) Anwendung von alternativen Desinfektionsmitteln, wie synthetischen Formulierungen, die biologisch abbaubar und ungefährlich für Mensch und Umwelt sind.

2.1.4 Desinfektionsverfahren

Zusammenfassend können die Eigenschaften der zu bekämpfenden Mikroorganismen, die Wirksamkeit der angewandten Desinfektionsmittel, die Zweckmäßigkeit der Durchführung des Desinfektionsverfahrens und die Beschaffenheit der zu desinfizierenden Anlagen als wesentliche Parameter für die Realisierbarkeit von Desinfektionsverfahren genannt werden (MROZEK 1976).

Im Folgenden sind verschiedene mögliche Einteilungen der Verfahren dargestellt.

2.1.4.1 Einteilung nach Art der Desinfektionsmaßnahme

Während bei den Methoden der Sterilisation physikalische Methoden dominieren und chemische Verfahren nebengeordnet sind, ist es bei der Desinfektion genau umgekehrt. In Verbindung mit keimreduzierenden Maßnahmen wie Waschung, Reinigung und Filtration stehen chemische Verfahren im Vordergrund der Desinfektion (ARNDT 1983).

Auch wenn hier nachfolgend die physikalischen und chemischen Desinfektionsmethoden getrennt betrachtet werden, muss darauf hingewiesen werden, dass beide Wirkprinzipien miteinander kombiniert werden können und dies in der Praxis auch genutzt wird (BÖHM 2002).

Die Methoden lassen sich in die folgenden großen Übergruppen einordnen:

- **Physikalische Desinfektionsmaßnahmen**

Die weitaus meisten Verfahren nutzen die Inaktivierung bei höheren Temperaturen aus, die Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlungsarten hat aber ebenfalls ein Anwendungsfeld.

Man kann daher weiter in Untergruppen unterteilen:

- **Mechanische Verfahren**

Beispiele für diese Art der Unschädlichmachung sind der Entkeimungsfilter, die Luftfiltration oder auch das Zentrifugieren (STELLMACHER et al. 1974; KLAWITTER 1980).

- **Thermische Verfahren**

Als mögliche Inaktivierungsverfahren sind hier beispielsweise Kälte, Wärme, Hitze, bewegte Luft, Heißluft, Trocknen, hoher Druck, Verbrennen, feuchte Wärme, Kochen, Tyndallisieren, Pasteurisieren und gespannter Dampf zu nennen (STELLMACHER et al. 1974).

- a) *Hitze*

Bei der Anwendung hoher Temperaturen kommt es zu einer Denaturierung des Eiweißes, die eine Abtötung der Mikroorganismen zur Folge hat. Diese ist von der Temperatur und von der Dauer der Einwirkung sowie von einer Reihe anderer Faktoren (siehe **Kapitel 2.1.6**) abhängig. Es wird zwischen trockener und feuchter Hitze unterschieden. Dabei besitzt feuchte Hitze (Wasserdampf, heißes Wasser) größere Abtötungskraft als trockene Hitze, da ihr Wärmegehalt erheblich größer ist (SCHLIESSER und STRAUCH 1981).

b) *Kälte*

Kälte führt nur bei empfindlichen Mikroorganismen den Tod herbei. Die Einwirkung von Kälte ist demnach nicht zum Zweck der Desinfektion oder Sterilisation geeignet, sie stellt aber ein wichtiges Konservierungsverfahren dar, da infolge der starken Reduktion der Stoffwechselaktivität Vermehrungsvorgänge bei den Mikroorganismen und somit eine Verderbnis des konservierten Materials ausbleiben (SCHMIDT et al. 1968; KLAWITTER 1980).

➤ UV-Bestrahlung

Ultraviolettlicht ist als kurzwellige, elektromagnetische Strahlung in dem Bereich von 210 - 310 nm mikrobizid wirksam. Die maximale Wirkung auf Viren und Mikroorganismen liegt bei ca. 265 nm (SCHLIESSER und STRAUCH 1981).

UV-Strahlen besitzen eine geringe Eindringtiefe, da sie von der Materie sehr schnell absorbiert werden und somit nur eine Keimverminderung auf der Oberfläche von festen und flüssigen Materialien bewirken (STEUER et al. 1998). Auch STELLMACHER et al. (1974) geben an, dass die Absorption der Strahlen durch organisches Material so stark ist, dass bereits bei einer Schichtdicke von < 1mm keine sichere Abtötung von Keimen erfolgt.

Als Angriffspunkt wird das genetische Material angesehen, da die DNS ihre stärkste Absorption ebenfalls im oben genannten Wellenbereich hat. Bei Mikroorganismen mit zellulärem Aufbau (z.B. Bakterien und Pilzzellen) soll zudem auch die strahlenbedingte Induktion von Peroxiden in den wässrigen Phasen der Zelle für den Abtötungsprozess eine Rolle spielen (BÖHM 2002). Sowohl bei Viren als auch bei Bakterien bestehen spezies- und stammspezifische Unterschiede der Empfindlichkeit gegen UV-Strahlen. Die Sensibilität variiert auch mit dem Funktionszustand von Bakterien, die in der logarithmischen Wachstumsphase ihren höchsten und in versportem Zustand ihren geringsten Grad erreicht. Außerdem sind die Schädigungen zum Teil reversibel, so dass mit einer Reaktivierung strahlengeschädigter Mikroorganismen zu rechnen ist. Dieses Phänomen der Photoreaktivierung mit Reparatur der geschädigten DNS kommt bei Viren, Bakterien und selbst mehrzelligen Organismen unter dem Einfluss von längerwelligen Strahlen im Grenzbereich zum oder im sichtbaren Licht (330 - 480 nm) vor (SCHLIESSER und STRAUCH 1981). Zur Desinfektion genutzte UV-Strahlung muss daher lange einwirken, um den Reparaturprozessen entgegen zu wirken (FRITSCH 1990).

Bei Untersuchungen des antimikrobiellen Wirkspektrums des UV-Lichtes fiel auf, dass gramnegative Bakterien am empfindlichsten reagieren, gefolgt von grampositiven Bakterien, Bazillussporen, Mikrokokken, Hefen, Schimmelpilzen und Viren.

UV-Strahlen werden häufig als zusätzliche Desinfektionsmaßnahme angewendet, um zum Beispiel die Keimzahlen in der Luft und auf den Oberflächen von Arbeitsplätzen in Laboratorien herabzusetzen. Auch zur Inline-Einsiegelung von aseptisch hergestellten Produkten aus der Pharma-, Kosmetik- und Lebensmittelindustrie werden UV-Strahlen

eingesetzt (WALLHÄUßER 1988). In Deutschland ist das Direktbestrahlen von Lebensmitteln (ausgenommen Trinkwasser und Oberflächen von Obst, Gemüse sowie Hartkäse) gesetzlich untersagt (EDELMEYER 1976).

Insgesamt wird dem UV-Licht wegen seiner geringen Eindringtiefe und der fehlenden Möglichkeit einer Standardisierung der desinfizierenden Wirkung aufgrund der Anfälligkeit gegenüber verschiedenen Faktoren in der Praxis nur eine untergeordnete Bedeutung unter den Desinfektionsmaßnahmen beigemessen (SONNTAG 1986).

➤ Ionisierende Strahlen

Zu den ionisierenden Strahlen gehören einerseits die Korpuskular- oder Elektronenstrahlen (Kathodenstrahlen, Betastrahlen), andererseits elektromagnetische Wellenstrahlung (Röntgenstrahlen, Gammastrahlen).

Bei den Gammastrahlen handelt es sich um energiereiche Strahlen, die von bestimmten radioaktiven Isotopen wie Kobalt⁶⁰ und Caesium¹³⁷ ausgesandt werden. Sie besitzen eine gute Durchdringungskraft und führen zu Ionisierungen, gegenüber welchen Mikroorganismen sich als sehr empfindlich erwiesen haben.

Unter den korpuskulären Strahlen sind die Betastrahlen (Elektronenstrahlen) für die Abtötung von Mikroorganismen besonders wichtig. Sie rufen bei ausreichend hoher Beschleunigung ebenfalls Ionisierungen hervor (SCHMIDT et al. 1968).

Das Wirkungsspektrum ist breit. Am widerstandsfähigsten sind Viren, gefolgt von den Sporenbildnern, den übrigen grampositiven Bakterien, Pilzen und schließlich den gramnegativen Bakterien, die am empfindlichsten reagieren (WALLHÄUßER 1988).

Zur Anwendung kommen entweder Kathodenstrahlen oder Gammastrahlen (aus ⁶⁰Co), die vorwiegend zur Sterilisation von Instrumenten, chirurgischem Nahtmaterial, Einwegmaterialien für den medizinischen Bedarf, Verbandstoffen und Medikamenten eingesetzt werden. Begrenzte Anwendung finden sie außerdem zur Konservierung von Lebensmitteln im Ausland (DIEHL 1972) sowie gelegentlich in einigen Ländern zur Dekontamination von Klärschlamm (Abtötung von Salmonellen und Wurmeiern) (BÖHM 2002).

Infolge der erheblich größeren Eindringtiefe und des stärkeren Durchdringungsvermögens werden meistens Gammastrahlen verwendet. Das Bestrahlungsgut wird dabei nicht radioaktiv (STEUER et al. 1998).

➤ Ultraschall

Es handelt sich hierbei um Hochfrequenzschallwellen, die in Flüssigkeiten durch plötzliche Druckwellen sowie Extraktion gelöster Gase bei Nachlassen des Druckes wirken und einen Kollaps der Zellwand verursachen (STELLMACHER et al. 1974).

Der Effekt ist abhängig von der Energie (Amplitude) und der Frequenz der Schallwellen sowie von der Beschallungsdauer. Viren sind am unempfindlichsten, da bei ihnen aufgrund der nichtzellulären Struktur der Wirkungsmechanismus weitgehend versagt. Bakterien-,

Hefe- und Pilzzellen lassen sich dagegen durch Ultraschall gut zerstören, es bestehen jedoch deutliche Empfindlichkeitsunterschiede (SCHLIESSER und STRAUCH 1981).

Die begrenzten Anwendungsgebiete für Ultraschall sind die Gewinnung von Zellbestandteilen, die Extraktion von Zellinhaltsstoffen, Enzymen und Endotoxinen sowie das Benutzen zur Reinigung bestimmter Geräte (BÖHM 2002).

➤ Mikrowellen

Dieses Verfahren wird insbesondere für die Desinfektion der Krankenhaus-, Labor- und Küchenabfälle angewendet. Durch Mikrowellen können bei vorhandener Flüssigkeit bzw. Feuchtigkeit durch Reibung Kochtemperaturen erreicht werden.

Als nachteilig ist zu bewerten, dass Feuchtigkeit vorhanden sein muss, eine bestimmte Verpackung notwendig ist und keine Metallteile, Säuren und Laugen den Mikrowellen ausgesetzt werden dürfen (STEUER et al. 1998).

➤ Schock durch elektrische Spannung

Durch hohe elektrische Spannung von 8 -15 kV können Bakterien, Bazillensporen und Phagen in wässrigen Suspensionen ebenfalls abgetötet werden. Bei Eiweißzusatz verringert sich hierbei jedoch die Wirkung (STELLMACHER et al. 1974; STEHMANN 1983).

• Chemische Desinfektionsmaßnahmen

Es hat durchaus seine Berechtigung, wenn der Begriff Desinfektion in zahlreichen Bereichen und Situationen mit der chemischen Desinfektion gleichgesetzt wird, denn chemische Verfahren zur Inaktivierung von Mikroorganismen sind wegen der universellen Einsatzmöglichkeiten in vielen Bereichen des öffentlichen Gesundheitswesens sowie bei der Erzeugung und Bearbeitung leicht verderblicher Nahrungs- und Futtermittel nicht wegzudenken (BÖHM 2002).

Die Wirkstoffgruppen und einige wichtige Vertreter sind in **Kapitel 2.1.5** genauer beschrieben.

• Biologische Desinfektionsmaßnahmen

Mit Mikroorganismen, Viren und Einzellern besiedelte Lebensräume besitzen ein keiminaktivierendes Potenzial. Hierbei spielen verschiedene Mechanismen eine Rolle, die von den beteiligten biologischen Systemen selbst ausgehen. Zu nennen sind unter anderem eine Verschiebung des pH-Wertes, eine Erhöhung der Temperatur, die Bildung von Antibiotika, Antagonismus, das Entstehen mikrobizider Gase und der Nährstoffabbau.

Der bekannteste aerob-thermophile Prozess ist die Kompostierung. In der Tierhaltung und der Gewinnung tierischer Lebensmittel spielt die Kompostierung von Festmist und Schlachtabfällen eine bedeutende Rolle (BÖHM 2002; MÜLLER und SCHLENKER 2004).

2.1.4.2 Einteilung nach Anwendungsgebieten

Diese Unterteilung der Desinfektionsverfahren ist von praktischer Bedeutung, da die Auswahl des geeigneten, wirksamsten und in der Anwendung ökonomischsten Präparats oder der möglichen Methode davon abhängig ist.

Nach STELLMACHER et al. (1974) sind zu unterscheiden:

- **Grobdesinfektion**

Hierzu zählen die Spritz- und Sprühdesinfektion sowie die Stall- und Scheuerdesinfektion.

- **Feindesinfektion**

Zu dieser Desinfektionsart gehören die Körperdesinfektion, die chirurgische und hygienische Händedesinfektion und auch die Instrumentendesinfektion.

- Zusätzlich lassen sich weitere **Sondergebiete** nennen:

Wäsche-, Sputum-, Stuhl-, Wasser-, Abwasser-, Raumluf-, Transportmitteldesinfektion gehören demnach ebenso dazu wie die Desinfektion in der Fleisch-, Milch-, Fisch-, sonstigen Lebensmittel-, Leder- und Pelzindustrie und die Desinfektion in TKBA und Laboren.

Tabelle 1: Systematik der Ausbringung von Desinfektionsmitteln nach BÖHM (2002)

Desinfektionsart	Ausbringungsphase	Wirkphase	Geräte (Beispiele)
Einlegen; Stationäre Desinfektion	flüssig	flüssig	Wannen
Wisch- und Scheuerdesinfektion	flüssig	flüssig	Schwamm, Tuch, Bürste
Sprühdesinfektion	flüssig	flüssig	Rückentragespritze; Sprühanlagen
Feinsprühdesinfektion	flüssig	flüssig (gasförmig)	Heißvernebler, Spezialgeräte
Aerosol-desinfektion	flüssig	gasförmig	Ultraschallvernebler
Verdampfen	gasförmig	gasförmig	Kochtopf
Begasung	gasförmig	gasförmig	Begasungskammern, -schränke

Eine weitere weithin akzeptierte Einteilung zeigt ARNDT (1983). Hier werden die Desinfektionsverfahren um den Erfordernissen der tierärztlichen und medizinischen Praxis gerecht zu werden folgendermaßen eingeteilt:

1. Hände- und Hautdesinfektion
2. Flächendesinfektion
3. Raumdesinfektion
4. Instrumentendesinfektion
5. Wäschedesinfektion
6. Desinfektion von Körperausscheidungen, Beseitigung von Laborabfällen.

2.1.4.3 Einteilung nach Resistenzstufen

In Abänderung der Definition der Liste des Bundesgesundheitsamtes von 1978 werden in der Veterinärmedizin Desinfektionsmittel und Verfahren nach folgenden Resistenzstufen eingeteilt (ARNDT 1983):

- a) Abtötung von vegetativen bakteriellen Keimen (ohne Mykobakterien), Pilzen und behüllten Viren (z.B. Paramyxo-, Rhabdo-, Corona-, Herpesvirus).
- b) Wie a), doch einschließlich der Abtötung von Mykobakterien und unbehüllter Viren (z.B. Picorna-, Calici-, Parvo-, Adenoviren).
- c) Wie a) und b), zusätzlich Abtötung bakterieller Sporen bis zur Resistenzstufe des Milzbranderreger.
- d) Bakterielle Sporen höherer Resistenz (z.B. Clostridium tetani, Clostridium botulinum) sind durch Methoden der Sterilisation abzutöten.

2.1.5 Chemische Desinfektionsmittel

An chemische Desinfektionsmittel sind folgende Anforderungen zu stellen:

Das Präparat muss ein breites Wirkungsspektrum haben, es muss rasch, zuverlässig und irreversibel wirken, es soll weitgehend hitze-, kälte-, lichtbeständig sein, es soll weitgehend verträglich für Mensch und Tier und wirtschaftlich sein (WEGNER 1977; ARNDT 1983).

Die gewünschte Aktivität eines Desinfektionsmittels muss von dem Arbeitsgang oder dem jeweiligen Verfahren der Desinfektion bestimmt sein, für das es verwendet werden soll (GRÖSCHEL 1973).

Das Wirksamkeitsspektrum der wichtigsten Desinfektionsmittel ist in **Tabelle 2** dargestellt.

Tabelle 2: Wirksamkeitsspektrum der wichtigsten Desinfektionsmittel (MÜLLER und SCHLENKER 2004)

Desinfektionsmittel	Wirksamkeit gegen				Optimaler pH-Wert
	Bakterien	Viren	Pilze	Sporen	
Alkohole	++	+/-	+	-	
Aldehyde	++	+/-	+	++	4-9
Chlor/Chlorabspalter	++	++	+/-	++	6-9
Jod	++	++	+/-	++	4-8
Phenole	++	+/-	+/-	-	3-8
Säuren	++	++	++	++	3-7
Laugen	++	++	-	+/-	7-9
Quats	+	+/-	+	-	5-9
Guanide	+	+/-	++	-	7-9
amphotere Verbindungen	++	+/-	++	-	5-9
Sauerstoffabspalter	++	++	++	++	3-5

++ = wirksam

+ = mäßig wirksam

- = unwirksam

+/- = selektiv wirksam

Desinfektionsmittel können, modifiziert nach JEFFREY (1995), STEUER et al. (1998) und BÖHM (2002), in folgende Übergruppen eingeteilt werden:

2.1.5.1 Aldehyde

Die wichtigsten Vertreter dieser wichtigen Desinfektionsmittelgruppe sind Formaldehyd, Glutaraldehyd und Glyoxal. Formaldehyd ist dabei der am häufigsten eingesetzte Desinfektionsmittelwirkstoff in der Landwirtschaft (STEIGER 1986). Es wird sowohl als Flächendesinfektionsmittel als auch zur Hygienisierung von Fäkalien eingesetzt (BÖHM 2002).

Die Wirkungsweise von Aldehyden ist an die sehr reaktive Aldehydgruppe gebunden, wobei diese vor allem mit den Amino- und Amidgruppen der Zellproteine reagiert. Es werden irreversible Methylgruppen ausgebildet, die Bestandteile der Zellwand zerstören, wodurch diese durchlässig werden und das osmotische Gleichgewicht gestört wird. Außerdem werden Zellenzyme inhibiert, so dass auch der Zellstoffwechsel behindert wird. Vor allem bei Viren binden sich die Aldehyde auch an die Nukleinsäuren und inaktivieren sie dadurch (MARIS 1995; BÖHM 2002).

Aldehyde inaktivieren Bakterien, Pilze, Viren und Sporen (WILLINGER und THIEMANN 1972; SPICHER und PETERS 1995). Die Ursachen für eine Fülle verschiedener Angaben zur antimikrobiellen Wirkung von Formaldehyd liegen darin, dass die Wirkung stark von seiner Konzentration, der Temperatur, dem pH-Wert und der Einwirkungsdauer abhängig ist (SPICHER und PETERS 1976).

Aldehyde weisen einen deutlichen Eiweißfehler auf. BRILL und HÖFFLER (1996) folgerten aus ihren vorliegenden Ergebnissen außerdem, dass Aldehyde auch einen sehr großen Kältefehler besitzen. SCHLIESSER und WIEST stellten 1979 bei ihren Untersuchungen fest, dass Formalin bei fallender Temperatur eine deutliche Verzögerung der bakteriziden Wirkung zeigte. THIEL (1977) gibt an, dass man von Formalinlösungen schon unter 15°C bis 16°C keinen ausreichenden Desinfektionseffekt mehr erwarten kann. Ein Nachteil des Einsatzes von Formalin ist außerdem das Hervorrufen von Allergien (KURZWEG et al. 1988; MÜLLER und SCHLENKER 2004). Auch engen ein stechender Geruch (STELLMACHER et al. 1973b) und Reizung der Schleimhäute die Anwendung ein (SCHLIESSER 1975). Eine kanzerogene und mutagene Wirkung der Aldehyde wird immer wieder diskutiert, bisher sind hierzu allerdings keine gesicherten Beweise vorhanden (HAHN 1981; KURZWEG et al. 1988; BÖHM 2002).

2.1.5.2 Alkohole

Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind Ethanol, Propanol und Isopropanol. Angewendet werden sie vor allem zur Haut- und Händedesinfektion (STEIGER 1986).

In der Reihe der Alkohole nimmt die Bakterizidie und Fungizidie mit Zunahme des Molekulargewichts und der Kettenlänge zu (TRAUTWEIN und KRÜGER 1977). HAHN fügt 1981 hinzu, dass die Verlängerung des Alkylrestes bis zu sechs Kohlenstoffatomen zu einer deutlichen Zunahme der Wirksamkeit beziehungsweise zu deren schnelleren Eintreten führt. Mit weiter steigender Kettenlänge und Verzweigung des Alkylrestes kommt es wieder zu Wirkungsverlusten. Sporen werden durch Alkohole nicht abgetötet (ARNDT 1983), sondern nach BÖHM (2002) in Alkohol konserviert.

Alkohole denaturieren rasch die Eiweiße vegetativer Mikroorganismen, erheblich langsamer dagegen die Nukleinstrukturen der Viren (ARNDT 1983). Zur Denaturierung der Proteine darf der Alkohol allerdings nicht in konzentrierter, unverdünnter Form vorliegen, sondern es ist ein bestimmter Anteil an Wasser notwendig, sonst hat Alkohol nur einen konservierenden Effekt (BÖHM 2002). Optimale Wirkung wird in den Konzentrationen von 70 bis 80 Prozent erreicht, zu hohe oder zu niedrige Verdünnungen sind wirkungslos (ARNDT 1983). Nach BÖHM (2002) ist Alkohol bei einer Konzentration unter 30 Prozent nicht mikrobizid.

Alkohole verdunsten schnell und es besteht erhebliche Brand- und Explosionsgefahr (ARNDT 1983). Die Wirksamkeit von Alkoholen hängt außerdem deutlich von der Temperatur ab (STEIGER 1986).

2.1.5.3 Halogene

Chlor und seine Verbindungen

Als Desinfektionsmittel werden sowohl elementares Chlor als auch zahlreiche anorganische und organische Chlorverbindungen genutzt. Chlorgas dient beispielsweise zur Chlorierung von Trinkwasser und Badewasser in Schwimmbädern (OHGKE 1986). Chlorkalk ist billig und kann für die Desinfektion vielseitig genutzt werden, z.B. für die Desinfektion von Flüssigmist, Jauche und Abortgruben sowie Abwasser (TRAUTWEIN und KRÜGER 1977).

Laut TRAUTWEIN und KRÜGER (1977) wird die vielseitige Desinfektionswirkung sowohl dem freien Chlor als auch der unterchlorigen Säure und dem naszierenden Sauerstoff zugeschrieben. Die Wirkungsweise der Chlorabspalter ist derzeit noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Zum einen setzt unterchlorige Säure zwar naszierenden Sauerstoff frei, der Zellproteine und auch Nukleinsäuren oxidiert. Dies ist aber nicht der alleinige Effekt, da Chlorabspalter auch unter Bedingungen, die eine Oxidation ausschließen, desinfizierend wirken. Es wird angenommen, dass Chlor auch mit den SH-Gruppen von Zellenzymen reagiert (JENTSCH 1978a; MARIS 1995).

Chlor und Chlorabspalter haben ein breites Wirkungsspektrum gegen Bakterien, Pilze und viele Viren (WILLINGER und THIEMANN 1972; KAHRS 1995). Tuberkelbakterien und Sporen erfordern jedoch höhere Einsatzkonzentrationen (JENTSCH 1978a).

Nachteilig sind der Wirkungsverlust beim Vorhandensein organischer Verschmutzungen, die geringe Beständigkeit in Lösungen, die teilweise ätzende Wirkung und der Angriff von Metallen (SCHLIESSER 1975; HAHN 1981; KURZWEG et al. 1988; JEFFREY 1995). Bei Chlorkalk ist auch ein gewisser Temperaturfehler nachweisbar (STELLMACHER et al. 1973a).

Jodophore

Jodophore sind hochmolekulare oberflächenaktive polymere Substanzen, an die elementares Jod angelagert ist (JENTSCH 1978a). Jodpräparate in anorganischer (Jodtinktur, Lugolsche Lösung) oder organischer (Jodoform, Polyvinylpyrrolidonjod) Verbindung sind seit langem als Haut- und Wunddesinfektionsmittel bekannt (ARNDT 1983). Die Wirkungsweise der Jodophore beruht auf der starken Oxidationskraft des Jods, wodurch die Proteine der Mikroorganismen denaturiert werden (JENTSCH 1978a). Außerdem unterbrechen sie den Elektronentransport in der Atmungskette durch Reaktion mit deren Enzymen (MARIS 1995).

Das Wirkungsspektrum erstreckt sich auf Bakterien, Sporen, Algen und verschiedene Virusarten (TRAUTWEIN und KRÜGER 1977; BRUINS und DYER 1995; THIELE 1997).

TRAUTWEIN und KRÜGER (1977) und auch BÖHM (2002) geben an, dass es zur Schleimhautreizung, Allergisierung und Korrosion von Metallen kommen kann.

Brom

Brom wirkt wie Chlor und Jod stark desinfizierend, hat jedoch eine starke Reizwirkung. Brom wird zum einen als Jodersatz bei Jodallergien und vor allem in den USA zur Trinkwasser- und Badewasserdesinfektion eingesetzt. Brom ist zwar nicht für Aufbereitungsverfahren nach DIN anerkannt, aber vorliegende Berichte und Untersuchungen haben eine ausreichende Wirkung gezeigt (JEFFREY 1995; STEUER et al. 1998).

2.1.5.4 Oxidationsmittel

Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind das Wasserstoffperoxid und die Peressigsäure. Sie oxidieren und denaturieren Zellproteine, Nukleinsäuren und Lipide von Mikroorganismen (MARIS 1995). Peressigsäure zerfällt in Essigsäure und Wasserstoffperoxid, wobei letzteres atomaren Sauerstoff freisetzt (MÜLLER und SCHLENKER 2004).

Eingesetzt wird Peressigsäure in fast allen Anwendungsbereichen der Flächendesinfektion, zur Flüssigmistdesinfektion und in der Melkhygiene (BÖHM 2002; BRÄUNIG 2005).

Vor allem Peressigsäure hat eine sicher abtötende Wirkung auf Bakterien, deren Sporen, Viren und Pilze (WEUFFEN und WIGERT 1972; SPRÖßIG 1979; PETERS und

SPICHER 1985). Wasserstoffperoxid und Percarbonat inaktivieren sowohl Bakterien (HORN et al. 1972) als auch Viren wesentlich schwächer (SPORKENBACH-HÖFFLER et al. 1987). Die Benetzungsfähigkeit und die viruzide und sporozide Wirkung der Peressigsäure kann durch Kombination mit Alkoholen oder Tensiden noch verbessert werden (SPRÖßIG 1989). Als außerdem von Vorteil bezeichnen SCHLIESSER und WIEST (1979) das Fehlen einer Zeitabhängigkeit der bakteriziden Wirkung, und auch eine Temperaturabhängigkeit der Wirkung wurde nicht festgestellt. Auch die Untersuchungen von STELLMACHER et al. (1973a) ergaben keinen Temperaturfehler.

Durch eine hohe Belastung mit Eiweiß wird die mikrobiozide Wirkung hingegen deutlich reduziert (EGGENSPERGER 1979; PETERS und SPICHER 1985). Nachteilig sind ebenso ein stechender Geruch, Schleimhautreizungen und teilweise schlechte Materialverträglichkeit (SCHLIESSER 1975; BELLINGER 1987). Diese mitunter anwendungslimitierenden Eigenschaften der Peressigsäure wurden durch die Entwicklung eines Kombiverfahrens, bei dem ein Puffer hinzugefügt wird, eingedämmt (BRÄUNIG 2005).

Zwar ist die Toxizität der Peressigsäure aufgrund des schnellen Zerfalls gering, allerdings wird sie verdächtigt, krebserregend zu sein (BÖHM 2002).

Ein weiteres Oxidationsmittel ist Ozon, welches Anwendung bei der Desinfektion von Trink- und Badewasser findet. Ozon besitzt ein breites Wirkungsspektrum, das bei ausreichend hoher Konzentration sogar sporozid wirksam ist. Reines Ozon ist stark explosiv. Der Luft beigemischtes Ozon ist für den Menschen in höherer Konzentration toxisch und führt zur Verätzung der Atemwege. Aus diesem Grund müssen bei der Anwendung besondere Sicherheitsvorschriften beachtet werden (JENTSCH 1978d; STEUER et al. 1998; BREMER 2003).

2.1.5.5 Laugen

In der Wirkstoffgruppe der Laugen oder Alkalien sind Natron-, Kalilauge, Kalkmilch oder Soda als Desinfektionsmittel von Bedeutung (ARNDT 1983). Natronlauge, die wässrige Lösung des Natriumhydroxids, ist die stärkste bekannte Lauge und wird zur Flächendesinfektion oder zur Desinfektion von Flüssigmist verwendet. Calciumhydroxid entsteht durch Zugabe von gebranntem Kalk zu Wasser und wird zur Hygienisierung von Festmist (Dungpackung) oder ähnlichen Materialien verwendet (BÖHM 2002). Mit Kalkmilch können Fäkalien und Wandanstriche desinfiziert werden (ARNDT 1983).

Die Wirkungsweise beruht vor allem auf dem hohen pH-Wert, durch den die Zellwand der Bakterien zerstört wird. Dabei werden die Phosphorsäureester der Lipide verseift und die Säureamidbindungen der Peptide hydrolysiert, wodurch die Eiweiße denaturiert werden. Die Wirksamkeit von Alkalien nimmt dabei mit steigender Temperatur zu (BÖHM 2002).

Nachteilig sind hingegen stark korrodierende Wirkungen auf Metalle, Farbanstriche und Textilien und die hautreizende Wirkung (SCHLIESSER 1975; JEFFREY 1995).

2.1.5.6 Säuren

Zu den organischen Säuren gehören unter anderem die Ameisen-, Essig- und Propionsäure. Sie sind Vertreter der aliphatischen Monocarbonsäuren, welche eine Carboxylgruppe besitzen, die in wässriger Lösung in Protonen und negativ geladene Säure-Anionen dissoziieren. Oben genannte Vertreter sind farblose, stechend riechende Flüssigkeiten, die mit Wasser und Ethanol in jedem Verhältnis mischbar sind. Ihr Wirkoptimum liegt ungefähr bei einem pH-Wert von 3-6 (BREMER 2003).

Hauptsächlich finden organische Säuren, wie die Ameisensäure und die Essigsäure, in der Stalldesinfektion Anwendung (MÜLLER und SCHLENKER 2004). Ein weiteres Hauptanwendungsgebiet liegt bei der Konservierung von Lebensmitteln und Kosmetika (BÖHM 2002).

Die Wirkungsweise der Säuren beruht auf einer Zerstörung der Nukleinsäuren, der Veränderung des pH-Werts im Zytoplasma sowie einer Zerstörung der Proteine (MARIS 1995).

Bei Vorhandensein von organischem Schmutz sinkt die Wirksamkeit beträchtlich (BÖHM 1986; MÜLLER und SCHLENKER 2004).

Ameisensäure ist toxischer und wirkt stärker lokal reizend als die anderen aliphatischen Säuren. Konzentrierte Ameisensäure kann zu Verätzungen der Haut führen, die Dämpfe reizen die Schleimhäute der Atemwege und der Augen und oral aufgenommen kommt es zu Verätzungen. Die Ameisensäure gilt daher als ‚starkes Gift‘ und ‚wassergefährdender Stoff‘. Die Essigsäure führt ab einer Konzentration von 5% zu Schleimhautreizungen und zu lokalen Schäden nach Inhalation (BREMER 2003).

2.1.5.7 Phenole

Phenol ist eines der ältesten Desinfektionsmittel, die in der Medizin angewendet werden (MÜLLER und SCHLENKER 2004). Heute spielt es jedoch kaum noch eine Rolle, da an seine Stelle die wirksameren Phenolderivate traten, wobei deren Wirksamkeit durch das Einführen von Alkylketten, Arylresten und Halogenen gesteigert wurde (KIRCHHOFF 1974; HAHN 1981; JEFFREY 1995).

Nach TRAUTWEIN und KRÜGER (1977) eignen sich derartige Phenolpräparate auch besonders für die Desinfektion in Tierställen. So werden Kresole mit Seifen emulgiert und als Kresolseifen zur Scheuerdesinfektion genutzt (BÖHM 2002).

Phenole durchdringen die Zellwand, zerstören sie, um im Zellinneren mit Proteinen zu reagieren und dadurch wichtige Enzymsysteme von Mikroorganismen irreversibel zu schädigen (JENTSCH 1978b).

Das Wirkungsspektrum ist dabei abhängig von der Anwendungskonzentration. Vegetative Formen von Bakterien werden bei niedrigeren Konzentrationen, Tuberkelbakterien, Viren und Pilze erst bei hohen Konzentrationen erfasst. Sporen werden von Phenolen nicht abgetötet (HAHN 1981).

Als Nachteile von Phenol geben STELLMACHER et al. (1974) und TRAUTWEIN und KRÜGER (1977) den starken Geruch, die Schwierigkeiten bei der Lösung in Wasser sowie die ätzende und korrosive Wirkung an.

Ein weiterer Nachteil ist ein deutlicher Temperaturfaktor (SCHLIESSER und WIEST 1979). Der Eiweiß- und Seifenfehler ist laut JENTSCH (1978b) dagegen nicht sehr ausgeprägt.

2.1.5.8 Oberflächenaktive Substanzen

Die anionischen Tenside sind weniger als Desinfektionsmittel geeignet, dafür kommt den kationischen Tensiden, den quaternären Ammoniumverbindungen, eine größere Bedeutung zu. Ferner sind in diesem Zusammenhang noch die Amphotenside und die Guanidine zu nennen.

Quaternäre Ammoniumverbindungen („Quats“)

Diese Verbindungen werden wegen ihrer geringen Toxizität in zahlreichen Kombinationspräparaten z.B. zur Händedesinfektion oder zur Desinfektion von Tränkrinnen und Futterautomaten verwendet (MÜLLER und SCHLENKER 2004). BÖHM (2002) fügt hinzu, dass der Haupteinsatzbereich der Quaternären Ammoniumverbindungen in der Lebensmittelindustrie und im Nahrungsmittelgewerbe ist.

Quaternäre Ammoniumverbindungen binden irreversibel an die Phospholipide und Proteine der Zellmembran und bewirken dort eine Bildung von Poren, wodurch das Zellmilieu gestört wird. Ebenso kann es zum Eindringen der Verbindungen in die Zelle mit anschließender Denaturierung von Proteinen kommen (MARIS 1995).

Das Wirkungsspektrum umfasst die grampositiven Bakterien und die etwas weniger empfindlichen gramnegativen Bakterien. Mykobakterien und Sporen erweisen sich als resistent. Pilze sind weniger, die meisten Viren nicht ausreichend empfindlich (SCHMIDT et al. 1968; FRAISE 1999). JEFFREY (1995) fügt außerdem hinzu, dass vor allem behüllte Viren inaktiviert werden und die Verbindungen gegen Pilze meist fungistatisch und nicht fungizid sind.

Quaternäre Ammoniumverbindungen haben eine gute Reinigungs- und Tiefenwirkung und sind dabei nicht oder nur wenig korrosiv und relativ ungiftig. Nachteilig sind hingegen starke Wirkungsverluste beim Vorhandensein von Eiweiß, Seifenresten, Eisen- und Kalziumionen (hartes Wasser) und niedrigen pH-Werten (SCHLIESSER 1975; OHGKE 1986; JONO et al. 1986; FRAISE 1999).

Amphotere Verbindungen

Chemisch handelt es bei Amphotensiden um hochmolekulare Verbindungen auf der Basis von Aminosäuren, an die Kohlenwasserstoffketten verschiedener Länge angelagert sind und die sowohl als Säure als auch als Base reagieren können (SCHMIDT et al. 1968).

Diese Verbindungen finden hauptsächlich bei der Haut- und Händedesinfektion Verwendung (ARNDT 1983). Als vorteilhaft hat sich in diesem Zusammenhang erwiesen, dass Zubereitungen amphoterer Wirkstoffe zugleich reinigen (EDELMEYER 1976).

Sie haben eine ähnliche Wirkungsweise und ein vergleichbares Wirkungsspektrum wie die Quats, allerdings sind sie im Gegensatz zu diesen auch tuberkulozid (JEFFREY 1995).

Guanide

Während das Wirkungsspektrum von einfachen Guaniden nicht frei von Lücken ist, besitzen Guanidinabkömmlinge wie Alkylguanidine und polymere Biguanide ein breites mikrobiozides Wirkungsspektrum. Allerdings haben sie nur einen geringen Effekt gegen Mykobakterien und Pilze und bei normalen Temperaturen keinen Effekt gegen Sporen (FRAISE 1999; BÖHM 2002).

Biguanide bewirken durch Interaktion mit den sauren Phospholipiden der Zytoplasmamembran eine Veränderung der Permeabilität mit Ruptur der Membran (MARIS 1995).

Der wichtigste Vertreter der Biguanide ist das Chlorhexidin (MÜLLER und SCHLENKER 2004). Biguanide sollen die Wirkung der quaternären Ammoniumverbindungen optimieren und werden daher vornehmlich in kombinierten Reinigungs- und Desinfektionsmitteln eingesetzt, da sie eine gute Reinigungswirkung besitzen (KIRCHER 1999).

2.1.5.9 Schwermetalle

Da bereits sehr geringe Konzentrationen der in Lösung gegangenen Metallionen eine Wirkung entfalten können, spricht man von ‚oligodynamischer‘ Wirkung. Am wirkungsvollsten ist Cadmium, gefolgt von Silber, Messing, Kupfer und Quecksilber (JENTSCH 1978c; STEUER et al. 1998).

Auch SCHMIDT et al. (1968) erwähnen die Schwermetalle in ihrer Einteilung der chemischen Desinfektionsverfahren. Demnach kommt vor allem dem Quecksilber und dem Silber eine Bedeutung für die Praxis der Desinfektion zu, wobei sowohl anorganische als auch organische Verbindungen Anwendung finden. Die oxidierten Formen dieser Elemente sind stärker wirksam als die reinen Elemente, was bedeutet, dass die Ionen als das mikrobiozide Reagenz anzusehen sind und die Desinfektionswirkung somit vom Dissoziationsgrad abhängt. Die Metallionen reagieren mit Sulfhydrylgruppen und damit mit Enzymen beziehungsweise Zellwandproteinen der Mikroorganismen (JENTSCH 1978c).

Aufgrund der mangelhaften Abbaubarkeit in der Umwelt zweifelten TRAUTWEIN und KRÜGER und auch WEGNER allerdings schon 1977 den zukünftigen Einsatz von Schwermetallverbindungen an.

2.1.6 Die Desinfektionswirkung beeinflussende Faktoren

Bei allen Desinfektionsmaßnahmen, insbesondere bei der Anwendung chemischer Mittel, können verschiedene Faktoren den Desinfektionserfolg mehr oder weniger negativ beeinflussen, auch wenn das Mittel hinsichtlich Dosis und Zeit ausreichend angewandt wird (GRÜN und HEYN 1974; KLAWITTER 1980; KAHRS 1995; TAMASI 1995; MAYR 2002).

Einen Überblick über den Einfluss verschiedener Faktoren gibt **Tabelle 3**.

Tabelle 3: Einfluss von Stallklimafaktoren auf die Desinfektion (THIEL 1977)

Desinfektionsphasen und Desinfektionsverfahren	Temperatur $\geq 20^{\circ}\text{C}$	Luftfeuchtigkeit (RF) 40% - 90%	Luftbewegung	Staub und Luftkeime	Strahlung (Licht)
Reinigung	+	+	-	x	x
Chemische Desinfektion	+	+	-	-	+
Ruheperiode	+	+	+	-	+
Prophylakt. Desinfektion	+	+	-	-	+
Laufende Desinfektion	+	+	-	-	+
Aerosol desinfektion	+	+	-	-	x
Strahlendesinfektion	+	+	-	-	x
Langzeitdesinfektion	-	+	-	-	+

Erklärung: + = positive Wirkung - = negative Wirkung x = keine oder unbedeutende Wirkung

Im Einzelnen sind zu berücksichtigen:

- **Materialbeschaffenheit**

Bei diesem Faktor ist der Reinheitsgrad und die materielle Beschaffenheit der zu desinfizierenden Flächen zu beachten (THIEL 1979; MÜLLER und SCHLENKER 2004). MAYR (2002) gibt zu bedenken, dass raue Oberflächen schwieriger zu reinigen und zu desinfizieren sind.

- **Feuchtigkeit**

Des Weiteren verringert eine zu hohe Feuchtigkeit der zu desinfizierenden Oberfläche die Desinfektionsmittelkonzentration oder neutralisiert das Desinfektionsmittel (MAYR 2002). Feuchtigkeit beeinflusst sowohl die Desinfektion selbst als auch die Überlebenszeiten von Mikroorganismen. RATHMACHERS und BORNEFF (1977) stellten fest, dass selbst geringe Steigerungen der relativen Feuchtigkeit im Versuchsraum stärkere Keimreduktionen verursachen. Im Allgemeinen wird für die Desinfektionsphase eine relative Luftfeuchtigkeit von 40 % bis 90 % angegeben (THIEL 1978).

- **Temperatur**

Ebenso ein sehr wichtiger Faktor für Desinfektionsverfahren ist die Temperatur. Durch niedrige Temperaturen wird die Wirksamkeit der meisten Desinfektionsmittel herabgesetzt. Im Allgemeinen gilt auch für die Desinfektion die Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel (van't Hoffsche Regel). Diese besagt, dass eine Temperatursenkung von 10°C die

Reaktionsgeschwindigkeit um das etwa zwei- bis dreifache vermindert (SCHULER 1972). Als Ausnahme von dieser Regel nennt SYKES (2004) unter anderem die Natronlauge. STELLMACHER et al. (1974) geben des weiteren an, dass beispielsweise Peressigsäure bis -20°C gegenüber Bakterien und Viren praktisch keinen Temperaturfaktor aufweist.

Die Temperaturen während der Stalldesinfektion liegen in Mitteleuropa meistens etwas niedriger als bei labormäßigen Prüfungen. SCHLIESSER (1975) rechnet deshalb bei 12°C mit etwa doppelten und bei 4°C mit fünffachen Einwirkzeiten.

- **pH-Wert**

Für die Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel ist auch der pH-Wert von großer Bedeutung (GROW 1995). Der optimale Wirkungsbereich einzelner Gruppen ist in **Tabelle 2** dargestellt.

- **Gegenwart organischer Substanzen**

Bei der Betrachtung der Desinfektionsmittelgruppen ist bereits an verschiedenen Stellen darauf hingewiesen worden, dass die Anwesenheit verschiedener Substanzen zu einer durch chemische oder physikalische Vorgänge verursachten Beeinträchtigung der desinfizierenden Wirkung führen kann. Diesen Verhältnissen muss bei der praktischen Desinfektion durch entsprechende Konzentration und Einwirkungszeit der Desinfektionsmittel besonders Rechnung getragen werden.

Bei der **Chlorzehrung** (Chlorbindungsvermögen) verschiedener oxydierbarer Substanzen, die z.B. bei der Desinfektion von Abwasser eine Rolle spielt, geht das gebundene Chlor für die Desinfektionswirkung verloren (SCHMIDT et al. 1968).

Bei Gegenwart von Eiweiß und eiweißhaltigen Substanzen wie Blut, Serum, Milch, Futtermittel, Kot oder Eiter wird die Desinfektionswirkung ebenfalls deutlich vermindert (LAMBERT und JOHNSTON 2001). Grund für einen solchen **Eiweißfehler** kann eine Hüll- und Schutzkolloidwirkung oder auch eine chemische Bindung zwischen Eiweiß und Desinfektionsmittel sein (STELLMACHER et al. 1974; MEHLHORN 1979). Bei der Prüfung auf Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels wird von der DVG-Richtlinie daher im Bereich ‚Tierhaltung‘ ein 20%iger Eiweißfehler und im Lebensmittelbereich ein 10%iger Eiweißfehler als Testbedingung vorgeschrieben.

Letztlich ist noch der **Seifenfehler** zu nennen. Die Ursache dieses Faktors liegt z.T. in chemischen Reaktionen zwischen dem Desinfektionsmittel und der Seife, es können aber auch die mizellbildenden Eigenschaften von Seifen, Tween und anderen Netzmitteln eine Rolle spielen (SCHMIDT et al. 1968).

- **Tierart**

Vorsicht ist geboten aufgrund der Tatsache, dass einige Wirkstoffe für eine bestimmte Tierart toxisch sind. So sind beispielsweise Iodverbindungen und Phenolderivate toxisch für Katzen (MAYR 2002).

- **Keimart**

Mikroorganismen sind unterschiedlich empfindlich gegenüber Verfahren oder Mitteln (EDELMEYER 1982):

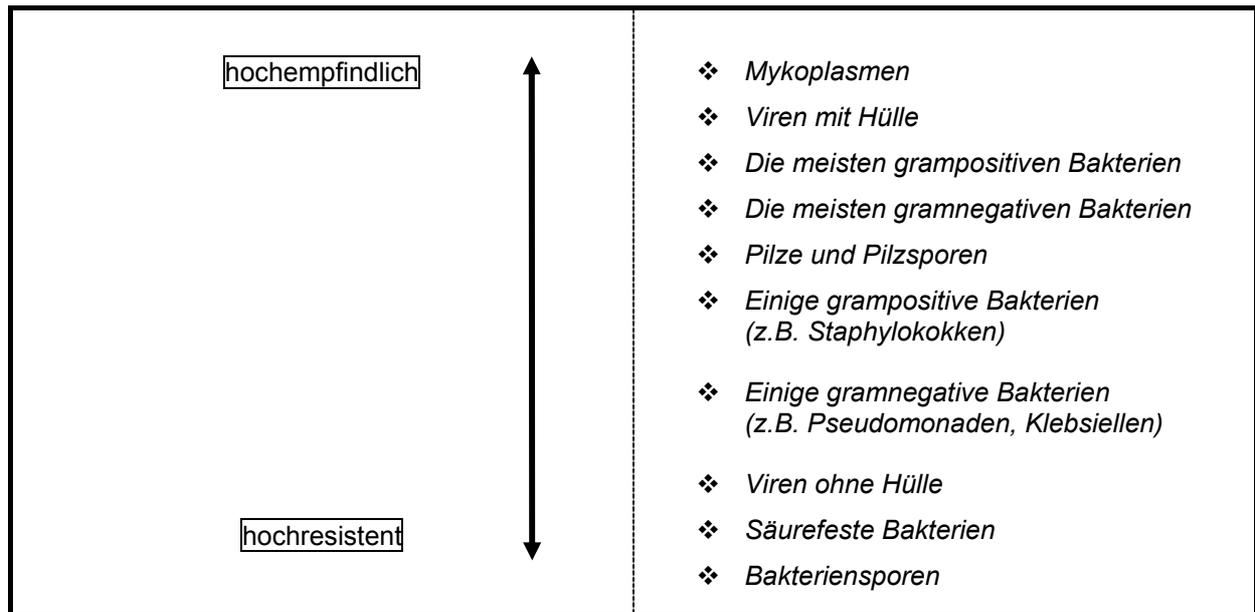


Abbildung 2: Desinfektionsmittel-Resistenz von Mikroorganismen (MAYR 2002)

- **Keimgehalt**

Bei Einwirkung physikalischer und chemischer Noxen kommt es nicht zum sofortigen Tod sämtlicher Keime, die Absterbeordnung unterliegt vielmehr biologischen Gesetzmäßigkeiten. Sie haben ihre Ursache im Wesentlichen in der unterschiedlichen Resistenz von Mikroorganismen verschiedener Arten und auch innerhalb einer Art. Liegt eine große Zahl von Keimen vor, so wird die Schwankungsbreite des Resistenzgrades größer sein. Der Absterbevorgang ist somit auch von der Ausgangskeimzahl abhängig (SCHMIDT et al. 1968).

2.2 Prüfung von Desinfektionsmitteln und -verfahren

2.2.1 Desinfektionsmittelprüfung in Deutschland

Die Desinfektionsmittelprüfung erstreckt sich heute auf die Wirksamkeit, die Anwendbarkeit (Materialverträglichkeit) und Umweltverträglichkeit der zu testenden Mittel.

Während die Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung und für den Lebensmittelbereich nach einer Richtlinie der **Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG)** durchgeführt wird, erfolgt eine Testung von Desinfektionsmitteln für den Klinik- und Laborbereich durch die **Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)**. Die **Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft (DLG)** hat eigene Prüfverfahren für ‚Stalldesinfektionsmittel‘, für ‚Reinigungs- und Desinfektionsmittel in der Milcherzeugung‘ sowie ‚Mittel zur Euterhygiene‘ entwickelt. Stalldesinfektionsmittel durchlaufen zwei Prüfungsverfahren. Zuerst wird eine Prüfung der Wirksamkeit durchgeführt, die sich in die gleichen drei Abschnitte wie die Prüfung der DVG unterteilt. Außerdem wird das Mittel einer anwendungstechnischen Prüfung (siehe **Kapitel 2.2.1.2**) unterzogen. Die Prüfungsrichtlinien der **Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft** bewerten die Reinigungs- und Desinfektionsmittel für die Milcherzeugung, während das **Institut für Milchhygiene der Bundesanstalt für Milchwirtschaft** in Kiel die eingesetzten Mittel in der Euterhygiene kontrolliert (BREMER 2003).

Es handelt sich in allen Fällen um nationale und freiwillige Prüfverfahren für die chemischen Desinfektionsmittel in den jeweiligen Bereichen.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, bildete die DVG 1970 den Ausschuss ‚Desinfektion in der Veterinärmedizin‘. Dieser Ausschuss legte 1974 erstmals ‚Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin‘ vor, die sich an die Richtlinien der DGHM anlehnten. Weitere Fassungen erschienen 1977, 1984 (Prüfungsverfahren für Produkte aus dem Lebensmittelbereich hinzugefügt) und 1996 (Bereich Parasitologie neu verfasst). Die zweite Auflage wurde 1988 und die dritte, aktuelle Auflage 2000 vorgelegt. Von der DVG geprüfte Desinfektionsmittel werden periodisch in Listen veröffentlicht:

- Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für die Tierhaltung (Handelspräparate) (ANON. 2003a);
- Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für den Lebensmittelbereich (Handelspräparate) (ANON. 2003b).

Ein Präparat wird in der Liste der DVG für längstens 5 Jahre geführt. Eine Weiterführung ist jeweils vom Hersteller neu zu beantragen und wird nur bei gleicher Zusammensetzung gewährt (ANON. 2000). Es wird jedoch darauf hingewiesen, dass die Aufnahme in eine Liste keine Garantie für eine erfolgreiche Anwendung unter Praxisbedingungen ist. Die Desinfektion wirksam zu gestalten, bleibt Aufgabe des Durchführenden oder Veranlassenden.

2.2.1.1 Wirksamkeitsprüfung

Die ersten Laborprüfungen der Wirksamkeit von Desinfektionsmaßnahmen unter ‚praxisnahen‘ Bedingungen führte bereits KOCH 1881 durch, der die Überlebensfähigkeit von Milzbrandsporen nach der Desinfektionsmitteleinwirkung testete. Noch vor dem Ende des 19. Jahrhunderts beschrieben PAUL und KRÖNIG (1897) einen Keimträgerversuch und GEPPERT (1889) eine Suspensionsmethode. 1903 wurde von RIDEAL und WALKER der Phenolkoeffizient zur ‚Wertbestimmung‘ phenolischer Präparate erarbeitet.

Anfangs wurden zum Nachweis der Wirksamkeit bestimmter Desinfektionsmitteltypen unterschiedliche Methoden festgelegt. So existierten beispielsweise Tests zur Prüfung von Phenolen und abweichende für quartäre Ammoniumverbindungen (BORNEFF et al. 1975). Auch in den einzelnen Staaten wurde und wird aufgrund unterschiedlicher Testmethoden die Wirksamkeit der Präparate verschieden beurteilt (WERNER et al. 1975). Eine baldige Vereinheitlichung der Prüfmethoden auf nationaler und internationaler Ebene wurde von Beginn an von vielen Seiten angemahnt (PAUL 1901; OSTERTAG 1971; BORNEFF et al. 1975; WERNER et al. 1975; GUNDERMANN 1981; REYBROUCK 1986; AYLIFFE 1989).

Schon in den ersten Ansätzen von Prüfmethoden wurden zwei Richtungen eingeschlagen, die sich prinzipiell unterschieden. Neben Verfahren, die zumindest teilweise die Gegebenheiten in der Praxis berücksichtigten, entwickelte man solche, die zwar eine exakte Keimzahlbestimmung ermöglichten, aber keinerlei Bezug zur Realität in der Praxis hatten (WALLBAUM 1972; BORNEFF et al. 1975).

Wirksamkeitsprüfungen von Desinfektionsmitteln müssen eine große Zahl von beeinflussenden Faktoren berücksichtigen und diese möglichst konstant halten. Allgemein nehmen Standardisierbarkeit und Vergleichbarkeit der Ergebnisse ab, je praxisgerechter eine Prüfungsmethode gestaltet wird (MROZEK 1976; DRÄGER 1981). Als das größte Problem bei Prüfungen bezeichnen schon VAN DE VOORDE und REYBROUCK (1973) die Wiederholbarkeit (Streuung innerhalb eines Labors) und Reproduzierbarkeit (Streuung zwischen Labors) der Ergebnisse.

International hat sich bei der Desinfektionsmittelprüfung das Vorgehen in Stufen durchgesetzt (KLEINER und TRENNER 1990), was nach REYBROUCK (1975; 1986) den Vorteil hat, bereits nach der ersten Stufe ein unwirksames Präparat eliminieren zu können. Übereinstimmend sprechen sich WERNER et al. (1975; 1977), BECK et al. (1977), REBER (1977), BORNEFF et al. (1981), DEVLEESCHOUWER und DONY (1981), ANDENMATTEN und REBER (1984), KLEINER et al. (1986) und auch VAN KLINGEREN (1998) für eine Dreistufentestung aus: Vorprüfung (Laborprüfung), Test unter praxisnahen Bedingungen (am Modell; Laborprüfung) und bei der praktischen Anwendung (Feldversuche).

Flächendesinfektionsmittel werden nach den Richtlinien der DGHM auf zwei Stufen geprüft. Die ‚Vorprüfung‘ besteht aus Suspensions- und Keimträgertests in vitro, als zweite Stufe wird

der ‚Hauptversuch‘ an reduzierten Flächenmodellen durchgeführt. Viele der übrigen Prüfverfahren basieren lediglich auf in-vitro-Tests.

Auch die Prüfverfahren in der DVG-Richtlinie für die Prüfung an Bakterien und Pilzen beschränken sich auf ‚praxisnahe‘ Labormethoden, unterscheiden sich aber von den geltenden Richtlinien der Humanmedizin unter anderem in Bezug auf die verwendeten Testorganismen und Keimträger.

Nach BÖHM (2002) ist sie bis heute die am weitesten verbreitete Prüfung von Desinfektionsmitteln in Laboratorien. Für Praxisversuche gibt es bisher in Deutschland keine kodifizierten Richtlinien oder Normen. Ausnahme sind in der Forschung angewandte Methoden und die Vorschriften für die Prüfung von Händedesinfektionsmitteln der DGHM.

2.2.1.2 Anwendungstechnische Prüfung

In der Literatur sind die unterschiedlichsten Verfahren zur Prüfung beschrieben. Die einzige kodifizierte Prüfrichtlinie ist die der DLG, mit dem in **Tabelle 4** gezeigten Prüfungsumfang.

Tabelle 4: Aufbau der anwendungstechnischen Prüfung

Korrosionstest	1. verzinkter Stahl 2. Reinaluminium 3. Eternit	4. Polystrol 5. Weich-PVC 6. Polyethylen
Grenzflächenaktivität	1. Oberflächenspannung 2. Filmbeständigkeit/Abtrocknungszeit	
Verträglichkeitstest	1. Verwendbarkeit in unbelegten Stallungen 2. Verwendbarkeit in belegten Stallungen (Einhaltung der MAK-Werte)	
Anwendungstest	1. Schaumverhalten bei Benutzung eines Hochdruckreinigers 2. Schaumverhalten bei Benutzung eines Dampfstrahlgerätes 3. Schaumverhalten in Verneblungsgeräten 4. Prüfung in Verdampfungsgeräten	

2.2.1.3 Ökotoxikologische Prüfung

Zur Beurteilung etwaiger Umweltgefährdungen durch Herstellung, Transport und Anwendung von Desinfektionsmitteln sind nach BÖHM (2002) zunächst die gesetzlichen Bestimmungen zu beachten, insbesondere die des **Chemikaliengesetzes** und der **Gefahrstoffverordnung** sowie in Zukunft die der in nationales Recht umzusetzenden **Biozidrichtlinie der EU**.

Parameter in diesem Zusammenhang sind:

- Akute Toxizität (Säugetiere)
- Chronische Toxizität (Säugetiere)
- Wassergefährdungsklasse
- Giftklasse

Je nach Anwendungsbereich kann der Eintrag in die Umwelt über das Abwasser oder über die Gülle beziehungsweise Jauche erfolgen. Dementsprechend müssen auch unterschiedliche ökotoxikologische Prüfverfahren zur Anwendung kommen.

2.2.2 Desinfektionsmittelprüfung in Europa

Schon BORNEFF et al. forderten 1975, dass nach der Aufstellung von ‚Anforderungskatalogen‘ und Empfehlungen an Desinfektionsverfahren die Vereinheitlichung der Prüfmethode auf internationaler Basis angestrebt werden sollte.

Solche Anforderungen und Empfehlungen verfassten unter anderen HARMSEN et al. (1955), HEICKEN (1966), REBER (1970), SPICHER (1970), KORNFELD (1971), OSTERTAG (1971), WILLINGER und THIEMANN (1972) und im Auftrag der Schweizerischen Mikrobiologischen Gesellschaft REBER et al. (1972).

BECK et al. fügten 1977 ‚Empfehlungen für die Prüfung und Bewertung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsverfahren‘ hinzu, in denen nach experimentellen Untersuchungen verschiedene Fragen im Zusammenhang mit der Standardisierung neuer Methoden bearbeitet wurden. Die Autoren verfolgten das Ziel, dadurch eine Basis für eine internationale Diskussion zur Vereinheitlichung der Prüfmethode zu schaffen. Dies würde ihrer Meinung nach nicht ausschließen, dass in einzelnen Ländern unterschiedliche Bewertungskriterien, jedoch basierend auf identischer Prüfmethode, gelten.

AYLIFFE unterstrich 1989 in einem Leitartikel zu diesem Thema, dass die internationale Standardisierung einer geringen, selektiven Auswahl von reproduzierbaren Desinfektionsmittelprüfungen ein lohnendes Ziel wäre. Im Bereich der Desinfektionsmittelprüfung wurden in der Humanmedizin bis zu diesem Zeitpunkt beispielsweise folgende Tests durchgeführt: die ‚Use-Dilution Method‘ der A.O.A.C. (Association of Official Analytic Chemists) in den USA, der Kelsey-Sykes-Test im Vereinigten Königreich, die Tests der DGHM in der Bundesrepublik Deutschland und der Schweiz, der AFNOR-Test (Association Francaise de Normalisation) in Frankreich und der ‚5-5-5 Test‘ in den Niederlanden. REYBROUCK (1986) zählte in der Literatur von 1973 bis 1984 gar 23 verschiedene Methoden zur Wertbestimmung von Präparaten zur chirurgischen Händedesinfektion.

Die fehlende einheitliche Situation der Desinfektionsmittelprüfung in Europa führte zum Zusammenschluss eines Comité Européen de Normalisation (CEN), eines Europäischen Komitees für Normung. Die Aufgabe besteht darin, die Vereinheitlichung der Bewertungskriterien für Desinfektionsmittel innerhalb Europas zu realisieren. Mitglieder der CEN sind die Normungsinstitute Belgiens, Dänemarks, Deutschlands, Finnlands, Frankreichs, Griechenlands, Irlands, Islands, Italiens, Luxemburgs, der Niederlande, Norwegens, Österreichs, Portugals, Schwedens, der Schweiz, Spaniens, der Tschechischen Republik und des Vereinigten Königreichs.

Innerhalb der CEN bearbeiten so genannte Technical Committees (TC) einen bestimmten Themenbereich. Für die ‚Chemischen Desinfektionsmittel und Antiseptika‘ ist das 1990 gegründete TC 216 zuständig, das sich wiederum in verschiedene Working Groups (WG)

unterteilt. In diesen Working Groups bestehen teilweise Ad-hoc-Gruppen, die sich mit aktuellen Bedürfnissen befassen (REYBROUCK 1998; MINER 1999; BREMER 2003).

Das bereits beschriebene allgemein akzeptierte Prinzip der Desinfektionsmittelprüfung in Stufen wurde auch vom Europäischen Komitee für Normung übernommen (VAN KLINGEREN et al. 1998). Die Prüfung in Europa besteht aus drei Phasen (PAYNE et al. 1999; LUPPENS et al. 2002), welche in **Tabelle 5** genauer aufgezeigt werden.

Tabelle 5: Die drei Phasen der Desinfektionsmittelprüfung in Europa (ERNST 2003)

Phase 1		Suspensionsversuch für die Basiswirkung des Produktes
Phase 2	Stufe 1	Suspensionsversuch unter Bedingungen, die für die praktische Anwendung repräsentativ sind
	Stufe 2	Weitere Laborversuche, wie z. B. Oberflächenprüfungen, bei denen praktische Bedingungen simuliert werden
Phase 3		Feldversuche unter Praxisbedingungen

BÖHM (2002) stellt in Aussicht, dass in naher Zukunft in den meisten europäischen Ländern und somit auch in Deutschland miteinander verknüpfte Normen für die Prüfung von Desinfektionsmitteln und Antiseptika gültig sein werden. Diese sind in **Tabelle 6** dargestellt.

Tabelle 6: Voraussichtlicher Ablauf der Desinfektionsmittelprüfung für Bakterien und Pilze in Europa

Phase	Stufe	Versuch	EN
I		<ul style="list-style-type: none"> Basistest: quantitativer Suspensionsversuch Bakterizidie Basistest: quantitativer Suspensionsversuch Fungizidie Basistest: quantitativer Suspensionsversuch Sporozidie 	1040 1275
II	1	<ul style="list-style-type: none"> quantitativer Suspensionsversuch Bakterizidie quantitativer Suspensionsversuch Fungizidie 	1656, 1276 1657, 1650, 13624
		<ul style="list-style-type: none"> quantitativer Suspensionsversuch Mykobakterizidie quantitativer Suspensionsversuch Sporozidie quantitativer Suspensionsversuch Viruzidie 	13610
	2	<ul style="list-style-type: none"> Keimträgertest Bakterizidie Keimträgertest Fungizidie Keimträgertest Mykobakterizidie Keimträgertest Sporozidie Keimträgertest Viruzidie Modellversuch Händedesinfektion 	
III		<ul style="list-style-type: none"> Feldversuche für verschiedene Anwendungsbereiche 	

2.2.3 Prüfmateriale und -methoden: Entwicklung und Probleme

Die in diesem Kapitel angesprochenen Entwicklungen und Probleme beschränken sich teilweise auf die Prüfung von Desinfektionsmitteln an Bakterien und Pilzen im Bereich der Tierhaltung.

Soweit es die Bakterien und Pilze betrifft, konnte der Desinfektionsmittelausschuss der DVG bei der Erarbeitung von eigenen Prüfungsgrundlagen auf die Richtlinien der DGHM zurückgreifen, diese mussten jedoch den spezifischen Erfordernissen der Veterinärmedizin angepasst werden (BISPING und KIRPAL 1973).

Dies erklärt allerdings den ähnlichen Versuchsaufbau der Richtlinien und die sich auch in diesem Bereich häufig überlappende und fächerübergreifende Literatur.

Zusammenfassend stehen nach KLEINER und TRENNER (1990) folgende Einflußgrößen bei der Realisierung einheitlicher Prüfbedingungen im Vordergrund:

- Art, physiologischer Zustand und Vorkultur der Testkeime,
- Keimdichte in der Keimsuspension und Kontamination der Keimträger,
- Art, Beschaffenheit und Größe der Keimträger,
- Simulierung der organischen Belastung (Schmutz) zur Erfassung des Eiweißfehlers,
- Simulierung von Umgebungstemperaturen zur Erfassung des Temperaturfehlers,
- Ausschaltung der Desinfektionsmittelnachwirkung.

Die Simulierung und praxisnahe Gestaltung dieser Bedingungen stellt hohe Anforderungen an die Standardisierung der Prüfbedingungen. Voraussetzung einer Vereinheitlichung und Standardisierung von Prüfmethoden sind jederzeit reproduzierbare Versuchsanordnungen (OSTERTAG 1971). Dies erweist sich allerdings als problematisch, da schon die Durchführung der gleichen Methodik durch zwei Personen unter sonst gleichen Bedingungen teilweise erheblich voneinander abweichende Ergebnisse liefert (WALLBAUM 1972).

2.2.3.1 Kultur- und Basalmedien

Da in der Praxis mit hartem Wasser zu rechnen ist, wurde für die Tests steriles **Wasser standardisierter Härte** (WSH) gefordert (BECK et al. 1977). In der derzeit gültigen Richtlinie ist die Durchführung der Versuche mit WSH vorgeschrieben (ANON. 2000).

BECK et al. (1977) betonen aufgrund einschlägiger Erfahrungen, dass **Trockennährmedien** verschiedener Hersteller auch bei gleicher Rezeptur oft unterschiedliche Kulturergebnisse erbringen. Es wurden sogar Differenzen im Wachstum zwischen zwei Chargen eines Herstellers beobachtet. Die Autoren empfehlen daher, entsprechende Nährmedien von Herstellern zu beziehen, die regelmäßige Chargenkontrollen durchführen.

2.2.3.2 Testorganismen

Ein wichtiger Punkt für die Desinfektionsmittelprüfung ist die Auswahl der Testorganismen (BÖHM 2002). Diese ist vor allem nach praktischen Gegebenheiten auszurichten (BORNEFF et al. 1975), wobei die Testkeime außerdem eine möglichst hohe Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln besitzen sollten (WALLBAUM 1972). Die in der DVG-Richtlinie für die Prüfung an Bakterien und Pilzen vorgegebenen Testkeime unterscheiden sich von den in der Humanmedizin verwendeten Testorganismen. So muss das Spektrum Mikroorganismen aus dem Bereich der Lebensmittelhygiene umfassen (BREMER 2003). Angesichts der praktischen Durchführbarkeit der Prüfung muss man jedoch wiederum bemüht sein, die Liste der Testkeime möglichst klein zu halten (BISPING und KIRPAL 1973). Dieselben Autoren kamen nach Untersuchungen zu dem Schluss, dass die heute nach DVG-Richtlinie geprüften Testkeime (**Kapitel 3.1.4**) im Allgemeinen ausreichen, um zu einer verlässlichen Aussage über die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels zu kommen. Angewendet werden gelistete, von Stammsammlungen bezogene Keime, um eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten (HAUT und HERTER 1989). Eine Auswahl der Prüforganismen, die für die Veterinärmedizin und den Lebensmittelbereich in Prüfrichtlinien und Normen genannt werden, ist in **Tabelle 7** zusammengefasst.

Tabelle 7: Prüforganismen für die Veterinärmedizin und den Lebensmittelbereich

Prüforganismus	Stamm	Anwendungsbereich	Prüfrichtlinie
<i>Enterococcus hirae</i>	DSM 20160	Tierhaltung (TH), Lebensmittel (LM), Humanmedizin	EN 1040, EN 1656, EN 1276
<i>Enterococcus faecium</i>	DSM 2918	Tierhaltung und Lebensmittel	DVG (TH+LM)
<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM 799	Tierhaltung, Lebensmittel, Humanmedizin	EN 1656, EN 1276, Wi 216016, DVG, DGHM
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 939	Tierhaltung, Lebensmittel, Humanmedizin	EN 1040, EN 1656, EN 1276, DVG, DGHM
<i>Escherichia coli</i>	DSM 682	Lebensmittel, Humanmedizin	EN 1276, Wi 216016
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311	Lebensmittel	EN 1276
<i>Enterobacter cloacae</i>	DSM 6234	Lebensmittel	EN 1276
<i>Proteus mirabilis</i>	DSM 788	Tierhaltung, Lebensmittel	DVG, DGHM
<i>Proteus vulgaris</i>	DSM 30118	Tierhaltung	EN 1656
<i>Lactobacillus brevis</i>	DSM 6325	Lebensmittel	EN 1276
<i>Mycobacterium avium</i>	Av 56	Tierhaltung	DVG (TH)
<i>Bacillus subtilis</i> (Sporen)	DSM 347	Alle Bereiche	pr EN 216003
<i>Bacillus cereus</i> (Sporen)	ATCC 12836	Alle Bereiche	pr EN 216003
<i>Candida albicans</i>	DSM 1386	Tierhaltung, Lebensmittel, Humanmedizin	EN 1275, EN 1657, EN 1650, EN 13624, DVG, DGHM
<i>Aspergillus niger</i>	DSM 1387	Tierhaltung, Lebensmittel, Humanmedizin	EN 1275, EN 1657, EN 1650, EN 13624
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	DSM 1333	Lebensmittel	EN 1650

Auch der verwendeten Keimsuspension kommt eine besondere Bedeutung zu. REYBROUCK stellte schon 1977 fest, dass einer der wichtigsten Punkte in der Ausarbeitung einer Methodik zur Prüfung der keimtötenden Wirkung von Desinfektionsmitteln die Herstellung der Keimsuspension ist. Bei der in-vitro-Testung von Desinfektionsmitteln hat die Art der Vorkultur der Testkeime in Bezug auf Bebrütungsdauer, -temperatur und Kulturmedium einen entscheidenden Einfluss auf die Empfindlichkeit gegenüber Antimikrobika (FÜLLHAAS et al. 1981).

Um ein hohes und gleich bleibendes Resistenzniveau der eingesetzten Testkeime zu gewährleisten, kann ein- und dieselbe Keimpopulation nicht länger als acht Wochen für Prüfaufgaben verwendet werden. Während dieser Zeit sind wöchentliche Passagen auf Blutagar vorzunehmen. Nach acht Wochen sollten frisch aufgelöste Lyophilisate verwendet werden (KLEINER und TRENNER 1988a).

Nach BECK et al. (1977) werden die Stammkulturen bei $4 \pm 1^\circ\text{C}$ auf CSA-Schrägagar in Röhrcchen aufbewahrt und einmal monatlich überimpft. Die Gebrauchskulturen werden nach mindestens drei und höchstens 30 täglichen Subkulturen (37°C) auf CSA beziehungsweise in CSL hergestellt.

Die DVG-Richtlinie macht keine Angaben zur Aufbewahrung der Stammkulturen, schreibt aber ein Vorzüchten der Teststämme in mindestens zwei Passagen in CSL beziehungsweise CSL+D (bei Pilzen) für 18 - 24 Stunden bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$ vor (ANON. 2000).

Für die Prüfung mit Hefen und Fadenpilzen als Testorganismen können sich Schwierigkeiten vor allem aus dem Polymorphismus dieser Mikroorganismen ergeben. Diese zeigen als eukaryotische Mikroorganismen eine größere biologische Komplexität und damit Variabilität als die zu den Prokaryoten zählenden getesteten Bakterienarten (TEUBER 1978).

2.2.3.3 Eiweiß- und Seifenfehler

Verschmutzungen in Tierställen wie Blut, Kot, Futterreste und sonstiger Stallschmutz stellen für die Keime Hüllsubstanzen dar, die zur Erhöhung ihrer Tenazität und zu Wirkungseinbußen bei den Desinfektionsmitteln führen (KLEINER und TRENNER 1988a). Deshalb werden diese Schmutzbelastungen besonders für Desinfektionsmittel mit einem hohen **Eiweißfehler** zum Risikofaktor für die Desinfektion (KLEINER 1984).

Die organische Belastung als ‚Modellschmutz‘ zu simulieren, erhöht wesentlich die praktische Aussagefähigkeit einer Desinfektionsmittelprüfung und kommt der Forderung nach, dass Wirksamkeitsprüfung eines Mittels und dessen Anwendung in der Praxis in fester Relation zueinander stehen müssen (SPICHER und PETERS 1980).

Die DVG-Richtlinie schreibt bei der Prüfung auf Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels im Suspensionstest im Bereich ‚Tierhaltung‘ eine 20%ige Eiweißbelastung durch Zugabe von inaktiviertem Rinderserum vor.

Eine andere Angabe in der Literatur empfiehlt den Einsatz von 10%igem inaktiviertem Pferdeserum zur Erfassung des Eiweißfehlers (AUTORENKOLLEKTIV 1987).

Während die einen 1%ige Neutralseife zur Erfassung des **Seifenfehlers** empfehlen (AUTORENKOLLEKTIV 1987), erklären andere den Verzicht auf die Ermittlung eines Seifenfehlers in den in-vitro-Tests damit, dass es unmöglich ist, mit einzelnen Zusätzen von Reinigungsmitteln alle Möglichkeiten der Wirkungsminderung, wie sie in der Praxis vorkommen können, abzudecken (BECK et al. 1977). Ihrer Meinung nach ist dem Verbraucher von den Herstellern anzugeben, welche Reinigungsmittel mit den jeweiligen Präparaten ohne Wirkungseinbuße kombinierbar sind. BODE (1981) fügt hinzu, dass die Prüfung der Seifenbelastung nur dann sinnvoll wäre, wenn man nach Zugabe eines in der Praxis üblichen Reiniger- oder Seifenzusatz eine gewisse Zeit (z.B. eine Stunde) verstreichen lassen würde, um den Verlust an Wirksamkeit durch chemische Interaktion festzustellen. Er betont, dass der Verzicht auf die Prüfung unter Seifenbelastung keine Erleichterung der Prüfbedingungen darstellt, sondern dass er bei Beachtung der Forderungen der DGHM und des Bundesgesundheitsamtes zu einer größeren Sicherheit bei der Anwendung führt. Danach weisen diese darauf hin, dass von Kombinationen zwischen Desinfektionsmitteln und Reinigungsmittel Abstand genommen werden sollte. Der Forderung auf getrennte Reinigung schließt sich die DVG-Richtlinie an (ANON. 2000).

2.2.3.4 Temperaturfehler

In Tierställen, Kühlräumen sowie bei Desinfektionen außerhalb von Gebäuden ist mit unterschiedlichen Temperaturen der zu desinfizierenden Flächen zu rechnen. Die durch Spritz- und Sprühgeräte ausgebrachten Desinfektionsmittellösungen nehmen die Temperaturen der Flächen an, auf die sie ausgebracht werden. Daher ist der Einfluss von Temperaturen auf die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln von Bedeutung (STELLMACHER et al. 1973a). Zwar ist eine Raumtemperatur von 20°C für die Stalldesinfektion als optimal anzusehen, allerdings liegen die Stalltemperaturen in Mitteleuropa meist etwas niedriger als bei der labormäßigen Prüfung (SCHLIESSER 1974; THIEL 1977). Dies bestätigen BRILL und HÖFFLER (1996), die angeben, dass im Winterhalbjahr in Geflügel- und Schweineställen die Temperaturen der Flächen während der Desinfektionsmaßnahme häufig nur zwischen 0°C und 10°C erreichen und eine Aufheizung der Ställe auf 15°C bis 20°C meist nicht erfolgt. Für den Bereich ‚Tierstall‘ werden von Experten des CEN Prüftemperaturen zwischen 2°C und 15°C gefordert.

Nach DVG (2000) werden die Versuche im Bereich der Tierhaltung bei Zimmertemperatur, welche hier mit 20°C ± 2°C angegeben ist, durchgeführt. Im Lebensmittelbereich war es nach Meinung der Verfasser aus anwendungstechnischen Bedingungen geboten, auch bei Temperaturen unter 20°C zu prüfen. So werden Desinfektionsmittel, die im Kühlbereich angewendet werden sollen, bei 10°C ± 0,5°C geprüft. Falls andere Temperaturen ebenfalls

getestet werden, beschränken sich diese Versuche auf den bei 20°C jeweils *resistenteren grampositiven und gramnegativen Testkeim* sowie *Candida albicans*.

2.2.3.5 Inaktivierungsmittel

Schon HAILER wies 1922 darauf hin, dass die entwicklungshemmende Wirkung auf Mikroorganismen einer viel größeren Zahl organischer Stoffe zukommt als dies beim Keimtötungsvermögen der Fall ist.

Die erste, 1958 von KLIWE et al. publizierte Richtlinie der DGHM gab bereits ausführliche Rezepte für die Ausschaltung der Entwicklungshemmung in der Subkultur an.

Durch den Zusatz von Inaktivierungssubstanzen (Enthemmern) in den Subkulturen sollen die mit dem überimpften Material übertragenen Desinfektionsmittelreste derart neutralisiert werden, dass sie das Wachstum vermehrungsfähiger Keime nicht mehr verhindern (BODE 1981; LAMBERT et al. 1998).

Enthemmer können nicht aufgrund von Listen ohne vorherige Überprüfung eingesetzt werden, da Präparate aus verschiedenen Wirkstoffen kombiniert und diese nur ungenau deklariert werden (BORNEFF et al. 1975). Die Auswahl eines geeigneten Enthemmers ist jedoch eine unerlässliche Voraussetzung für die weiteren Prüfungen.

REYBROUCK untersuchte 1979 mehr als 24 Inaktivierungsmittel auf ihre Wirksamkeit gegenüber 14 Desinfektionsmittelstoffen mit dem Ziel, eine detaillierte Liste von Inaktivierungsmitteln mit quantitativen Daten über deren inaktivierende Fähigkeiten gegenüber gegebenen Desinfektionswirkstoffen zu liefern. Diese und weitere schon früher von WERNER und ENGELHARDT (1978) und REYBROUCK (1978) durchgeführte Untersuchungen zeigen, dass man der sorgfältigen Ermittlung optimaler Inaktivierungsmittel-Kombinationen eine wesentlich größere Bedeutung beimisst. Dies ist nach Meinung von BODE (1981) berechtigt, da ein ungenügend ausgewähltes Inaktivierungsmittel die Ergebnisse der weiteren ansonsten exakten Untersuchungen derart verfälscht, dass sie zu nicht verwertbaren Resultaten und damit falschen Konsequenzen führen.

In der heute geltenden DVG-Richtlinie sind für einzelne Wirkstoffe geeignete Inaktivierungsmittel und Kombinationen aufgeführt. Zudem ist für die Prüfung von Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung das Einbeziehen einer polyvalenten Inaktivierungskombination Pflicht. Für bisher nicht übliche Wirksubstanzen sind entsprechende Mittel nach dem neuesten Kenntnisstand zu verwenden.

2.2.3.6 Keimträger

Seit der Erkenntnis, dass Suspensionstests die Wirkung von Desinfektionsmitteln unter praktischen Umständen nur schlecht voraussagen, wurde eine Vielzahl von Prozeduren erfunden, die diese Voraussetzungen nachahmen (VAN KLINGEREN et al. 1998). Erschwerte Bedingungen im Vergleich zur Flächendesinfektion in der Humanmedizin stellen

unter anderem die Anordnung und die Gestaltung der Oberflächen dar (KIRPAL 1973; BODE 1981; KLEINER und TRENNER 1988b). Im veterinärmedizinischen Bereich müssen Desinfektionen an sehr verschiedenartigen Materialien wie zum Beispiel Holz, Beton, verzinktem Eisenblech, Stahl, Kunststoff und anderen Baustoffen durchgeführt werden. Da die Desinfektionsmittelprüfungen nicht an allen in Frage kommenden Materialien durchgeführt werden können, muss eine bewusste Auswahl von möglichst praxisnahen Keimträgern getroffen und gleichzeitig angestrebt werden, dass die an diesen erzielten Ergebnisse auf andere Materialien übertragbar sind (BISPING und KIRPAL 1974). In Untersuchungen derselben Autoren haben sich Holz und Aluminium als gut geeignet und Keramikeimträger als weniger gut geeignet erwiesen. Nach Meinung von BORNEFF et al. (1975) haben Keimträgerversuche, bei denen an verschiedenen Materialien angetrocknete Mikroorganismen in der Desinfektionsmittellösung exponiert werden, nur eine begrenzte Aussagekraft für die Eignung eines bestimmten Desinfektionsverfahrens und könnten zu ungerechtfertigten Aussagen verleiten. So könnte man beispielsweise nicht einen Keimträger in die Suspension einlegen und aus dem Resultat auf die Wirksamkeit an der Fläche schließen, da in der Praxis zu viele andere Faktoren (Ausbreitungsfähigkeit, Verdampfung, Luftfeuchte) das Ergebnis beeinflussen, die dabei unberücksichtigt bleiben.

2.2.3.7 Testprinzipien

Aus veterinärmedizinischer Sicht ist die Flächendesinfektion in der Tierhaltung und Lebensmittelhygiene das Haupteinsatzgebiet. Die Auswahl der bakteriologischen Prüfmethodik muss dem späteren Anwendungszweck des Mittels entsprechen und möglichst praxisnah gestaltet werden (DONY und DEVLEESCHOUWER 1978; PHAN THUY MY 1980).

Folgende Testprinzipien werden bei Desinfektionsmittelprüfungen auf diesem Gebiet berücksichtigt (KLEINER und TRENNER 1990):

Reihenverdünnungstest und Auswahl der Inaktivierungsmittel

Prüfung der bakterio- beziehungsweise fungistatischen Wirkung eines Desinfektionsmittels durch Vermischen adäquater Teile einer Desinfektionsmittellösung mit dem Bouillon-Keimgemisch. Nach BODE (1981) darf aus den Resultaten dieser Prüfung keine Schlussfolgerung für die Anwendungspraxis gezogen werden. Danach liegt die eigentliche Bedeutung im Vergleich der ‚statischen‘ Wirkung mit den Ergebnissen der Prüfung auf Bakterizidie (Fungizidie), und zusätzlich dienen die Resultate als Kontrollwert für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen.

Parallel wird zur Auswahl geeigneter Inaktivierungsmittel der Versuchsansatz wie beim Verdünnungstest unter Verwendung des fraglichen Inaktivierungsmittels durchgeführt. Durch Vergleich der mit und ohne Inaktivierungsmittel erreichten Hemmkonzentration ergibt sich das für die Desinfektionsmittelprüfung zu verwendende Inaktivierungsmittel.

Suspensionstest

Festgelegte Volumina bekannter Desinfektionsmittelverdünnungen werden mit definierten Volumina von Bakteriensuspensionen vermischt, und nach definierten Einwirkzeiten wird die Effektivität der Desinfektion bestimmt (FRAISE 1999). Dazu werden im **qualitativen Verfahren** die Proben in Flüssigmedien subkultiviert und im **quantitativen Verfahren** die Anzahl koloniebildender Einheiten des Desinfektionsmittelkeimgemisches bestimmt.

Mit dem Suspensionstest lässt sich nach MROZEK (1979) die beste Standardisierung erreichen. Er bietet demnach gute Bedingungen für die Desinfektionswirkung und gute Vergleichbarkeit der Testergebnisse, da die Keime weitgehend homogen und in ideal gleichmäßigen und allseitigen Kontakt mit der jeweiligen Noxe gebracht werden (MROZEK 1976; MROZEK 1979; REYBROUCK 1998). Er liefert bei variierenden Einwirkzeiten hauptsächlich Informationen über die Dynamik der Wirksamkeit eines Präparates, ohne Aussagen zum Desinfektionsverfahren zu gestatten (WERNER und REYBROUCK 1976; REYBROUCK und WERNER 1977). Nach Aussage von BORNEFF et al. (1975), GUNDERMANN (1981), SCHLIESSER (1985) und HÖLLER und GUNDERMANN (1986) kann über die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels auf der Fläche erst aufgrund kombinierter qualitativer und quantitativer Wirksamkeitsprüfungen befunden werden.

Keimträgertest

Für den Keimträgertest wird Trägermaterial mit Testkeimen kontaminiert und je nach Testausführung unterschiedlich lange in Desinfektionsmittellösung getaucht und anschließend untersucht (submerse Form). Oder Keimträger werden oberflächlich kurzzeitig mit Desinfektionsmittellösung benetzt und nach definierter Antrocknung auf Restkeime untersucht (Oberflächenform).

Die Aussage des Keimträgertests ist praxisnäher als die des Suspensionstestes (WERNER und REYBROUCK 1976). Den Mangel dieses Tests stellt die Standardisierbarkeit aufgrund des nicht konstanten Überlebens der Testkeime auf den schwer zu standardisierenden Keimträgern dar (REYBROUCK 1998). Zu berücksichtigen ist bei Prüfung im Keimträgertest die für eine Flächendesinfektion gezwungenermaßen längere Einwirkzeit von Desinfektionsmittelwirkstoffen, wobei wirkstoffspezifische Unterschiede bestehen (KLEINER und TRENNER 1990).

In **Tabelle 8** sind zusammengefasst die Tests genannt, die in der Veterinärmedizin derzeit für die Prüfung an Bakterien und Pilzen nach DVG-Richtlinie durchgeführt werden:

Tabelle 8: Vorgeschriebene Tests nach DVG-Richtlinie an Bakterien (außer Mykobakterien) und Pilzen

Bereich Tierhaltung und Bereich Lebensmittel					
Test	Test-organismen	Keim-träger	Temperatur	Eiweiß-belastung	Zeit in min
Reihenverdünnungstest und Auswahl der Inaktivierungsmittel	<i>Staph. aureus</i> <i>Ent. faecium</i> <i>Prot. mirabilis</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>C. albicans</i>	-	20°C ± 2°C	-	-
Bereich Tierhaltung					
Qualitativer Suspensionstest	<i>Staph. aureus</i> <i>Ent. faecium</i> <i>Prot. mirabilis</i> <i>Ps. aeruginosa</i>	-	20°C ± 2°C	20 % steriles, inaktiviertes Rinderserum	5 15 30 60
Keimträgertest	<i>C. albicans</i>	Lindenholz			15 30 60
Bereich Lebensmittel					
Qualitativer Suspensionstest	<i>Staph. aureus</i> <i>Ent. faecium</i> <i>Prot. mirabilis</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>C. albicans</i>	-	20°C ± 2°C	10 % steriles, inaktiviertes Rinderserum	5 15 30 60
Quantitativer Suspensionstest	jeweils der im qualitativen Suspensionstest <i>resistentere grampositive</i> und <i>-negative Testkeim</i> <i>C. albicans</i>	-	10°C ± 0,5°C (40°C)	oder 1 % Magermilch	5 30

3 Material und Methoden

3.1 Material

In der vorliegenden Arbeit kamen zum größten Teil Materialien zur Anwendung, die den Bestimmungen der ‚Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel‘ (3.Auflage 2000) entsprechen.

Die genauen Zusammensetzungen und Herstellungsverfahren sind im Anhang im Kapitel ‚Chemikalien und Reagenzien‘ beschrieben.

3.1.1 WSH (Wasser standardisierter Härte)

Nach dem Einwiegen der Reagenzien in Aqua dest. wurde autoklaviert und anschließend der pH-Wert in einem Bereich von $7,2 \pm 0,2$ eingestellt. Hierzu wurde KOH für die Korrektur bei zu niedrigem pH-Wert und HCl zur Korrektur bei pH-Werten im basischen Bereich benutzt. Mit sterilem WSH wurden die erforderlichen Desinfektionsmittelverdünnungen unmittelbar vor dem Versuch hergestellt.

3.1.2 Nährmedien

Sowohl das Flüssignährmedium Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung (CSL) als auch der als Festnährboden dienende Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar (CSA) wurden aus Trockennährmedien hergestellt, welche im Handel als Fertigmischung erhältlich sind. Hierbei handelt es sich um hemmstoff- und indikatorfreie Nährmedien, die aufgrund ihrer Nährgrundlage auch zur Züchtung anspruchsvoller Mikroorganismen geeignet sind. Nach Merkblatt der Herstellungsfirma Merck entsprechen sie den Empfehlungen der United States Pharmacopeia XXIII (1995), der European Pharmacopeia II (1980) und dem Deutschen Arzneibuch.

3.1.2.1 Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar

Auf diesem Nähragar wurde die Keimzahl im Oberflächenverfahren bestimmt. Auch wurden die Testorganismen teilweise auf diesem Agar kultiviert.

3.1.2.2 Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung

Das flüssige CSL-Medium dient zum einem der Kultivierung der Teststämme, zum anderen werden die Desinfektionsmittelverdünnungen bei der Bestimmung der bakterio- und fungistatischen Wirkung mit dieser Lösung hergestellt. Bei dieser Teilprüfung dient die CSL in doppelt konzentrierter Form (teilweise mit Zusatz von Enthemmern) auch als Nährmedium. Die Lösung wurde zudem bei der Bestimmung der bakteri- und fungiziden Wirkung mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels als Nährmedium eingesetzt.

3.1.2.3 CSA + Dextrose und CSL + Dextrose

Den festen und flüssigen Nährmedien für die Anzucht von *C. albicans* werden jeweils 2% Dextrose zugesetzt, um den Bedarf dieser Mikroorganismen an Zucker zu decken. Im Falle der Bestimmung der fungistatischen Wirkung enthält die doppelt konzentrierte CSL einen Zusatz von 4% Dextrose.

3.1.2.4 Blut-Agar

Dieser im Handel erhältliche Agar ist ein Nährboden, der für die Kultivierung der verwendeten Testorganismen (außer *C. albicans*) geeignet ist. Verwendet wurde der Blut-Agar der Firma Oxoid GmbH, D-46483 Wesel.

3.1.2.5 Sabouraud-Agar

Zur Kultivierung von *C. albicans* wurde teilweise dieser Spezialnährboden für Pilze (Fa. VWR International GmbH, D-64295 Darmstadt) benutzt.

3.1.3 Inaktivierungsmittel (Enthemmer)

Die Ermittlung geeigneter Inaktivierungsmittel verlief gemäß **Kapitel 3.2.5**. Die hier genutzten Enthemmer werden nachfolgend beschrieben.

Sofern Mittel geprüft werden, die nicht übliche Wirksubstanzen enthalten, werden nach DVG-Richtlinie Inaktivierungsmittel verwendet, die dem neuesten Erkenntnisstand entsprechen.

Für nicht übliche Inaktivierungsmittel oder Kombinationen ist der Nachweis zu führen, dass sie selbst keine hemmende Wirkung auf die Vermehrung der Keime aufweisen. Auf keine dieser Sonderregelungen musste jedoch im Laufe meiner Arbeit zurückgegriffen werden.

3.1.3.1 Polyvalente Inaktivierungskombination nach DVG

Diese Enthemmerkombination wurde bei allen vier geprüften Desinfektionsmitteln zur Ermittlung eines geeigneten Mittels untersucht. Sie wurde während des eigentlichen Prüfungsvorgangs jedoch nur bei **Suma Bac D10[®]** angewendet. Die Zusammensetzung ist im Anhang dargestellt.

3.1.3.2 Polyvalente Inaktivierungskombination + 0,5% Natriumthiosulfat

Anzuwenden ist diese Kombination nach Richtlinie bei chlor- und sauerstoffabspaltenden Mitteln. Sie wurde im vorliegenden Fall nach den vorgeschriebenen Auswahlversuchen bei **Aldekol Des Aktiv[®]** und **Virucidal extra[®]** eingesetzt.

3.1.3.3 Polyvalente Inaktivierungskombination + Natriumhydrogenphosphat

Dieser Enthemmer kam nach Auswahlversuchen bei dem Mittel **Aldekol Des Azid[®]** zum Einsatz.

3.1.4 Testorganismen

Alle Testorganismen wurden in regelmäßigen Abständen über die Deutsche Sammlung von Mikroorganismen in Braunschweig bezogen, bei -80°C eingefroren und im Kryokonservierungssystem Cryobank™ (Fa. Mast Diagnostica, D-23858 Rheinfeld) gelagert.

3.1.4.1 Bakterien

Von der DVG-Richtlinie sind folgende Keime zur Prüfung vorgeschrieben:

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	(DSM 799)
<i>Enterococcus faecium</i>	„Kulmbach Str. 2“	(DSM 2918)
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 14153	(DSM 788)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	(DSM 939)

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden als Alternativkeime zusätzlich getestet:

Enterococcus hirae ATCC 10541 (DSM 3320)

→ in der Diskussion als Ersatz für *Enterococcus faecium*

Proteus hauseri ATCC 13315 (DSM 30118)

→ in der Diskussion als Ersatz für *Proteus mirabilis*

Außerdem wurde als Zusatzkeim getestet:

Salmonella cholerasuis subsp. *cholerasuis* ATCC 43845 (DSM 10062),

(Synonym: *Salmonella enterica* subsp. *enterica*),

Serovar: *Salmonella Senftenberg*

3.1.4.2 Pilze

Von der DVG-Richtlinie ist folgender Testorganismus zur Prüfung vorgeschrieben:

Candida albicans ATCC 10231 (DSM 1386)

3.1.5 Testtemperaturen

Im Bereich Tierhaltung wurden sämtliche Versuche bei Zimmertemperatur ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durchgeführt. Zusätzlich wurden in dieser Arbeit alle Mittel im qualitativen Suspensionstest bei $10^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ geprüft.

3.1.6 Rinderserum

Zur Prüfung der Eiweißbelastung wurde den Desinfektionsmittelverdünnungen 20% Rinderserum zugegeben. Dieses Serum enthält keine Konservierungs- und Hemmstoffe und wurde für 30 Minuten bei 56°C inaktiviert.

3.1.7 Desinfektionsmittel

3.1.7.1 Geprüfte Desinfektionsmittel

In **Tabelle 9** sind die vier Desinfektionsmittel aufgeführt, die im Verlauf dieser Arbeit geprüft wurden. Die benötigten Verdünnungsstufen des zu untersuchenden Desinfektionsmittels wurden mit sterilem WSH unmittelbar vor dem Versuch angesetzt.

Tabelle 9: Geprüfte Desinfektionsmittel

Desinfektionsmittel	Firma	Anteil	Inhaltsstoffe	Wirkstoffgruppen
<i>Aldekol Des Aktiv</i> [®]	Ewabo D-49353 Wietmarschen	241,5 g/l 172,5 g/l 172,5 g/l	- Wasserstoffperoxid - Peressigsäure - Essigsäure	→ Sauerstoffabspalter → Organische Säuren
<i>Suma Bac D10</i> [®]	Johnson Diversey D-68219 Mannheim	5 % - 15 % 5 % - 15 % 1 % - 5 %	- Alkyldimethylbenzyl- ammoniumchlorid - Nichtionisches Tensid - Natriumcarbonat	Netzmittel oder oberflächenaktive Stoffe
<i>Aldekol Des Azid</i> [®]	Ewabo D-49353 Wietmarschen	keine Angaben	- Organische Säuren - Netzmittel	→ Organische Säuren → Netzmittel
<i>Virucidal extra</i> [®]	H.y.p.r.e.d. F-35803 Dinard	23,1 % 15 % 5 %	- Kaliummonopersulfat - Sulfaminsäure - Natriumsalz der Dichlorisocyanursäure	→ Sauerstoffabspalter → Anorganische Säuren → Chlorabspalter

3.1.7.2 Desinfektionsmittel zur Kontrolle

Die in **Tabelle 10** angegebenen Wirkstoffe wurden zur Kontrolle genutzt, da sie zu den ältesten und am häufigsten eingesetzten Desinfektionsmitteln zählen. Aufgrund der Tatsache, dass durch umfangreiche Untersuchungen dieser Wirkstoffe zahlreiche Vergleichswerte vorhanden sind, eignen sich diese Mittel zur Kontrolle der Empfindlichkeit der Teststämme.

Die zu prüfenden Verdünnungsstufen und die in der Richtlinie festgelegten Konzentrationen wurden mit sterilisiertem WSH unmittelbar vor dem Versuch hergestellt.

Tabelle 10: Desinfektionsmittel zur Kontrolle der Empfindlichkeit der Testorganismen

Desinfektionsmittel	Firma	Wirkstoffgruppe
Phenol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-82024 Taufkirchen	Phenol und Phenolderivate
Formalin	Merck KGaA (VWR International GmbH), D-64295 Darmstadt	Aldehyde

3.2 Methoden

3.2.1 Allgemeines

Ein Desinfektionsmittel muss sowohl für die Listung im Tierhaltungsbereich als auch für den Lebensmittelbereich von zwei unabhängigen Gutachtern geprüft werden. Zur Prüfung sind Fachwissenschaftler berechtigt, die Erfahrungen in der Desinfektionsmittelprüfung besitzen und über die notwendigen technischen Einrichtungen verfügen. Alle Versuche zur Prüfung der Wirksamkeit sind in mindestens zwei zeitlich getrennten Ansätzen (an verschiedenen Tagen) durchzuführen. Die in dieser Arbeit durchgeführten Methoden halten sich an die Bestimmungen der ‚Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel‘ (3.Auflage 2000). Eine Ausnahme bilden die modifizierten Alternativmethoden, die im weiteren Verlauf gesondert beschrieben werden.

Alle Arbeiten bei denen die Gefahr einer Kontamination der ausführenden Person, der Umwelt oder des Prüfmaterials bestand, wurden in Mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken Heraeus Laminair® (Fa. Heraeus Instruments, D-63450 Hanau) durchgeführt.

Der Versuchsansatz der Prüfung der fungistatischen beziehungsweise fungiziden Wirkung gleicht bei allen beschriebenen Methoden zur Bestimmung der Wirkung eines Desinfektionsmittels weitgehend der im Folgenden beschriebenen Prüfung mit Bakterien. Auf etwaige Unterschiede wird an entsprechender Stelle durch eckige Klammern hingewiesen.

3.2.2 Herstellung der Keimsuspension

Berücksichtigt wurden in diesem Kapitel die Angaben, die im Bereich Tierhaltung in der DVG-Richtlinie (3.Auflage 2000) gemacht werden.

Mit Ausnahme der Menge der Keimsuspension, die sich nach dem jeweiligen Bedarf richtet, wurde die Herstellung für alle Teilversuche in derselben Art und Weise durchgeführt.

3.2.2.1 Bakterien

Die Testorganismen wurden gemäß Richtlinie in mindestens zwei Passagen in CSL kultiviert. Abschließend erfolgte eine aerobe Inkubation der Kulturen für 18 Stunden bei 37°C.

3.2.2.2 Pilze

Kulturen von *Candida albicans* wurden vier Tage auf CSA+D (oder Sabouraud-Agar) kultiviert und danach mit etwa 5 ml isotonischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Eventuelle Agarreste wurden durch Filtration mit Glaswolle entfernt. Die gewonnene Keimsuspension wurde auf einen Trübungsgrad eingestellt, der dem im Anhang beschriebenen Bariumsulfat-Standard entsprach.

3.2.2.3 Feststellung der Keimzahl

Die benötigte Keimzahl von 1×10^8 bis 1×10^9 KBE/ml wurde im Oberflächenverfahren entsprechend der in der Richtlinie vorgeschriebenen DIN 10161 festgestellt.

3.2.3 Herstellung der Desinfektionsmittelkonzentrationen

Die Desinfektionsmittelverdünnungen wurden mit sterilem WSH unmittelbar vor dem Versuch hergestellt. Die Konzentrationen wurden bei flüssigen Desinfektionsmitteln in Volumen- und bei festen Mitteln in Gewichtsprozent angegeben. Mit den folgenden Konzentrationsstufen wurde die Prüfung abhängig vom Mittel durchgeführt: 0,001 %, 0,002 %, 0,004 %, 0,008 %, 0,016 %, 0,031 %, 0,062 %, 0,125 %, 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 %, usw.

3.2.4 Reihenverdünnungstest

Zur Bestimmung der bakterio- /fungistatischen Wirkung wurden 5 ml des Desinfektionsmittels in abgestuften Verdünnungen mit 5 ml doppelt konzentrierter CSL [CSL+D] in sterilisierten Reagenzgläsern vermischt. Das Nährmedium wurde einmal ohne und andererseits mit verschiedenen Enthemmern eingesetzt. Dieses Gemisch wurde jeweils mit 0,1 ml einer 1:10 verdünnten CSL-Kultur beimpft. Die beimpften Röhren wurden anschließend für 72 Stunden [96 Stunden] bei 37°C aerob bebrütet.

3.2.5 Ermittlung geeigneter Inaktivierungsmittel

Dieser Arbeitsschritt wurde parallel zum Reihenverdünnungstest durchgeführt. Es wurde für jedes Mittel eine Prüfreihe mit Zusatz einzelner Inaktivierungsmittel oder ihrer Kombinationen angesetzt, beimpft und bebrütet.

Der Vergleich der Reihen ergab einen Hinweis auf die Wirkung des Enthemmers. Der wirksamste Enthemmer wurde im weiteren Verlauf der Prüfung den verwendeten Nährmedien zur Verhinderung einer Nachwirkung von Desinfektionsmittelresten zugesetzt.

3.2.6 Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Suspensionstest

Die Wirkung der Desinfektionsmittel wurde mittels eines qualitativen Suspensionstests (so genannte Endpunktmethode) ohne und mit 20 % Eiweißbelastung zu vier vorgeschriebenen Einwirkzeiten geprüft.

Für diese Arbeit wurden die Mittel jedoch nicht nur wie in der Richtlinie vorgeschrieben bei $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, sondern zusätzlich bei $10^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ getestet. Außerdem wurde eine Alternativmethode in Mikrotiterplatten anstatt der vorgeschriebenen Methode in Röhren durchgeführt.

Neben den Versuchen wurden Kontrollen angesetzt, welche im **Kapitel 3.2.8** beschrieben werden.

3.2.6.1 Qualitativer Suspensionstest im Röhrchen

Ohne Eiweißbelastung

Nach dem Pipettieren (Pipetten der Fa. Eppendorf AG, D-22331 Hamburg) von 0,1 ml der Keimsuspension in Röhrchen (Fa. HEILAND VET GmbH & Co. KG, D-22006 Hamburg) wurden 9,9 ml der zu prüfenden Desinfektionsmittelverdünnung zugegeben, gut durchmischt und bei $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ beziehungsweise $10^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ für die Zeit der Untersuchung aufbewahrt. 0,1 ml jedes Ansatzes wurden nach 5, 15, 30 und 60 Minuten und vorherigem Aufschütteln entnommen und in jeweils 10 ml CSL [CSL+D] mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels überimpft.

Im Anschluss wurden die Proben bei 37°C für 72 Stunden [96 Stunden] bebrütet.

Mit Eiweißbelastung

Um die Desinfektionsmittel auf eventuelle Eiweißfehler zu prüfen, wurde den Desinfektionsmittelverdünnungen 20% Rinderserum zugegeben. Hierbei wurde bei der Herstellung die Formel $C=C_{\text{soil}}/0,8$ angewendet, wobei ‚C‘ die Konzentration der Vorverdünnung und ‚ C_{soil} ‘ die gewünschte Endkonzentration des Mittels darstellt. Das bedeutet, dass zu 8 ml der Vorverdünnung unmittelbar vor Versuchsbeginn 2 ml des Rinderserums zugegeben wurden.

Das weitere Vorgehen entsprach der oben beschriebenen Prüfung.

3.2.6.2 Alternativmethode in der Mikrotiterplatte

Die grundsätzliche Abfolge des Versuchsansatzes und die Prüfbedingungen entsprachen der vorgeschriebenen Röhrchenmethode.

Auch hier wurden zuerst 0,1 ml der Keimsuspension 9,9 ml der Desinfektionsmittelverdünnung zugegeben. In diesem Fall wurde jedoch ein Reagenzreservoir mit acht Kammern (Fa. VWR International GmbH, D-64295 Darmstadt) genutzt. Das Gemisch wurde gut durchmischt und die Temperatur bei $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ beziehungsweise $10^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ gehalten.

Nun wurden 25 μl jedes Ansatzes mit einer Mehrkanal-Pipette (Transferpipette[®]-12: Fa. Brand GmbH & Co. KG, D-97861 Wertheim) nach 5, 15, 30 und 60 Minuten und vorherigem Durchmischen entnommen und in jeweils 225 μl CSL [CSL+D] mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels in eine Mikrotiterplatte (Fa. Techno Plastic Products AG, CH-8219 Trasadingen) überimpft.

Die anschließende Kultivierung erfolgte gemäß DVG-Richtlinie.

3.2.7 Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgertest

Dieser Test soll als möglichst standardisierbares Modell für die Flächendesinfektion unter Stallbedingungen dienen. Zur Verwendung kamen abgelagerte, unbehandelte, trocken sterilisierte Lindenholzstückchen mit einer Größe von 1 cm² und 3 mm Dicke (Fa. Holz-Jung GmbH, D-35398 Giessen). Die Keimträger wurden durch 20 Sekunden langes Einlegen in die Testkeimsuspension bei vollständiger Bedeckung kontaminiert und danach für 30 Minuten bei 20°C ± 2°C auf saugfähigem Papier zum Antrocknen der Suspension aufgestellt. Daraufhin wurden die Keimträger in ca. 20 ml Desinfektionsmittelverdünnung so eingelegt, dass sie während der nächsten zwei Minuten allseitig benetzt wurden. Anschließend wurden die Holzstückchen zum Einwirken entnommen und aufrecht in Petrischalen aufgestellt. Nach Einwirkzeiten von 30, 60 und 120 Minuten wurden die Träger in Röhrchen mit CSL [CSL+D] und dem entsprechendem Inaktivierungsmittel übertragen und 72 Stunden [96 Stunden] bei 37°C aerob bebrütet.

Zur sicheren Endwertbestimmung und Identifizierung der Keime wurden aus bewachsenen Nährlösungen im Grenzbereich Subkulturen auf CSA [CSA+D] angelegt. Nicht bewachsene Ansätze der höchsten Desinfektionsmittelkonzentration wurden mit dem Testkeim beimpft, um eine Nachwirkung des Desinfektionsmittels auszuschließen.

3.2.8 Kontrollen

Die Wachstums- und Empfindlichkeitskontrollen werden bei jedem Mittel parallel zur eigentlichen Bestimmung der Desinfektionsmittelwirkung durchgeführt.

3.2.8.1 Wachstumskontrolle (= Kontrolle 1)

Anstelle der verwendeten Desinfektionsmittelverdünnung wurde WSH verwendet, um das Wachstum aller Testorganismen zu überprüfen. Beim Keimträgertest erfolgte dies nur für eine Einwirkzeit von 120 Minuten.

3.2.8.2 Empfindlichkeitskontrolle der Teststämme (= Kontrolle 2)

Diese Kontrolle unterschied sich sowohl in Bezug auf die Bestimmung der jeweiligen Wirkung, als auch auf den zu untersuchenden Keim. **Tabelle 11** zeigt, dass Phenol beziehungsweise Formalin im jeweiligen Fall das geprüfte Desinfektionsmittel ersetzen.

Tabelle 11: Empfindlichkeitskontrolle

Test	Kontrolle
Bakteriostase Fungistase	Phenol-Verdünnungsreihe Formalin-Verdünnungsreihe
Bakterizidie im Suspensionstest Fungizidie im Suspensionstest	1 %ige Phenol-Lösung 3 %ige Formalin-Lösung
Bakteri-/Fungizidie im Keimträgertest	3 %ige Formalin-Lösung

3.2.9 Auswerten und Bewertung der Ergebnisse

Die Befunde der Prüfung wurden nach den vorgeschriebenen Inkubationszeiten und -bedingungen anhand der Trübung visuell ausgewertet und in Tabellen eingetragen, deren Muster im Anhang der DVG-Richtlinie zu ersehen ist.

3.2.9.1 Bestimmung der bakterio- /fungistatischen Wirkung

Als minimale Hemmkonzentration (=MHK) wurde die niedrigste Desinfektionsmittelkonzentration ermittelt, die das Bakterienwachstum gerade noch unterdrückt. Von den getrübbten Röhrchen im Grenzbereich wurden Subkulturen auf CSA [CSA+D] zur Wachstumskontrolle angelegt.

3.2.9.2 Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung

Für die Beurteilung wurden nur Ergebnisse herangezogen, in denen der Grenzbereich von Wachstum und Abtötung erfasst wird. In diesem Bereich wurden von allen Ansätzen Subkulturen auf CSA [CSA+D] zur Wachstumskontrolle angelegt.

3.2.10 Desinfektionsmittelprüfung mit Alternativkeimen

Alle beschriebenen Materialien und Methoden wurden ebenso bei der Prüfung mit den Alternativorganismen *Enterococcus hirae*, *Proteus hauseri* und *Salmonella cholerasuis* subsp. *cholerasuis* angewandt.

3.2.11 Statistische Auswertung

Zum Vergleich der Methoden zur Ausführung des qualitativen Suspensionstest wurden die ermittelten Ergebnisse mittels eines Vorzeichenäquivalenztests nach WELLEK (1994) verglichen. Grundlage hierfür war zunächst die Berechnung der unbedingten Power (Trennschärfe) für den klassischen Test (d.h. ohne randomisierte Testentscheidung) und den Test mit Randomisierung. Dieses Power-Programm verwendete folgende Parameter:

- Signifikanzniveau: festgelegt auf 0,05;
- Toleranzbereich: festgelegt auf 0,4 – 0,6 für $p = 0,5$;
- Fallzahl: $N = 360$;
- Wahrscheinlichkeit für Gleichheit zweier Messungen ($A = B$): 74,2%.

Für den Äquivalenztest wurde noch die folgende zusätzliche Angabe benötigt:

- Anzahl der Fälle Röhrchen > Mikrotiterplatte und
 Röhrchen < Mikrotiterplatte.

Der anschließende Äquivalenztest berechnete:

- Grenzen des Ablehnungsbereiches c_1 und c_2 ;
- Randomisierungswahrscheinlichkeiten g_1 und g_2 ;
- Bedingte Power für den klassischen Test und den Test mit Randomisierung.

4 Ergebnisse

Zum Vergleich der Ergebnisse innerhalb und zwischen den Methoden wurde jeweils die Konzentration des Desinfektionsmittels zur Wertung herangezogen, bei der kein Wachstum mehr erkennbar und nachzuweisen war. Danach wurden die Resultate von jeweils zwei voneinander unabhängigen Ansätzen gegenübergestellt und die durchschnittliche Anzahl an Abweichungen bei den verschiedenen Desinfektionsmitteln ermittelt. Hierbei wurden sowohl die Gesamtzahl der Abweichungen als auch die Zahl der Konzentrationsstufen bei einer Abweichung erfasst. In den Tabellen wurden die Unterschiede zwischen den Ansätzen zur Verdeutlichung grau unterlegt.

4.1 Desinfektionsmittelprüfung nach DVG im Röhrrchen

Vier Desinfektionsmittel unterschiedlicher Wirkstoffklassen wurden einer vorschriftsmäßigen Prüfung an Bakterien und Pilzen für den Bereich Tierhaltung unterzogen.

Tabelle 12: Zusammenfassung aller Abweichungen zwischen Ansätzen der Standardmethode nach DVG

Desinfektionsmittel	Test	Unterschiede der wirksamen Konzentrationen zwischen den zwei unabhängigen Ansätzen		
		Abweichungen in Konzentrationsstufen		
		1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen
Aldekol Des Aktiv®	Reihenverdünnungstest	3	-	-
	Qualit. Suspensionstest	37	8	-
	Keimträgertest	6	-	-
	Summe:	46	8	-
Suma Bac D10®	Reihenverdünnungstest	5	-	-
	Qualit. Suspensionstest	37	2	-
	(Keimträgertest) ³	(-) ³	(-) ³	(-) ³
	Summe:	42	2	-
Aldekol Des Azid®	Reihenverdünnungstest	7	-	-
	Qualit. Suspensionstest	29	-	-
	Keimträgertest	7	-	-
	Summe:	43	-	-
Virucidal extra®	Reihenverdünnungstest	3	-	-
	Qualit. Suspensionstest	32	-	-
	Keimträgertest	4	-	-
	Summe:	39	-	-
Gesamtzahl der Abweichungen:		170 (94,4 %)¹	10 (5,6 %)¹	0
		= 180 [44,4 % aller Vergleichsansätze]²		

¹ Anteil an der Gesamtzahl der Abweichungen in Prozent

² Anteil der Abweichungen an der Gesamtzahl der getesteten Vergleichsansätze in Prozent

³ Ergebnis aufgrund unzureichender Wirksamkeit nicht gewertet

Diese und die folgenden Ergebnisse, die meist im Rahmen einer routinemäßigen Testung zur Aufnahme in die DVG-Liste durchgeführt wurden, dienen als Vergleichswert und geben einen Überblick über die Gesamtzahl an Abweichungen, die bei der vollständigen Prüfung im Bereich Tierhaltung dieser Desinfektionsmittel vorkommt.

Aus der zusammenfassenden **Tabelle 12** wird ersichtlich, dass in 44,4 % der Fälle die Ergebnisse der 405 Vergleichsansätze (**siehe Tabellen 31 bis 46 im Anhang**) nicht übereinstimmten. Dabei handelte es sich bei 94,4 % der Ansätze um Abweichungen von einer Konzentrationsstufe, während in 5,6 % der Fälle zwei Stufen den Unterschied ausmachten.

4.1.1 Reihenverdünnungstest

Tabelle 13: Vergleich der bakterio- /fungistatischen Wirkung zwischen zwei Ansätzen (MHK-Werte in Vol. %)

Desinfektionsmittel	Stamm	ohne Enthemmer		mit Enthemmer	
		Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 1	Ansatz 2
Aldekol Des Aktiv®	<i>S. aureus</i>	0,062	0,125	0,5	0,5
	<i>E. faecium</i>	0,062	0,062	0,5	0,5
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,125	0,25	0,5	0,5
	<i>Ps. aeruginosa</i>	0,125	0,062	0,5	0,5
	<i>C. albicans</i>	0,25	0,25	0,5	0,5
Suma Bac D10®	<i>S. aureus</i>	0,004	0,002	3,5	3
	<i>E. faecium</i>	0,016	0,008	6	5,5
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	0,25	25	25
	<i>Ps. aeruginosa</i>	0,25	0,25	37,5	37,5
	<i>C. albicans</i>	0,016	0,016	0,25	0,5
Aldekol Des Azid®	<i>S. aureus</i>	0,062	0,125	0,25	0,5
	<i>E. faecium</i>	0,062	0,125	0,5	0,5
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,062	0,125	0,5	0,25
	<i>Ps. aeruginosa</i>	0,062	0,125	0,25	0,25
	<i>C. albicans</i>	0,25	0,25	0,25	0,5
Virucidal extra®	<i>S. aureus</i>	0,125	0,25	1	1
	<i>E. faecium</i>	0,125	0,25	1	1
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,5	0,5	1	1
	<i>Ps. aeruginosa</i>	0,5	0,5	1	1,5
	<i>C. albicans</i>	0,5	0,5	4	4

Tabelle 13 zeigt zusammenfassend, dass im Reihenverdünnungstest zur Bestimmung der bakterio- und fungistatischen Wirkung ausschließlich Abweichungen von einer Konzentrationsstufe zwischen den Versuchen zu vermerken waren. Der Gesamtanteil der Abweichungen lag bei 45 %, wobei lediglich bei dem Mittel Aldekol Des Azid® ein auffälliger Unterschied bei 70 % der Ansätze zu erkennen war. Bei allen anderen geprüften Desinfektionsmitteln wichen die ermittelten Konzentrationsstufen in 30 % bis 50 % der Fälle voneinander ab. Die jeweils verwendeten Kontrollen und Keimzahlen sind aus den **Tabellen 31 bis 34** im Anhang ersichtlich.

4.1.2 Qualitativer Suspensionstest in der Röhrenmethode

Die Bestimmung der bakteri- und fungiziden Wirkung im qualitativen Suspensionstest erfolgte durch Prüfung von vier Desinfektionsmitteln mit fünf Keimen bei zwei Temperaturen.

Abbildung 3 stellt die Übersicht der Verteilung nach Anzahl der Abweichungen dar. Die Gesamtzahl an Abweichungen zwischen den durchgeführten 320 Vergleichsansätzen (entspricht 640 unabhängigen Ansätzen) machte in diesem Test 45,3 % aus. Bei 6,9 % handelte es sich dabei um Unterschiede von zwei Konzentrationsstufen. Den größten Anteil machten mit 93,1 % Abweichungen um eine Stufe aus.

Die detaillierten Ergebnisse sind aus den **Tabellen 35 bis 42** im Anhang zu ersehen.

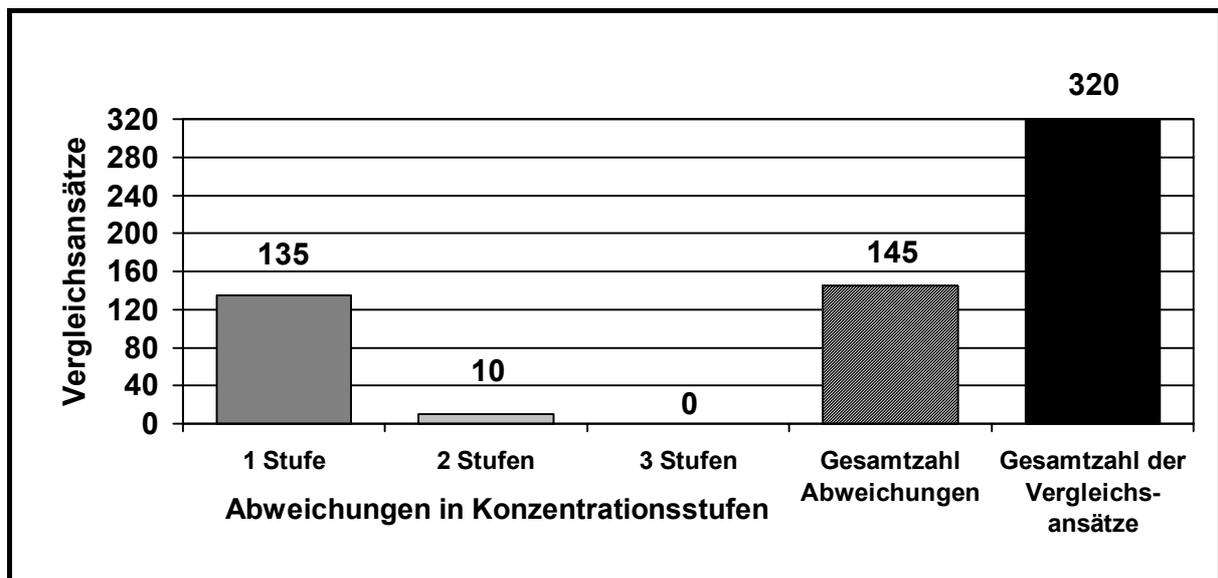


Abbildung 3: Verteilung der Abweichungen im qualitativen Suspensionstest in der Röhrenmethode

4.1.3 Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgertest

Das Desinfektionsmittel Suma Bac D10[®] ging aufgrund seiner schlechten Wirksamkeit und der daraus resultierenden hohen Konzentrationsstufen in diesem Test nicht in die Wertung ein. Wie die **Tabelle 14** zeigt, betrug die Gesamtzahl der Abweichungen bei den verbliebenen drei Mitteln 35,6 %. Diese Abweichungen lagen alle im Bereich einer Konzentrationsstufe. Die detaillierten Ergebnisse und jeweils verwendeten Keimzahlen und Kontrollen sind in den **Tabellen 43 bis 46** im Anhang aufgeführt.

Tabelle 14: Abweichungen bei drei getesteten Desinfektionsmitteln im Keimträgertest

Abweichungen in Konzentrationsstufen	Unterschiede der wirksamen Konzentrationen zwischen zwei unabhängigen Ansätzen
1 Stufe	16
2 Stufen	-
3 Stufen	-
Gesamtzahl der Abweichungen:	= 16 [35,6 % der Vergleichsansätze]

4.2 Desinfektionsmittelprüfung in der alternativen Mikromethode

Neben der Beschreibung der praktischen Gesichtspunkte, die bei der Anwendung der Alternativmethode zu beobachten waren, wurden hier die Ergebnisse des qualitativen Suspensionstests nach DVG-Richtlinie mit zwei unabhängigen Versuchen in der Mikrotiterplattenmethode ermittelt.

Diese Versuche dienen dem Vergleich der Häufigkeit und der Verteilung von Abweichungen im Rahmen einer routinemäßigen Prüfung zur Aufnahme in die DVG-Liste mit den bereits aufgeführten Ergebnissen in der Röhrenmethode.

4.2.1 Praktische Aspekte

4.2.1.1 Material

Anstatt der bisher benutzten Glas- oder Plastikröhren wurden in dieser Methode Mikrotiterplatten benutzt. Dies setzte das vorherige Durchmischen der Desinfektionsmittel-Keimsuspension in einem Reagenzreservoir mit acht Kammern voraus.

Während bei der Röhrenmethode nur mit Einkanal-Pipetten gearbeitet wurde, kam bei der Alternativmethode eine Mehrkanal-Pipette zum Einsatz.

4.2.1.2 Methoden

Die grundsätzliche Abfolge des Versuchsansatzes und die Prüfbedingungen entsprachen wie bereits erwähnt (**Kapitel 3.2.6.2**) der vorgeschriebenen Röhrenmethode.

Grundlegend unterschiedlich war hier die Verwendung eines Reagenzreservoirs mit acht Kammern, in welches das Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisch gegeben wurde. Die vorgeschriebene Temperatur wurde durch Zwischenlagerung in einem Kühlschrank erreicht und durch ständige Temperaturkontrolle anhand eines Thermometers gewährleistet. Der zweite Unterschied bestand darin, dass 25 µl jedes Ansatzes mit einer Mehrkanal-Pipette nach 5, 15, 30 und 60 Minuten und vorherigem Durchmischen entnommen und in jeweils 225 µl CSL [CSL+D] mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels überimpft wurden. Bei diesem Arbeitsschritt wurde daher das Verhältnis von 1:100 (2,5 µl in 247,5 µl) zwischen Einsatzmenge und Flüssigmedium mit jeweiligem Enthemer aus Praktikabilitätsgründen nicht beibehalten.

Die anschließende Kultivierung erfolgte wieder gemäß der DVG-Richtlinie.

4.2.2 Vergleich zweier Ansätze in der Mikrotiterplattenmethode

Wie bei der Röhrenmethode nach DVG wurden somit auch mit der Mikrotiterplattenmethode zur Bestimmung der bakteri- und fungiziden Wirkung im qualitativen Suspensionstest vier Desinfektionsmittel bei zwei Temperaturen mit den vorgeschriebenen Testorganismen geprüft.

Eine detaillierte Darstellung des Übergangs von unwirksamer Konzentration zur jeweiligen Wirkkonzentration bei den einzelnen Mitteln findet sich in den **Tabellen 47 bis 54** im Anhang.

Die Abweichungen der Konzentrationsstufen zwischen den Ansätzen bei der Mikrotiterplattenmethode werden durch **Abbildung 4** zusammenfassend dargestellt.

Insgesamt kam es in 39,7 % der Fälle zu Unterschieden zwischen den Ansätzen. Hierbei handelte es sich in 97,6 % der vorkommenden Abweichungen um eine Konzentrationsstufe und in nur 2,4 % der Fälle um zwei Stufen.

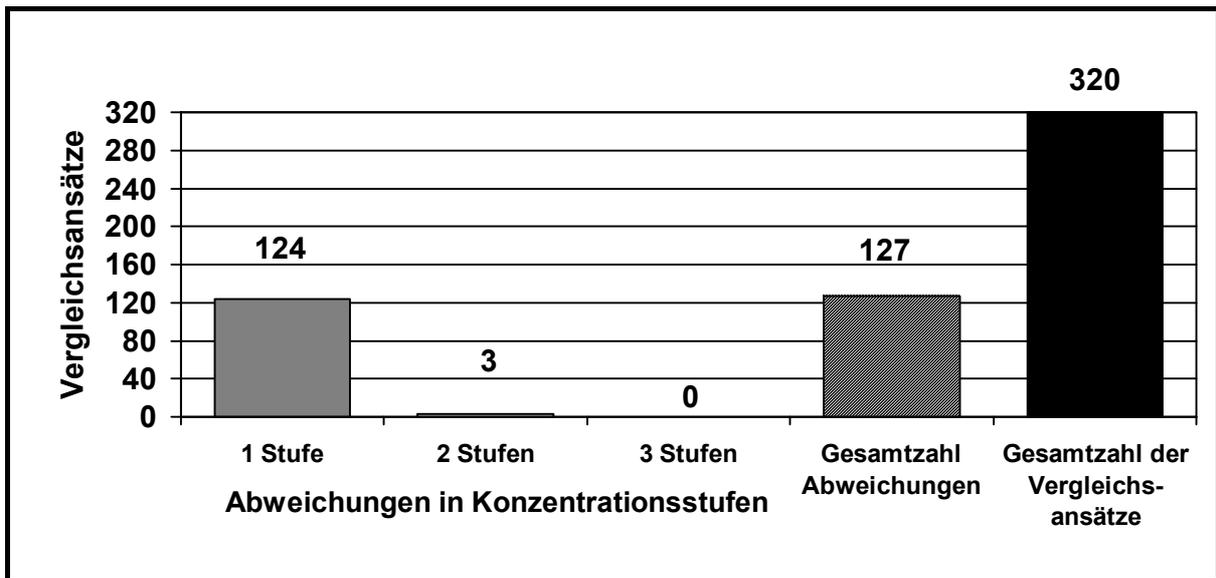


Abbildung 4: Verteilung der Abweichungen im qualitativen Suspensionstest in der Mikrotiterplattenmethode

4.3 Vergleich zwischen Röhren- und Mikrotiterplattenmethode

Zum Vergleich der beiden Methoden zur Durchführung des qualitativen Suspensionstests wurden drei unterschiedliche Versuche durchgeführt. So standen sowohl bei der Makromethode im Röhren als auch im Falle der Mikromethode die bereits aufgeführten Ergebnisse einer standardmäßigen Prüfung nach DVG-Richtlinie mit zwei unabhängigen Versuchen zur Verfügung. Zusätzlich wurden beide Testmethoden zur Ermittlung der Inter-Assay-Variation mit zwei ausgewählten Desinfektionsmitteln unter bestimmten Bedingungen in 20 unabhängigen Ansätzen wiederholt. Von diesen wurden jeweils zwei zufällig ausgewählte Ansätze miteinander verglichen. Mit den gleichen zwei Desinfektionsmitteln wurden zuletzt beide Methoden zur selben Zeit, mit derselben Keimsuspension und unter denselben Bedingungen durchgeführt und dieser Versuch insgesamt zehnmal wiederholt.

4.3.1 Praktikabilität und Durchführbarkeit

Allgemein war bei der Durchführung der Makromethode im Röhren ein größerer Platz-, Material-, Zeit- und Arbeitsaufwand erforderlich, als bei der alternativen Mikromethode in der Mikrotiterplatte.

Tabelle 15 zeigt an zwei Beispielen den unterschiedlichen Materialaufwand der zwei verglichenen Methoden.

Tabelle 15: Gegenüberstellung des unterschiedlichen Materialaufwandes zweier Methoden

Röhrenmethode	Mikrotiterplattenmethode
Benötigte Anzahl Röhren / Mikrotiterplatten (pro geprüftem Mittel im qualitativen Suspensionstest)	
8 Verdünnungsstufen x 4 Einwirkzeiten = 32 Röhren 32 Röhren x 2 unabhängige Versuche = 64 Röhren 64 Röhren x 5 Testkeime = 320 Röhren 320 Röhren x 2 (mit / ohne Eiweißbelastung) = <u>640 Röhren</u>	2 unabhängige Versuche mit je 8 Verdünnungsstufen zu 4 Einwirkzeitenzeiten = 1 Mikrotiterplatte 1 Mikrotiterplatte x 5 Testkeime = 5 Mikrotiterplatten 5 Platten x 2 (mit / ohne Eiweißbelastung) = <u>10 Mikrotiterplatten</u>
Menge an CSL + Inaktivierungsmittel	
640 Röhren x 10 ml = <u>6400 ml</u>	225 µl x 8 Verdünnungsstufen = 1,8 ml 1,8 ml x 4 Einwirkzeiten = 7,2ml 7,2 ml x 2 unabhängige Versuche = 14,4 ml 14,4 ml x 5 Testkeime = 72 ml 72 ml x 2 = <u>144 ml</u>

Im Falle der Makromethode entstand ein hoher Arbeitsaufwand, da das Überimpfen der vorgegebenen Menge jedes Ansatzes in CSL mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels zu einer bestimmten Zeit und nach vorherigem Aufschütteln nur mit der Einkanalpipette und nacheinander stattfinden kann. Durch den Einsatz einer Mehrkanalpipette und das dadurch mögliche, gleichzeitige Überimpfen aller acht Verdünnungsstufen bei einem Testkeim, konnte der benötigte Arbeits- und Zeitaufwand für die Mikromethode deutlich reduziert werden. Dadurch war es ohne Probleme möglich, die vorgeschriebenen Zeiten bei der zeitabhängigen Prüfung einzuhalten. Vor allem die Kurzzeitwirkung (5 und 15 Minuten), welche sich sonst als limitierender Faktor für die Anzahl parallel geprüfter Testorganismen herausstellte, war in der Mikromethode auch bei gleichzeitig getesteten fünf Testkeimen noch gut durchführbar.

Darüber hinaus zeigte es sich, dass sich der benötigte Platz sowohl während der Prüfung unter der Mikrobiologischen Sicherheitswerkbank als auch bei der sich anschließenden Inkubationszeit von mindestens 72 Stunden im Brutschrank, um ein Vielfaches verringerte.

4.3.2 Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit

Um Aussagen über die Reproduzierbarkeit der unterschiedlichen Testverfahren bei der Bestimmung der bakteri- und fungiziden Wirkung im qualitativen Suspensionstest treffen zu können, wurden die Variationen der Ergebnisse innerhalb der Röhren- beziehungsweise der Mikrotitermethode ermittelt.

Durchgeführt wurden diese Aufgabenstellungen mit den Desinfektionsmitteln Aldekol Des Aktiv[®] und Suma Bac D10[®]. Diese zwei Mittel wurden ausgewählt, da der Grenzbereich von Wachstum und Abtötung hier besonders niedrige beziehungsweise hohe Konzentrationen umfasste. Zudem zeigten diese Mittel die größte Anzahl an Abweichungen zwischen den unabhängigen Ansätzen bei der Prüfung nach DVG-Richtlinie. Um sämtliche Teilaspekte der Desinfektionsmittelprüfung in die Arbeit einzubeziehen, wurden diese Versuche mit zwei unterschiedlichen Temperaturen und verschiedenen Eiweißbelastungen durchgeführt. Zusammenfassend wurden somit jeweils ein Desinfektionsmittel bei einer bestimmten Temperatur und einer festgelegten Eiweißbelastung mit den fünf vorgeschriebenen Testkeimen an 20 verschiedenen Tagen getestet.

4.3.2.1 Inter-Assay-Variation der Röhrenmethode

Die **Tabelle 16** zeigt nun, dass es in 49,8 % der durchgeführten Ansätze in der Röhrenmethode zu Abweichungen kam. Die größere Anzahl der Unterschiede mit 59,8 % entfiel dabei auf das Mittel Suma Bac D10[®]. Betrachtet man die Resultate insgesamt, kam es in 86,9 % der Fälle zu Abweichungen um eine Stufe. Abweichungen um zwei Konzentrationsstufen waren mit 13,1 % deutlich seltener und Unterschiede von drei Stufen kamen nicht vor.

In den später aufgeführten **Tabellen 19 und 20** wurde von jedem der 20 unabhängigen Ansätze in der Röhrenmethode die niedrigste wirksame Konzentrationsstufe bei der jeweiligen Einwirkzeit in einer Spalte untereinander aufgeführt. Aus diesen Ergebnissen wurden dann Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient ermittelt.

Tabelle 16: Inter-Assay-Variation der Röhrenmethode (Anzahl und Verteilung der Abweichungen)

Desinfektionsmittel	Temperatur	Eiweißbelastung	Testkeime	Unterschiede der wirksamen Konzentrationen zwischen unabhängigen Ansätzen		
				Abweichungen in Konzentrationsstufen		
				1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen
Aldekol Des Aktiv®	10°C	20 %	<i>S. aureus</i>	11	1	-
			<i>E. faecium</i>	14	-	-
			<i>Pr. mirabilis</i>	24	1	-
			<i>Ps. aeruginosa</i>	11	1	-
			<i>C. albicans</i>	15	2	-
			Summe:	75	5	-
				= 80 (40,2 %)¹		
Suma Bac D10®	20°C	ohne	<i>S. aureus</i>	24	5	-
			<i>E. faecium</i>	16	2	-
			<i>Pr. mirabilis</i>	15	7	-
			<i>Ps. aeruginosa</i>	21	1	-
			<i>C. albicans</i>	22	6	-
			Summe:	98	21	-
				= 119 (59,8 %)¹		
Gesamtzahl der Abweichungen:				173 (86,9 %)¹	26 (13,1 %)¹	-
				= 199 [49,8 % aller Vergleichsansätze]²		

¹ Anteil an der Gesamtzahl der Abweichungen in Prozent

² Anteil der Abweichungen an der Gesamtzahl der getesteten Vergleichsansätze in Prozent

4.3.2.2 Inter-Assay-Variationen der Mikrotiterplattenmethode

In der Mikrotiterplattenmethode wurde im Gegensatz zur Makromethode eine weitere Inter-Assay-Variation durchgeführt. Dieser zusätzliche Versuch in der Mikromethode wurde nötig, um die Folgen einer geringfügigen, aber notwendigen Änderung im Prüfungsablauf zu ermitteln. Während in der Röhrenmethode nach DVG-Richtlinie das Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisch zum Flüssigmedium mit dem jeweiligen Enthemer im Verhältnis 1:100 steht, wurde das Verhältnis zwischen diesen beiden Komponenten aus Praktikabilitätsgründen auf 1:10 geändert. Der einzige deutliche Unterschied, zur bereits in **Kapitel 4.2.1.2** beschriebenen Methodik, bestand also darin, dass hier 2,5 µl von jedem Ansatz des Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisches mit einer Mehrkanal-Pipette

wiederum nach den vorgeschriebenen Zeiten und vorherigem Durchmischen entnommen und in jeweils 247,5 µl CSL [CSL+D] mit Zusatz des ermittelten Inaktivierungsmittels überimpft wurden.

Zum Vergleich der beiden Ansatzvolumina (2,5 µl und 25 µl) und der jeweiligen Mengen an Medium (247,5 µl und 225 µl) wurden Versuche mit den schon zuvor eingesetzten Mitteln, unter identischen Bedingungen, mit denselben Keimsuspensionen und in jeweils zehn unabhängigen Ansätzen durchgeführt.

Die **Tabelle 17** gibt eine zusammenfassende Übersicht über die Resultate der einzelnen Ansätze, zusammengestellt aus den detaillierten **Tabellen 55 bis 64** im Anhang.

Bei den durchgeführten Versuchen kam es bei nur 18,5 % der Ansätze zu Abweichungen, welche alle im Bereich einer Konzentrationsstufe lagen. Insgesamt war in 63,5 % der abweichenden Fälle beim Versuch mit 25 µl des Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisches eine höhere Konzentration nötig. Betrachtet man die Desinfektionsmittel getrennt, so ist im Falle von Suma Bac D10® das Verhältnis nahezu ausgeglichen. Bei Aldekol Des Aktiv® ist der Unterschied größer, denn hier waren 80 % der Ansätze mit 25 µl des Gemisches bei größerer Konzentrationsstufe wirksam.

Tabelle 17: Unterschiede zwischen verschiedenen Einsatzmengen des Keim-Desinfektionsmittel-Gemisches

Desinfektionsmittel	Test	Hemmkonzentration bei 2,5 µl > 25 µl			Hemmkonzentration bei 2,5 µl < 25 µl		
		Abweichungen in Konzentrationsstufen			Abweichungen in Konzentrationsstufen		
		1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen	1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen
Aldekol Des Aktiv®	<i>S. aureus</i>	1	-	-	5	-	-
	<i>E. faecium</i>	-	-	-	1	-	-
	<i>Pr. mirabilis</i>	-	-	-	7	-	-
	<i>Ps. aeruginosa</i>	3	-	-	8	-	-
	<i>C. albicans</i>	2	-	-	3	-	-
	Summe:	6	-	-	24	-	-
Suma Bac D10®	<i>S. aureus</i>	2	-	-	8	-	-
	<i>E. faecium</i>	5	-	-	4	-	-
	<i>Pr. mirabilis</i>	3	-	-	4	-	-
	<i>Ps. aeruginosa</i>	4	-	-	5	-	-
	<i>C. albicans</i>	7	-	-	2	-	-
	Summe:	21	-	-	23	-	-
Gesamtzahl der Abweichungen:		27	0	0	23	0	0
		27 (36,5 %)¹			47 (63,5 %)¹		
		= 74 [18,5 % der Vergleichsansätze]²					

¹ Anteil an der Gesamtzahl der Abweichungen in Prozent

² Anteil der Abweichungen an der Gesamtzahl der getesteten Vergleichsansätze in Prozent

Die Ergebnisse der Versuche zur Inter-Assay-Variation zwischen unabhängigen Ansätzen des qualitativen Suspensionstests werden auch bei der Mikrotiterplattenmethode gesondert dargestellt. Die **Tabellen 21 und 22** führen wiederum die wirksamen Konzentrationen zur jeweiligen Einwirkzeit in Spalten untereinander auf. Daraus konnten Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient ermittelt werden.

Bei diesem Versuch, zusammenfassend dargestellt in **Tabelle 18**, lag der Anteil, bei dem es zu Unterschieden zwischen den Vergleichsansätzen kam, mit 45,3 % niedriger als beim identischen Versuchsaufbau im Röhrchen. In 86,7 % der Fälle waren es Abweichungen um eine Stufe und in 13,3 % Abweichungen um zwei Konzentrationsstufen. Unterschiede von drei Stufen kamen auch hier nicht vor.

Tabelle 18: Inter-Assay-Variation der Mikrotiterplattenmethode (Anzahl und Verteilung der Abweichungen)

Desinfektionsmittel	Temperatur	Eiweißbelastung	Testkeime	Unterschiede der wirksamen Konzentrationen zwischen den Ansätzen		
				Abweichungen in Konzentrationsstufen		
				1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen
Aldekol Des Aktiv®	10°C	20 %	<i>S. aureus</i>	11	2	-
			<i>E. faecium</i>	13	2	-
			<i>Pr. mirabilis</i>	17	4	-
			<i>Ps. aeruginosa</i>	15	2	-
			<i>C. albicans</i>	15	2	-
	Summe:			71	12	-
			= 83 (45,9 %)			
Suma Bac D10®	20°C	ohne	<i>S. aureus</i>	16	6	-
			<i>E. faecium</i>	15	1	-
			<i>Pr. mirabilis</i>	18	-	-
			<i>Ps. aeruginosa</i>	19	1	-
			<i>C. albicans</i>	18	4	-
	Summe:			86	12	-
			= 98 (54,1 %)			
Gesamtzahl der Abweichungen:				157 (86,7 %) ¹	24 (13,3 %) ¹	-
				= 181 [45,3 % aller Vergleichsansätze]²		

¹ Anteil an der Gesamtzahl der Abweichungen in Prozent

² Anteil der Abweichungen an der Gesamtzahl der getesteten Vergleichsansätze in Prozent

4.3.2.3 Vergleich der Ergebnisse beider Methoden

Während der **Abbildung 5** die Ergebnisse der kompletten Prüfung von vier Desinfektionsmitteln nach DVG-Richtlinie im Bereich Tierhaltung zugrunde liegen, beziehen sich die Zahlen der **Abbildung 6** auf die jeweils 20-mal wiederholten Versuche zur Ermittlung der Inter-Assay-Variation des Suspensionstests in der jeweiligen Methode. In beiden Fällen zeigte sich in der Röhrenmethode eine größere Anzahl von Abweichungen.

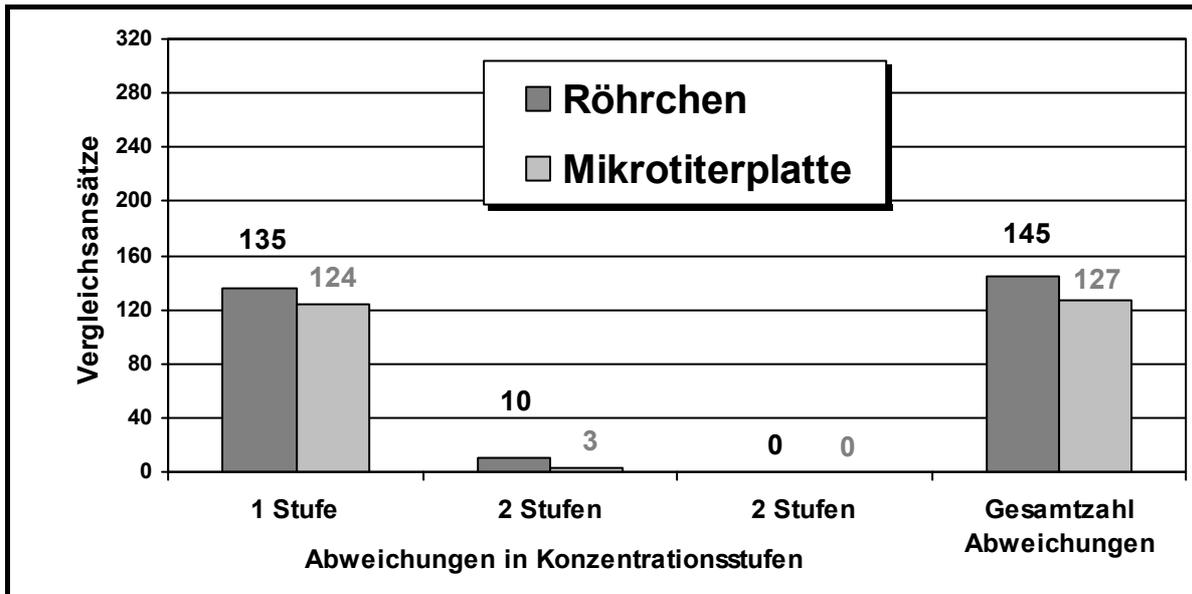


Abbildung 5: Vergleich der Anzahl und Darstellung der Verteilung der Abweichungen zwischen je zwei unabhängigen Ansätzen bei der Prüfung von insgesamt vier Desinfektionsmitteln im qualitativen Suspensionstest

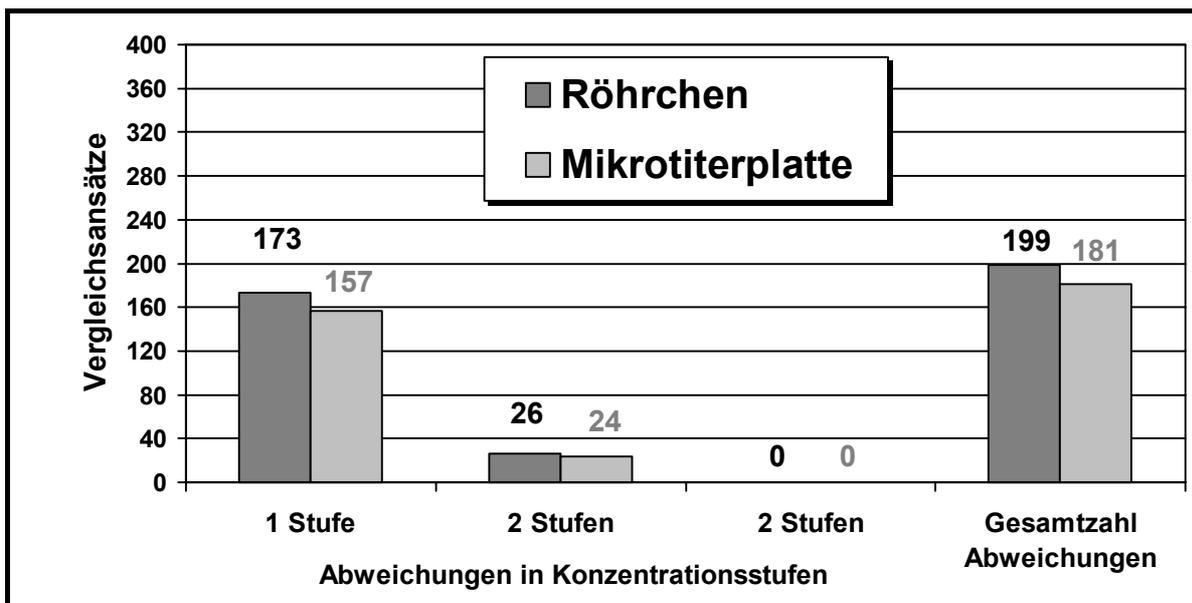


Abbildung 6: Vergleich der Anzahl und Darstellung der Verteilung der Abweichungen zwischen 20-mal wiederholten, unabhängigen Vergleichsansätzen im Rahmen der Ermittlung der Inter-Assay-Variation des qualitativen Suspensionstests bei zwei ausgesuchten Mitteln und Parametern

Auch die **Abbildung 7** bezieht sich auf die Ergebnisse der Versuche zur Inter-Assay-Variation. So war der Anteil der Abweichungen um eine Konzentrationsstufe bei der Röhrenmethode geringgradig größer, der umgekehrte Fall trat bei den Unterschieden um zwei Stufen ein.

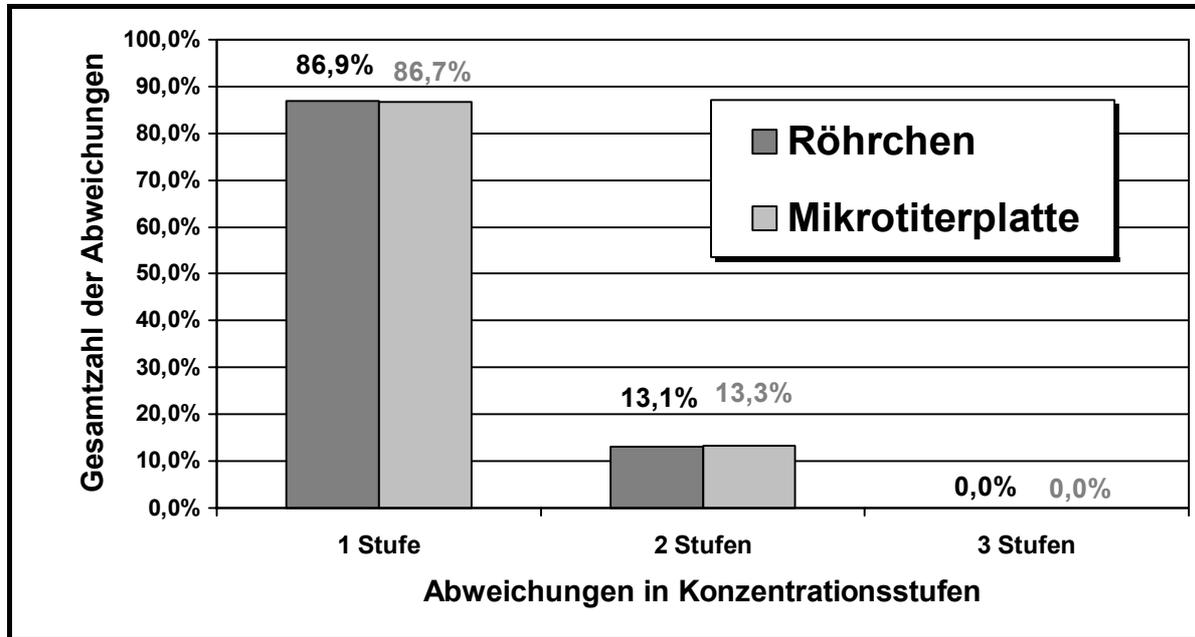


Abbildung 7: Darstellung der Verteilung der Abweichungen zwischen 20-mal wiederholten, unabhängigen Vergleichsansätzen bei zwei ausgesuchten Mitteln im qualitativen Suspensionstest in Prozent

Die **Tabellen 19 bis 22** dokumentieren die Ergebnisse der Versuche zur Inter-Assay-Variation zwischen unabhängigen Ansätzen des qualitativen Suspensionstests in der Röhren- beziehungsweise der Mikrotiterplattenmethode.

Während bei der Makromethode der Variationskoeffizient im Durchschnitt 39,5 % betrug, lag dieser bei der Mikromethode mit 43,2 % etwas höher (**Abbildung 8**).

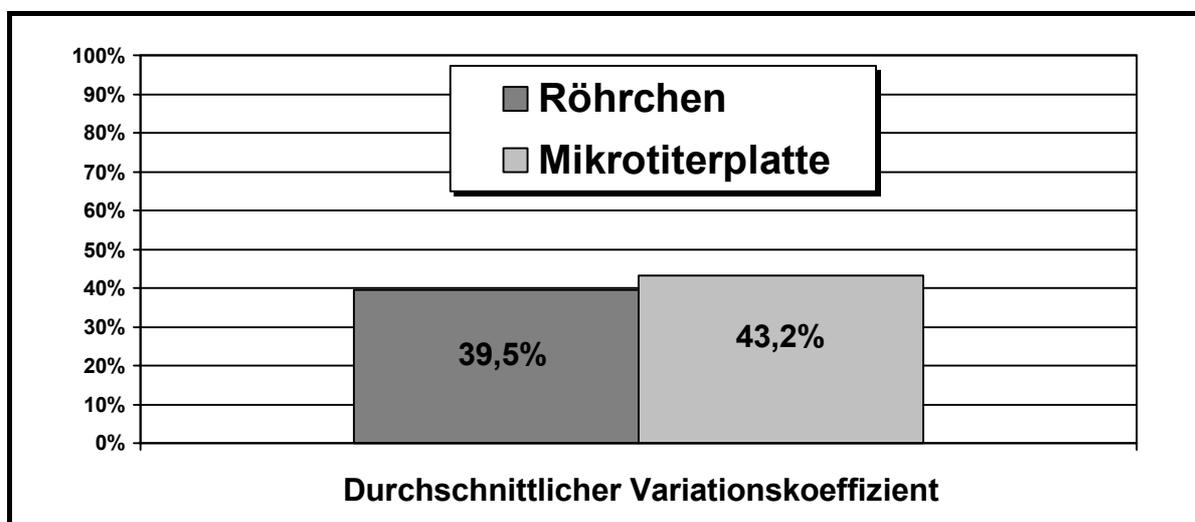


Abbildung 8: Durchschnittlicher Variationskoeffizient verschiedener Methoden im qualitativen Suspensionstest

Außer den Resultaten der bereits beschriebenen Versuche, wurde eigens für diesen Vergleich ein zusätzlicher Test durchgeführt, dessen jeweilige Ergebnisse im Anhang in den **Tabellen 65 bis 74** zu sehen sind.

Wiederum wurden die Desinfektionsmittel Aldekol Des Aktiv[®] mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C und Suma Bac D10[®] ohne Eiweißbelastung bei 20°C geprüft. Die Voraussetzungen für die Ansätze der verschiedenen Methoden waren identisch. Das heißt, dass Gebrauchslösungen, Keimsuspensionen und Desinfektionsmittelkonzentrationen jeweils von derselben Person zur gleichen Zeit hergestellt wurden. Die Versuche wurden in einem begrenzten Zeitraum in denselben Räumlichkeiten durchgeführt.

Beim Versuch mit dem Mittel Suma Bac D10[®] und dem Testkeim *Staphylococcus aureus* wurden die insgesamt 40 Ansätze aufgrund eines Pipettierfehlers verworfen und nicht gewertet.

Somit wurden die Makro- und die Mikromethode anhand der Ergebnisse von jeweils 360 unabhängig voneinander durchgeführten Ansätzen verglichen.

Tabelle 23: Vergleich zwischen Röhrchen- und Mikrotiterplattenmethode

Desinfektionsmittel	Test	Hemmkonzentration bei Röhrchen > Mikrotiter			Hemmkonzentration bei Röhrchen < Mikrotiter		
		Abweichungen in Konzentrationsstufen			Abweichungen in Konzentrationsstufen		
		1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen	1 Stufe	2 Stufen	3 Stufen
Aldekol Des Aktiv [®]	<i>S. aureus</i>	12	-	-	-	-	-
	<i>E. faecium</i>	8	-	-	1	-	-
	<i>Pr. mirabilis</i>	11	2	-	1	-	-
	<i>Ps. aeruginosa</i>	5	2	-	4	-	-
	<i>C. albicans</i>	4	-	-	7	-	-
	Summe:	40	4	-	13	-	-
Suma Bac D10 [®]	<i>(S. aureus)</i> ³	$(10)^3$	$(-)^3$	$(2)^3$	$(2)^3$	$(-)^3$	$(-)^3$
	<i>E. faecium</i>	7	-	-	2	-	-
	<i>Pr. mirabilis</i>	9	-	-	-	-	-
	<i>Ps. aeruginosa</i>	8	-	-	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	7	-	-	3	-	-
	Summe:	31	-	-	5	-	-
Gesamtzahl der Abweichungen:		71	4	0	18	0	0
		75 (80,6 %) ¹			18 (19,4 %) ¹		
		= <u>93</u> [25,8 % der Vergleichsansätze] ²					

¹ Anteil an der Gesamtzahl der Abweichungen in Prozent

² Anteil der Abweichungen an der Gesamtzahl der getesteten Vergleichsansätze in Prozent

³ Ergebnis aufgrund eines Pipettierfehlers nicht gewertet

Aus der **Tabelle 23** auf der vorherigen Seite wird deutlich, dass sich nur 25,8 % der durchgeführten Vergleichsansätze in der ermittelten wirksamen Konzentration unterscheiden. Dabei lag der Anteil der Abweichungen um eine Stufe bei 95,7 %. Nur 4,3 % der verglichenen Ansätze zeigten einen Unterschied von zwei Konzentrationsstufen. Abweichungen um drei Stufen blieben aus. Allerdings zeigte sich bei diesem Vergleich zwischen den Methoden eine ungleiche Verteilung der Abweichungen. In 80,6 % der Fälle war bei der Röhrenmethode eine höhere Konzentrationsstufe zum Abtöten der Testorganismen nötig. Somit ist bei diesem Versuch ein Trend zu einer höheren Hemmkonzentration in der Makromethode zu vermerken.

Für diese Arbeit wurde ein Vorzeichenäquivalenztest (programmiert von Dr. Markus Scholz, Institut für medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie) verwendet.

Nach Eingabe der Anzahl und Verteilung aller Abweichungen ergibt sich kein Hinweis auf Gleichheit der beiden Methoden. Auch wenn der Test, aufgrund der in **Kapitel 5.3.2** aufgeführten Gründe, nur mit Abweichungen um zwei Konzentrationsstufen durchgerechnet wird, liegt keine Gleichheit der Methoden vor. Die Ergebnisse dieser statistischen Auswertung sind im Einzelnen in Tabelle 24 dargestellt.

Tabelle 24: Ergebnisse der Berechnung der Power und des Äquivalenztests

Errechnete Parameter	Angabe der Zahl und Verteilung aller Abweichungen	Angabe der Zahl und Verteilung der Abweichungen um zwei Konzentrationsstufen
Bedingte Power des klassischen Test	16%	0 %
Bedingte Power des Tests mit Randomisierung	30%	5 %
Randomisierungswahrscheinlichkeiten ¹	$g_1=0,887; g_2=0,887$	$g_1=0,133; g_2=0,133$
Ablehnungsbereich	[45; 48] für Röhren > Mikrotiterplatte → H_0 kann nicht abgelehnt werden → kein Hinweis auf Gleichheit	[2; 2] → kein Hinweis auf Gleichheit

¹ Wahrscheinlichkeiten mit denen man eine Entscheidung zugunsten der Alternativhypothese treffen kann, wenn die Testgröße (d.h. die Anzahl der Messungen $A > B$) auf den Rand des Ablehnungsbereiches fällt.

4.4 Alternative Testorganismen

4.4.1 Praktische Aspekte

Sowohl im Hinblick auf das Einfrieren und Lagern der Testkeime als auch auf das Herstellen der Keimsuspension, gab es zwischen den von der DVG vorgeschriebenen Organismen und den Alternativkeimen keine Unterschiede in Kultivierbarkeit und Wachstum. Das heißt, alle Keime erreichten nach den vorgeschriebenen Kultivierungszeiten Keimzahlen, die im geforderten Bereich von 1×10^8 bis 1×10^9 KBE/ml lagen. Auch der zusätzlich geprüfte Testkeim *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* konnte unter den beschriebenen Bedingungen angewendet werden.

4.4.2 Vergleich der Prüfergebnisse

Um die Alternativkeime mit den nach DVG-Richtlinie zu prüfenden Testkeimen zu vergleichen, wurden die im **Kapitel 3.1.7.1** beschriebenen vier Desinfektionsmittel aus verschiedenen Wirkstoffklassen bei gleichen Bedingungen geprüft. Wenn höhere Konzentrationen nötig waren, um die jeweiligen Keime abzutöten, wurden diese Werte in den Tabellen grau unterlegt.

4.4.2.1 *Enterococcus hirae*

Enterococcus hirae wird in 44,5 % aller durchgeführten Tests erst durch höhere Konzentrationen der Desinfektionsmittel abgetötet als *Enterococcus faecium*. Der umgekehrte Fall trat bei 26,5 % der Fälle ein und in 29 % waren die Hemmkonzentrationen gleich. Die Ergebnisse werden im Folgenden detailliert dargestellt.

Reihenverdünnungstest

Der Alternativkeim *Enterococcus hirae* zeigte sich, wie in **Tabelle 25** dargestellt, hier als der eindeutig resistere Keim gegenüber den vier geprüften Desinfektionsmitteln.

Tabelle 25: Vergleich der bakteriostatischen Wirkung (*E. hirae* mit *E. faecium*) (MHK-Werte in Vol. %)

Desinfektionsmittel	Ansatz	ohne Enthammer		mit Enthammer	
		<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
Aldekol Des Aktiv®	1	0,062	0,125	0,5	1,0
	2	0,062	0,125	0,5	1,0
Suma Bac D10®	1	0,016	0,062	6,0	7,0
	2	0,008	0,062	5,5	8,0
Aldekol Des Azid®	1	0,062	0,5	0,5	1,5
	2	0,125	0,5	0,5	1,0
Virucidal extra®	1	0,125	1,0	1,0	2,0
	2	0,25	1,0	1,0	2,5

Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Suspensionstest

Bei diesem Teil der Prüfung ist, wie im Anhang in den **Tabellen 75 bis 78** dargestellt, das Ergebnis abhängig vom Desinfektionsmittel, der Eiweißbelastung, der Temperatur und der Einwirkzeit.

Aldekol Des Aktiv[®] und Aldekol Des Azid[®] wirken bei Eiweißbelastung und Einwirktemperatur von 10°C geringfügig schlechter gegen *Enterococcus hirae* als gegen *Enterococcus faecium*. Ansonsten erweist sich *Enterococcus hirae* hier jeweils als der resistere Testkeim.

Bei der Prüfung mit Suma Bac D10[®] werden besonders bei 10°C ohne Eiweißbelastung höhere Konzentrationen zum Abtöten des Alternativkeims benötigt. Bei den restlichen geprüften Parametern war *Enterococcus hirae* nur bei Einwirkzeiten bis 15 Minuten resistenter.

Auch im Fall von Virucidal extra[®] ist *Enterococcus hirae* nur bei Einwirkzeiten bis 15 Minuten der resistere Keim. Hingegen war ohne Eiweißbelastung und bei 10°C *Enterococcus faecium* etwas widerstandsfähiger.

Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Keimträgertest

Hier ging Suma Bac D10[®] in Folge des in **Kapitel 4.1.3** genannten Grundes nicht in die Wertung ein. **Tabelle 26** zeigt, dass der bisher verwendete Testkeim *Enterococcus faecium* bei diesem Test erst bei teilweise deutlich höheren Konzentrationen der genannten Desinfektionsmittel abgetötet wird, als dies beim Alternativkeim *Enterococcus hirae* der Fall ist.

Tabelle 26: Vergleich der bakteriziden Wirkung im Keimträgertest (*E. hirae* mit *E. faecium*)

Desinfektionsmittel	Einwirkungszeit auf Keimträger	Ansatz	<i>Enterococcus faecium</i> (Konz. Vol. %)	<i>Enterococcus hirae</i> (Konz. Vol. %)
Aldekol Des Aktiv [®]	30 min	1	3,0	1,5
		2	2,5	2,0
	60 min	1	2,0	1,0
		2	2,0	1,5
	120 min	1	1,5	1,0
		2	1,5	1,0
Aldekol Des Azid [®]	30 min	1	5,5	5,5
		2	5,5	5,0
	60 min	1	4,5	4,0
		2	4,0	3,5
	120 min	1	3,5	3,0
		2	3,5	2,5
Virucidal extra [®]	30 min	1	3,0	2,5
		2	3,0	3,0
	60 min	1	3,0	2,5
		2	2,5	2,0
	120 min	1	2,0	1,5
		2	2,0	1,5

4.4.2.2 *Proteus hauseri*

Insgesamt weisen die Ergebnisse der Tests mit *Proteus hauseri* im Vergleich zu *Proteus mirabilis* auf eine deutlich geringere Resistenz gegenüber den geprüften Desinfektionsmitteln hin. In 59,9 % aller Ansätze waren höhere Konzentrationen der Mittel nötig, um *Proteus mirabilis* abzutöten. 23,4 % der Fälle zeigten keinen Unterschied zwischen den Keimen. *Proteus hauseri* erwies sich in nur 16,7 % der Testansätze als der resistenter Keim.

Reihenverdünnungstest

Wie in **Tabelle 27** dargestellt, war in dieser Prüfung *Proteus mirabilis* mit den Mitteln Aldekol Des Aktiv[®] und Suma Bac D10[®] der resistenter Keim, während aber *Proteus hauseri* sich bei Einwirkung von Aldekol Des Azid[®] und Virucidal extra[®] als widerstandsfähiger zeigte.

Tabelle 27: Vergleich der bakterio- /fungistatischen Wirkung (*Pr. hauseri* mit *Pr. mirabilis*)
(MHK-Werte in Vol. %)

Desinfektionsmittel	Ansatz	ohne Enthemmer		mit Enthemmer	
		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus hauseri</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus hauseri</i>
Aldekol Des Aktiv [®]	1	0,125	0,062	0,5	0,5
	2	0,25	0,125	0,5	0,5
Suma Bac D10 [®]	1	0,25	0,062	25,0	8,0
	2	0,25	0,062	25,0	8,0
Aldekol Des Azid [®]	1	0,062	0,5	0,25	1,0
	2	0,125	0,5	0,5	1,0
Virucidal extra [®]	1	0,5	1,0	1,0	2,0
	2	0,5	0,5	1,0	2,0

Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Suspensionstest

In diesem Teil der Prüfung der Desinfektionsmittel im Rahmen des Versuches war *Proteus mirabilis* bei allen geprüften Desinfektionsmitteln der Testkeim, der sich als der Resistenter erwies. Nur im Fall von Aldekol Des Azid[®] wurden zum Abtöten des vorgeschlagenen Alternativkeims *Proteus hauseri* höhere Konzentrationen des Desinfektionsmittels benötigt. Diese sind aus den **Tabellen 75 bis 78** im Anhang zu ersehen.

Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Keimträgertest

Auch bei diesem Test zeigte sich *Proteus mirabilis* insgesamt als der resistenter Testorganismus. Nur beim Desinfektionsmittel Virucidal extra[®] war die gleiche, in einem Ansatz die höhere Konzentrationsstufe nötig, um den Alternativtestorganismus *Proteus hauseri* zu inaktivieren (**Tabelle 28**).

Tabelle 28: Vergleich der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgertest (*Pr. hauseri* mit *Pr. mirabilis*)

Desinfektionsmittel	Einwirkungszeit auf Keimträger	Ansatz	<i>Proteus mirabilis</i> (Konz. Vol. %)	<i>Proteus hauseri</i> (Konz. Vol. %)
Aldekol Des Aktiv®	30 min	1	1,0	0,5
		2	1,0	0,25
	60 min	1	0,5	0,125
		2	1,0	0,125
	120 min	1	0,5	0,125
		2	0,5	0,062
Aldekol Des Azid®	30 min	1	2,5	1,5
		2	2,5	1,5
	60 min	1	2,0	0,5
		2	2,0	0,25
	120 min	1	2,0	0,25
		2	1,5	0,125
Virucidal extra®	30 min	1	1,5	1,5
		2	1,5	1,5
	60 min	1	1,0	1,0
		2	1,0	1,0
	120 min	1	0,5	1,0
		2	0,5	0,5

4.4.2.3 *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis*

Auch in den folgenden Tabellen wurden nur Felder grau unterlegt, wenn höhere Konzentrationsstufen des Alternativkeims oder der beiden bisher genutzten gramnegativen Keime gegeben waren.

Insgesamt stellte sich in 49,4 % der Ansätze der alternative Testkeim *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* im Vergleich zu den verwendeten gramnegativen Keimen als der weniger resistente Organismus dar. 32,1 % machte die Anzahl der Fälle aus, in denen die Konzentration mindestens einem der herkömmlichen Bakterien gleicht, 18,5 % in denen *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* sich als der widerstandsfähigere Keim zeigte.

Reihenverdünnungstest

Tabelle 29: Vergleich der bakteriostatischen Wirkung (*S. cholerasuis* mit *Pr. mirabilis* und *Ps. aeruginosa*) (MHK-Werte in Vol. %)

Desinfektionsmittel	Ansatz	ohne Enthemmer			mit Enthemmer		
		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudom. aeruginosa</i>	<i>Salmonella cholerasuis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudom. aeruginosa</i>	<i>Salmonella cholerasuis</i>
Aldekol Des Aktiv®	1	0,125	0,125	0,062	0,5	0,5	1,0
	2	0,25	0,062	0,062	0,5	0,5	0,5
Suma Bac D10®	1	0,25	0,25	0,062	25	37,5	17,0
	2	0,25	0,25	0,062	25	35,0	18,0
Aldekol Des Azid®	1	0,062	0,062	0,5	0,25	0,5	1,0
	2	0,125	0,125	0,25	0,5	0,25	1,0
Virucidal extra®	1	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,5
	2	0,5	0,5	1,0	1,0	1,5	2,0

Tabelle 29 zeigt, dass sich *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* nur bei den Desinfektionsmitteln Aldekol Des Azid® und Virucidal extra® als eindeutig resistenter erwies.

Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Suspensionstest

In diesem Abschnitt der Prüfung waren für das Inaktivieren der nach Richtlinie geprüften gramnegativen Keime *Proteus mirabilis* und *Pseudomonas aeruginosa* überwiegend höhere Desinfektionsmittelkonzentrationen nötig.

Nur in Einzelfällen war *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* im Rahmen eines Tests bei beiden Ansätzen und mehreren Einwirkzeiten resistenter. Dies ist beispielsweise bei den Mitteln Suma Bac D10® bei 10°C und 20 % Eiweißbelastung und Virucidal extra® bei 20°C und ohne Eiweißbelastung der Fall. Die Einzelwerte sind in den **Tabellen 75 bis 78** im Anhang zusammengefasst.

Bestimmung der bakteri- /fungiziden Wirkung im Keimträgertest

Im Keimträgertest stellte sich nur bei einem Mittel der Zusatzkeim *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* als der widerstandsfähigere Bakterienstamm heraus (**Tabelle 30**).

Tabelle 30: Vergleich der bakteriziden Wirkung im Keimträgertest
(*S. cholerasuis* mit *Pr. mirabilis* und *Ps. aeruginosa*)

Desinfektionsmittel	Einwirkungszeit auf Keimträger	Ansatz	<i>Proteus mirabilis</i> (Konz. Vol. %)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Konz. Vol. %)	<i>Salmonella cholerasuis</i> (Konz. Vol. %)
Aldekol Des Aktiv®	30 min	1	1,0	1,0	0,5
		2	1,0	1,0	0,5
	60 min	1	0,5	0,5	0,25
		2	1,0	0,25	0,25
	120 min	1	0,5	0,25	0,125
		2	0,5	0,25	0,25
Aldekol Des Azid®	30 min	1	2,5	2,0	3,5
		2	2,5	2,0	3,5
	60 min	1	2,0	2,0	3,0
		2	2,0	2,0	2,5
	120 min	1	1,0	1,5	2,5
		2	1,5	1,5	2,5
Virucidal extra®	30 min	1	1,5	2,0	2,0
		2	1,5	2,0	2,0
	60 min	1	1,0	1,5	1,5
		2	1,0	1,5	1,0
	120 min	1	0,5	1,5	0,5
		2	0,5	1,0	0,5

5 Diskussion

Der qualitative Suspensionsversuch wurde Gegenstand dieses Dissertationsvorhabens, da er ein fester Bestandteil aller Prüfvorschriften von Desinfektionsmitteln in Bezug auf ihre Wirksamkeit gegenüber Viren, Bakterien, Pilzen oder auch parasitären Dauerstadien ist. Dies liegt zum einen an der Unabhängigkeit des Verfahrens gegenüber diversen beeinflussenden Faktoren. Zudem zeigt der Test bei Durchführung unter Eiweißbelastung die prinzipielle Wirksamkeit des zu prüfenden Desinfektionsmittels in einem mit organischen Stoffen belasteten Milieu. Nicht zuletzt wird der Suspensionsversuch bei der Prüfung chemischer Desinfektionsmittel als eine der Techniken mit der größten Standardisierbarkeit und mit einem hohen Maß an Reproduzierbarkeit eingestuft.

Für Versuche mit Keimträgern spricht dagegen eher, dass sie praxisnah sind. Sie erlauben eine Übertragung der erzielten Ergebnisse auf die im Feld vorliegenden Bedingungen. Zwar wurden auch erhebliche Anstrengungen zur Standardisierung der Keimträgerversuche unternommen, diese Prüftechniken erreichen jedoch im Hinblick auf standardisierbare und reproduzierbare Ergebnisse nicht annähernd die Qualität des Suspensionsversuchs (MROZEK 1976). Die Betrachtung des Keimträgertests spielte in der vorliegenden Doktorarbeit daher nur eine untergeordnete Rolle.

Auch wenn in den Prüfrichtlinien der DVG für die Tierhaltung die entscheidenden Bewertungskriterien für die Wirksamkeit (empfohlene Konzentration für die spezielle Desinfektion) auf den Ergebnissen mit Keimträgern beruhen, so machen doch die bereits aufgezählten Gründe den Suspensionstest zu einem idealen Prüfinstrument, welches einen hohen Stellenwert besitzt.

Hauptziel der Arbeit war es, den bestehenden qualitativen Suspensionstest in der Röhrenmethode mit einer weniger arbeits-, material-, zeit- und platzintensiven Modifikation des Verfahrens zu vergleichen. Untersucht wurden dabei alle wichtigen Kriterien, die bei der Bewertung einer Methode von Bedeutung sind. Sowohl die Praktikabilität und Durchführbarkeit der alternativen Methoden als auch deren Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit wurden eingehend beleuchtet.

Zusätzlich wurden weitere Versuche aus den im jeweiligen Kapitel beschriebenen Beweggründen durchgeführt. Während der qualitative Suspensionstest zusätzlich mit einer niedrigeren Temperatur durchgeführt wurde, waren ferner einige Alternativ- und Zusatzkeime Gegenstand der gesamten Prüfung im Bereich der Tierhaltung.

Möglicherweise bringen die so erhaltenen Ergebnisse Erkenntnisse zu einigen Aspekten der Desinfektionsmittelprüfung, die in künftigen Neufassungen der DVG-Richtlinie zur Prüfung von Desinfektionsmitteln berücksichtigt und umgesetzt werden könnten.

5.1 Auswahl der geprüften Desinfektionsmittel und Enthemmer

Die Wahl der Desinfektionsmittel für diese Arbeit erfolgte unter dem Gesichtspunkt, die Untersuchungen ausschließlich mit Wirkstoffgruppen durchzuführen, die in der Tierhaltung häufig Anwendung finden. Als Basis für diese Information diente die ‚Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für die Tierhaltung‘. Die in dieser Liste aufgeführten Mittel sind aufgrund ihres Prüfzertifikates als marktbeherrschend anzusehen und es ist anzunehmen, dass sie das Spektrum der in der Tierhaltung angewendeten verschiedenen Desinfektionsmittel repräsentieren (BREMER 2003).

Hinsichtlich der angegebenen wirksamen Hauptbestandteile enthalten die gelisteten Präparate bis auf wenige Ausnahmen entweder Aldehyde, Peressigsäure oder andere Oxidationsmittel, organische Säuren, so genannte ‚Chlorabspalter‘ oder oberflächenaktive Substanzen. Somit ließen sich die Desinfektionsmittel, die bei der Desinfektion in der Tierhaltung die größte Bedeutung zu haben scheinen, auf fünf unterschiedliche Stoffgruppen zurückführen. Alle diese aufgeführten Stoffgruppen waren vertreten, sei es als Bestandteil der getesteten Desinfektionsmittel oder als Kontrollsubstanz. Darüber hinaus wurden Desinfektionsmittel in zwei verschiedenen Aggregatzuständen geprüft. Drei der getesteten Mittel lagen in flüssiger Form vor, beim Vierten handelte es sich um ein Pulver zum Auflösen. Abhängig vom Mittel wurde die Prüfung jeweils mit den folgenden Konzentrationsstufen durchgeführt: 0,001 %, 0,002 %, 0,004 %, 0,008 %, 0,016 %, 0,031 %, 0,062 %, 0,125 %, 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 %, usw. Während über einem Prozent standardmäßig Schritte von einem halben Prozent beibehalten wurden, wählten wir darunter logarithmische Verdünnungsschritte. Diese Entscheidung, von den in der DVG-Richtlinie vorgegebenen Konzentrationsstufen unter einem Prozent (0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,5 %) abzuweichen, war nötig, da ein Teil der getesteten Desinfektionsmittel schon bei geringen Konzentrationen sehr gut wirkten. Um zu gewährleisten, dass der Bereich zwischen wirksamen und unwirksamen Konzentrationen trotzdem deutlich sichtbar wurde und in den Vergleich einbezogen werden konnte, wurde mit den genannten Konzentrationen gearbeitet. Zudem führte aus praktischer Sicht aufgrund der handwerklich ebenso einfachen Herstellung der Verdünnungen die Auswahl anderer Konzentrationsstufen zu keinem deutlichen Mehraufwand.

Bei zwei der geprüften Mittel tauchten aus unterschiedlichen Gründen Probleme bei der Handhabung während der Desinfektionsmittelprüfung auf.

Beim Lösen des pulverförmigen Virucidal extra[®] in den Verdünnungsflüssigkeiten kam es zu Verzögerungen, da dieser Prozess nur langsam und teilweise, vor allem bei höheren Konzentrationen, nur nach Erhitzen vonstatten ging. Dieses Problem trat vor allem beim Verdünnen mit dem Flüssigmedium Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung (CSL) beim Reihenverdünnungstest auf.

Ein weiterer Umstand störte das Prüfvorhaben mit diesem Desinfektionsmittel. Bei höheren Prüfkonzentrationen ab einem Prozent kam es bei den Tests mit Eiweißbelastung zum Ausflocken des Rinderserums. Diese Tatsache birgt sowohl die Gefahr einer ungleichen Verteilung des Rinderserums im Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisch als auch eine ungleiche Verteilung der sonstigen Bestandteile des Gemisches in sich. Fraglich ist, ob das Ausflocken diverser Bestandteile zur Verfälschung von Ergebnissen und damit zu fehlerhaften Listeneintragungen führt. Diese Frage könnte nur durch weitere Untersuchungen mit diesem Mittel geklärt werden.

Das Problem bei der Prüfung des Desinfektionsmittels Aldekol Des Azid® war nicht das Mittel selbst sondern vielmehr der ermittelte und verwendete wirksamste Enthammer. Bei der Herstellung bildet die polyvalente Inaktivierungskombination mit Natriumhydrogenphosphat stets einen Bodensatz, bei dem es sich nach eigenen Untersuchungen wahrscheinlich um den Inhaltsstoff Saponin handelt. Beim Ablesen der Mikrotiterplatten ist, sowohl nach langer Standzeit als auch aufgeschüttelt, das Erkennen einer durch Bakterien- oder Pilzwachstum bedingten Kolonienbildung oder Trübung sehr erschwert und daher nur bedingt als verlässlich anzusehen.

Zwei Lösungsansätze für diese Problematik könnten möglicherweise in Betracht gezogen werden. Zum ersten könnte die ausfallende Komponente (Saponin) weggelassen werden, wobei allerdings untersucht werden müsste, ob der so entstandene Enthammer immer noch der Wirksamste ist. Ein weiterer Ansatz wäre, die Desinfektionsmittel, bei denen der angesprochene Enthammer genutzt werden soll, weiterhin mit der Röhrenmethode zu prüfen. Allerdings ist auch das Auswerten der Röhren, trotz des Vorteils je nach Keim eine Trübung über dem Bodensatz erkennen zu können, nicht immer einfach. Deutlich wurde dies vor allem bei dem Testorganismus *Candida albicans*, der häufig zu keiner Trübung führt und dessen Wachstum häufig nur am Röhrenboden erkennbar wird. Ein Aufschütteln führte hier zwar zur deutlichen Trübung, da jedoch auch der Bodensatz resuspendiert wurde, waren bewachsene und unbewachsene Röhren meist nur durch nachfolgende Kultivierung zu unterscheiden.

5.2 Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit von Methoden

Die Bewertung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel erfordert eine einheitliche und reproduzierbare Werte liefernde Prüfmethodik. Zugleich müssen Wirksamkeitsprüfungen eine große Zahl von beeinflussenden Faktoren berücksichtigen und diese möglichst konstant halten. Die Simulierung und praxisnahe Gestaltung bestimmter Bedingungen stellt daher hohe Anforderungen an die Standardisierung der Prüfbedingungen (OSTERTAG 1971).

Nach Meinung von VAN KLINGEREN et al. (1998) ist der Suspensionstest der vorherrschende und am besten standardisierte Test zur Desinfektionsmittelprüfung. Ein Grund dafür ist mit Sicherheit, dass der Test gute Bedingungen für die Desinfektionswirkung und gute Vergleichbarkeit der Testergebnisse bietet, da die Keime weitgehend homogen und in ideal gleichmäßigen und allseitigen Kontakt mit der jeweiligen Noxe gebracht werden (MROZEK 1976; MROZEK 1979; REYBROUCK 1998). Auch die Tatsache, dass der qualitative Suspensionstest nach DVG-Richtlinie zwar an in der Praxis herrschende Anforderungen angepasst wurde, es sich aber trotzdem um eine leicht und billig durchführbare Methode handelt, führt zu deren guter Standardisierbarkeit (HOLAH et al. 1998), obwohl MROZEK (1976) und DRÄGER (1981) zu Bedenken geben, dass im Allgemeinen Standardisierbarkeit und Vergleichbarkeit der Ergebnisse abnehmen, je praxisgerechter eine Prüfungsmethode gestaltet wird.

VAN DE VOORDE und REYBROUCK (1973) bezeichnen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse als das größte Problem bei Prüfungen. Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Ergebnisse dieser Arbeit, in deren Verlauf die Durchführung einer Desinfektionsmittelprüfung nach DVG im Bereich Tierhaltung ergab, dass immerhin in 44,4 % der Fälle die Ergebnisse der 405 Doppelansätze nicht übereinstimmten (**Tabelle 12**), so ist diese Aussage nachvollziehbar.

Trotz aller Bemühungen um Standardisierung und um Erhöhung der Reproduzierbarkeit kann es noch nicht ausgeschlossen werden, dass unterschiedliche Gutachter, bedingt durch die testimmanente Variabilität bei Desinfektionsmitteltestungen, zu differierenden Ergebnissen kommen können (HAUT und HERTER 1989).

BECK et al. (1977) betonen aufgrund einschlägiger Erfahrungen, dass Trockennährmedien verschiedener Hersteller auch bei gleicher Rezeptur oft unterschiedliche Kulturergebnisse erbringen. Es wurden sogar Differenzen im Wachstum zwischen zwei Chargen eines Herstellers beobachtet. Die Autoren empfehlen daher entsprechende Nährmedien von Herstellern zu beziehen, die regelmäßige Chargenkontrollen durchführen. Alternativ können auch laborintern solche in GLP-zertifizierten Laboren bereits vorgeschriebene Chargenkontrollen durchgeführt werden.

Nach eigenen Erfahrungen, wobei diese Problematik auch schon WALLBAUM (1972) ansprach, liefert schon die Durchführung der gleichen Methodik durch zwei Personen unter

sonst gleichen Bedingungen teilweise erheblich voneinander abweichende Ergebnisse. Auch WERNER et al. (1975) bestätigen, dass bei Desinfektionsmittelprüfungen sowohl innerhalb eines Labors als auch zwischen verschiedenen Laboratorien starke Unterschiede in den Ergebnissen auftreten, was in der Folge zu differierender Beurteilung der Eignung der Präparate führen kann.

Der von OSTERTAG (1971) gemachten Aussage, dass die Simulierung bestimmter Bedingungen hohe Anforderungen an die Standardisierung der Prüfbedingungen stelle, kann nach den im Rahmen dieser Doktorarbeit gemachten Erfahrungen nur zugestimmt werden. Während die Simulierung der Eiweißbelastung nach DVG-Richtlinie nach eigenen Erfahrungen im qualitativen wie im quantitativen Test ohne Probleme durchzuführen ist, führte das Gewährleisten einer bestimmten Testtemperatur zu weitaus größeren Problemen. Im Rahmen dieser Arbeit ging es weniger darum, Aussagen über die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln bei tieferen Temperaturen zu erhalten oder die generelle Frage nach dem möglichen Einfluss abnehmender Temperaturen auf die bakteri- und fungizide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel zu klären, sondern vielmehr um die Frage nach der Durchführbarkeit der Simulierung niedriger Temperaturen im qualitativen Suspensionstest nach DVG im Bereich der Tierhaltung. In diesem Zusammenhang stand somit zur Diskussion, ob im Suspensionsversuch, sowohl in der Röhren- als auch in der Mikrotiterplattenmethode, standardisierbare Techniken zur Kühlung und damit der validen Prüfung bei 10°C zur Verfügung stehen. Während in der Röhrenmethode das Kühlwasserbad genutzt wurde, fand in der alternativen Mikrotitermethode die Kühlung im Kühlschrank Anwendung.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte festgestellt werden, dass bei beiden getesteten Methoden das Gewährleisten der geforderten Testtemperatur von 10°C ohne Probleme sicherzustellen war. Jedoch ist wahrscheinlich, dass aufgrund der kürzeren Arbeitsschritte bei der Mikromethode das Einhalten der Testtemperaturen noch etwas leichter zu gewährleisten ist. Bei Desinfektionsmittelprüfungen muss somit offensichtlich immer mit in Betracht gezogen werden, dass die Ergebnisse der verschiedenen Methoden laborabhängig, keim- und präparatspezifisch sind (WERNER et al. 1975).

5.3 Vergleich zwischen Röhren- und Mikrotiterplattenmethode

Auf dem Feld der Desinfektionsmittelprüfung wird seit geraumer Zeit nach einer möglichen Alternative zu den teilweise aufwendigen und umständlichen Makromethoden gesucht. Schon 1988 stellten KLEINER und TRENNER ein Mikroverfahren bei quantitativen Desinfektionsmittelprüfungen vor, MEIER entwickelte 1996 die Mikromethode eines halbquantitativen Suspensionstests. Im Folgenden soll die im Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen in Leipzig entwickelte Alternativmethode zum qualitativen Suspensionstest im Röhren nach DVG-Richtlinie unter verschiedenen Aspekten beleuchtet werden.

Die in diesem Kapitel diskutierten Methoden, Entwicklungen und Fragestellungen beschränken sich meist auf die Prüfung von Desinfektionsmitteln an Bakterien und Pilzen für den Bereich Tierhaltung und in diesem Zusammenhang auf die Bestimmung der bakteriziden oder fungiziden Wirkung durch den qualitativen Suspensionstest.

5.3.1 Praktikabilität und Durchführbarkeit der zwei Methoden

Ein Ziel dieser Doktorarbeit war die Verbesserung der Praktikabilität der Methode zur Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im Suspensionstest. Durch den Einsatz einer Mikromethode anstelle der aufwendigeren Makromethode im Röhren sollte dies gewährleistet werden.

Sowohl KLEINER und TRENNER (1988b) als auch später MEIER et al. (2003) gaben an, dass die Vorteile einer Mikromethode in der Einsparung von Arbeitszeit und Material sowie einer Erhöhung des Probendurchsatzes und einer Verringerung der für die Prüfung notwendigen Substanzmenge liegen. Die vorliegende Arbeit konnte all dies auch für die hier etablierte und durchgeführte Mikromethode bestätigen und zeigen, dass diese Methode daraus resultierend zudem das deutlich kostengünstigere Verfahren ist. Im **Kapitel 4.3.1** wurde teilweise schon beschrieben, wie und in welchem Umfang sich die Kosten verringern. Waren beispielsweise für die Prüfung eines Desinfektionsmittels im qualitativen Suspensionstest mit der Makromethode noch 640 Röhren nötig, so genügten für den gleichen Test mit der Mikromethode 10 Mikrotiterplatten (**Tabelle 15**). Infolge dieser Änderungen reduziert sich somit der finanzielle Aufwand in beträchtlichem Maße.

Auch die Zeitersparnis stellt einen Vorteil der Mikromethodik dar. Schon das Füllen der 640 Röhren mit jeweils 10 ml des Flüssigmediums mit dem jeweiligen Enthemer erweist sich, mit oder ohne Abfüllanlage, als sehr zeitaufwändig. Deutlich schneller hingegen ist das Füllen der nur 10 Mikrotiterplatten pro Versuch mit einer Mehrkanalpipette zu gewährleisten. Zudem wurde durch das deutliche Verringern der Menge an Flüssigmedium und jeweiligem Enthemer in der Mikromethode von ungefähr 6400 ml auf 144 ml (**Tabelle 15**), der finanzielle Aufwand wiederum um ein Vielfaches reduziert. Dabei sei erwähnt, dass bei

diesen verwendeten 144 ml eine gleich bleibende Qualität des Flüssigmediums wesentlich besser gewährleistet werden kann als dies bei 6400 ml der Fall ist.

Zuletzt ist der enorme Platzbedarf für die Laborständer mit den beimpften Röhrchen ein weiteres Argument für die Alternativmethode. Die Mikrotiterplatten lassen sich sowohl vor dem Gebrauch als auch während der praktischen Versuchsdurchführung in der Mikrobiologischen Sicherheitswerkbank und im Brutschrank auf nur einem Bruchteil des zuvor benötigten Raumes lagern.

Die Durchführbarkeit einer Methode sollte bei Einführung einer Alternativmethode verbessert werden oder aber mit der herkömmlichen Methode zumindest gleichwertig sein. Auch dieser Aspekt unterlag im Zuge dieses Dissertationsvorhabens der Beobachtung.

Die Handhabbarkeit der Mikromethode hat sich als sehr gut erwiesen. Die Möglichkeit alle zu prüfenden Konzentrationsstufen zur gegebenen Zeit gleichzeitig mit der Mehrkanal-Pipette zu überimpfen, hat sich gegenüber der Röhrchenmethode als großer Vorteil in Bezug auf den Arbeits- und Zeitaufwand und damit auch auf die Übersichtlichkeit bei der Versuchsdurchführung erwiesen. Auch die aus Gründen der Praktikabilität vorgenommene Änderung im Versuchsablauf, wobei sowohl die Menge des Ansatzvolumens (von 2,5 μl auf 25 μl) als auch die jeweiligen Mengen an Flüssigmedium (von 247,5 μl auf 225 μl) verändert wurden, führte zu einer weiteren Vereinfachung der Prüfung. Der nach Beachtung der Verhältnisse eigentlich errechnete Zusatz von nur 2,5 μl jeden Ansatzes hätte aufgrund der extrem geringen Menge zu einer sehr viel größeren Gefahr eines Pipettierfehlers auf Seiten des Menschen und des Gerätes geführt. Vor einer Änderung des Versuchsablaufs wurde diesbezüglich eine Inter-Assay-Variation durchgeführt, deren genaue Ergebnisse noch in **Kapitel 5.3.2.2** beschrieben werden. Auf deren Basis konnte festgestellt werden, dass aufgrund der geringen Anzahl von Abweichungen zwischen den Versuchsansätzen, die zudem alle im Bereich einer Konzentrationsstufe lagen, ein geänderter Ablauf mit größerem Ansatzvolumen durchaus gerechtfertigt war.

Da alle Testansätze, wie bereits erwähnt, in Mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken durchgeführt wurden, zeigten sich hier zudem auch die Vorzüge des deutlich geringeren Platzbedarfs trotz einer gleichzeitig weitaus größeren zu bewältigenden Probenanzahl. Für eine geübte Laborkraft ist es durchaus möglich ein Desinfektionsmittel bei einer Temperatur mit oder ohne Eiweißbelastung mit allen fünf Testorganismen des gesamten Prüfbereichs Bakterien und Pilze zeitgleich zu testen. Im Laufe dieser Arbeit zeigte sich, dass im Gegensatz dazu bei der herkömmlichen Methode mindestens die dreifache Zeitdauer für die Testung eines Desinfektionsmittels vonnöten war.

Als nachteilig hat sich nach MEIER et al. (2003) erwiesen, dass die Ausrüstung für die Mikromethodik verfügbar sein muss. Allerdings betonen die Autoren in derselben Quelle, dass diese Methoden auf heute in den Laboratorien gängigen und zukunftsweisenden

Verfahren beruhen. Diese Feststellung kann von meiner Seite nur bestätigt werden, da in modernen prüfenden Einrichtungen die benötigten Materialien wie eine Mehrkanal-Pipette, ein Reagenzreservoir oder auch Mikrotiterplatten zur Standardausrüstung zu rechnen sind. Zuletzt steht zur Diskussion, ob in beiden Methoden standardisierbare Techniken zur Kühlung, und damit der validen Prüfung bei 10°C zur Verfügung stehen. BREMER (2003) gibt an, die Durchführung des Suspensionstests in Reagenzröhrchen habe den Vorteil, dass durch Platzierung der Röhrchen in einem Kühlwasserbad in einfacher und sicherer Weise Prüfungen unterhalb der Raumtemperatur vorgenommen werden könnten. Dies wurde durch eigene Erfahrungen zwar bestätigt, allerdings wies die beschriebene Technik bei genauerer Betrachtung durchaus auch Nachteile auf. So ist zum einen die mögliche zu kühlende Probenanzahl sehr begrenzt. Zudem benötigt das Einstellen einer bestimmten Temperatur eine gewisse Zeit und muss mit einem Thermometer kontrolliert werden. Des Weiteren kann diese Art des Kühlens nicht in der Mikromethode angewendet werden, da ein Einbringen des Reagenzreservoirs in ein Wasserbad nicht möglich war. In der Mikromethode wurde somit eine zweite Möglichkeit der Kühltechnik angewendet. Dabei wurden die Ansätze auf die gewünschte Temperatur gekühlt, indem die Prüfmedien zuvor bereits gekühlt wurden und eine Zwischenlagerung der Mikrotiterplatten in einem auf diesen Temperaturbereich eingestellten Kühlschranks erfolgte (angewendet wurden 6°C bis 10°C). Der bedeutendste Vorteil dieser Methode liegt mit Sicherheit in der Erhöhung des möglichen Probendurchsatzes. So konnten ohne weiteres alle fünf Prüforganismen nebeneinander auf einem nur für diesen Zweck genutzten Tablett, zum Schutz vor Kontamination überdeckt mit einer Alufolie, transportiert werden. Trotz der zu Beginn relativ kurzen Spanne zwischen den vorgeschriebenen Einwirkzeiten war ein Halten der Temperatur möglich (siehe **Kapitel 3.2.6.2**). Allerdings war auch hier, wie schon im Wasserbad, eine ständige Temperaturkontrolle vonnöten. Ein weiterer Nachteil des Kühlwasserbads, die Vorlaufzeit bis zur eigentlichen Prüftemperatur, war auch bei dieser Technik vorhanden. Bei beiden Techniken konnte diese Abkühlzeit durch Anwendung von bereits gekühlten WSH reduziert werden. Bei Nutzung eines Kühlschranks mit etwas niedrigerer Temperatur (z.B. 6°C oder 8°C) konnte die Abkühlzeit zwar etwas verringert werden, in diesem Fall war aber ebenfalls eine häufigere Kontrolle der Temperatur angebracht.

Abschließend lässt sich schlussfolgern, dass die vorgestellte Mikromethode hinsichtlich ihrer Praktikabilität für die Prüfung von antibakteriellen Wirkstoffen überaus geeignet erscheint. Wie auch schon REVERDY et al. (1986) feststellten, erweisen sich Mikromethoden vor allem bei einer größeren Anzahl von durchzuführenden Tests als vorteilhaft.

5.3.2 Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit der zwei Methoden

Anhand der Werte aus den Originaldaten der Versuche und deren tabellarischer Auflistung ist es möglich, die Aussagen über die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels in korrespondierenden Versuchsansätzen beider Methoden zu vergleichen (HAUT und HERTER 1989). Außerdem macht diese Auflistung sowohl einen Vergleich der Ergebnisse zweier unabhängiger Ansätze einer Methode als auch den Vergleich unabhängiger Ansätze unterschiedlicher Methoden möglich. Aus diesen Vergleichen können dann Schlüsse über die Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit der Methoden gezogen werden.

Bei der Ansicht der folgenden Ergebnisse und Vergleiche ist zu beachten, dass die von unterschiedlichsten Laboreinrichtungen gemachten und bereits erwähnten Erfahrungen in der Prüfpraxis dazu führten, dass Abweichungen von nur einer Stufe in dieser Arbeit nicht als gravierender Unterschied zwischen den Methoden gewertet wurden (WALLBAUM 1972; WERNER et al. 1975; BECK et al. 1977; HAUT und HERTER 1989).

Außerdem muss in Betracht gezogen werden, dass die Konzentrationen der Desinfektionsmittel in logarithmischen Verdünnungsschritten hergestellt wurden. Somit handelte es sich bei den höheren Konzentrationen automatisch um größere Verdünnungsschritte, während diese bei den niedrigen Konzentrationen immer kleiner wurden. Aus praktischen Gründen wurden in dieser Arbeit jedoch zuerst alle Abweichungen zwischen den Ansätzen gleich gewichtet. Im weiteren Verlauf der Diskussion wurde dieser Sachverhalt aufgrund seiner Bedeutung aber keineswegs außer Acht gelassen.

Um die beiden untersuchten alternativen Methoden des qualitativen Suspensionstests verlässlich vergleichen zu können, wurden insgesamt drei unterschiedliche Versuche durchgeführt. Die Ergebnisse des qualitativen Suspensionstests einer standardmäßigen Prüfung nach DVG-Richtlinie mit zwei unabhängigen Versuchen wurden ebenso für diesen Vergleich genutzt wie die Resultate einer Inter-Assay-Variation mit zwei ausgewählten Desinfektionsmitteln von 20 unabhängigen Ansätzen. Zuletzt wurden von beiden Methoden zehn Wiederholungen parallel zur selben Zeit und unter denselben Bedingungen durchgeführt.

5.3.2.1 Ergebnisse der Prüfung nach DVG

Diese Versuche verfolgten das Ziel, einen Überblick über die Gesamtzahl an Abweichungen zu geben, die bei der vollständigen Prüfung von Desinfektionsmitteln im Bereich Tierhaltung vorkommen. Somit wurden neben dem qualitativen Suspensionstest auch der Reihenverdünnungstest und der Keimträgerstest in je zwei unabhängigen Ansätzen geprüft.

In 44,4 % der geprüften 405 Vergleichsansätze stimmten die Ergebnisse nicht überein (**Tabelle 12; siehe Tabellen 31 bis 46 im Anhang**). Dieses Resultat macht deutlich, dass das Erzielen von reproduzierbaren Ergebnissen, trotz aller Bemühungen auf diesem Gebiet,

immer noch zu den aktuellen Problemen der Desinfektionsmittelprüfung gehört. Allerdings wichen 94,4 % dieser differierenden Ansätze nur um eine Konzentrationsstufe ab. Die 5,6 % Abweichungen um zwei Verdünnungsstufen, die auf deutliche Unterschiede hinweisen, zeigen, dass der qualitative Suspensionstest im Rahmen der Möglichkeiten reproduzierbar ist.

Richtet man den Blick auf die Teilprüfungen einer Desinfektionsmitteltestung, die in dieser Arbeit nur eine untergeordnete Rolle spielen, so lag der Anteil der Abweichungen im Reihenverdünnungstest bei 45 %, während der Anteil der Abweichungen im Keimträgerstest bei den 3 gewerteten Mitteln 35,6% betrug (**Tabelle 13** und **Tabelle 14**). Zudem kamen in beiden Fällen ausschließlich Abweichungen von einer Konzentrationsstufe zwischen den Versuchen vor. Vor allem die relativ geringe Gesamtzahl der Abweichungen beim Keimträgerstest und die fehlenden Abweichungen um zwei Verdünnungsstufen erschienen auf den ersten Blick ungewöhnlich. Bei genauerer Betrachtung wird deutlich, dass vor allem im Falle des Keimträgertests der Übergangsbereich zwischen unwirksamen und wirksamen Konzentrationen meist über einem Prozent liegt. Das bedeutet, dass aufgrund der relativ großen Schritte von einem halben Prozent zwischen den Verdünnungsstufen offensichtlich weniger Abweichungen vorkommen.

Da in dieser Arbeit vor allem der Vergleich zwischen Makro- und Mikromethode im Vordergrund steht, sind die Ergebnisse des qualitativen Suspensionstests mit den beiden untersuchten Methoden von besonderem Interesse. Wie aus der zusammenfassenden **Abbildung 5** ersichtlich wird, war insgesamt bei der Röhrenmethode eine größere Anzahl von Abweichungen zu vermelden. **Abbildung 3** und **Abbildung 4** zeigen die Ergebnisse im Einzelnen. Kam es bei der Mikrotiterplattenmethode nur in 39,7 % der Fälle zu Unterschieden zwischen den Ansätzen, lag dieser Anteil bei der Röhrenmethode mit 45,3 % etwas höher.

Auch die Verteilung der Abweichungen zeigte bei diesem Versuch Vorteile für die Mikromethode auf. Während bei der Mikrotiterplattenmethode 97,6 % der vorkommenden Abweichungen Unterschiede um eine Konzentrationsstufe waren, machten diese in der Röhrenmethode 93,1 % aus. Umgekehrt war der Anteil der Unterschiede von zwei Stufen bei der Makromethode mit 6,9 % gegenüber 2,4 % in der Mikromethode deutlich größer.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die alternative Mikrotiterplattenmethode mindestens ebenso reproduzierbar zu sein scheint, wie die bisher durchgeführte Makromethode.

5.3.2.2 Ergebnisse der Inter-Assay-Variationen

Außer den eigentlichen Versuchen zur Inter-Assay-Variation der beiden alternativen Methoden wurde, wie bereits in **Kapitel 5.3.1** erwähnt, ein weiterer Versuch durchgeführt. Das Ziel dabei war zu zeigen, dass eine geringfügige Änderung im Prüfungsablauf, bei der

das Verhältnis des Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisches zum Flüssigmedium mit dem jeweiligen Enthammer aus praktischen Gründen von 1:100 auf 1:10 geändert wurde, nicht zu einer ernsthaften Verfälschung der Beurteilung von Präparaten führt.

Aus der zusammenfassenden **Tabelle 17** wird ersichtlich, dass es nur bei 18,5 % der Ansätze zu Abweichungen kam, die zudem alle im Bereich einer Konzentrationsstufe und damit im Rahmen der bereits festgestellten Variabilität dieser Methode lagen. Die Auswertung von jeweils zwei unabhängigen Ansätzen ergab, dass die Änderung lediglich in 6,8 % der Fälle zu einer anderen Beurteilung geführt hätte (**Tabellen 55 bis 64**).

Allerdings war insgesamt in 63,5 % der Fälle beim Versuch mit 25 µl des Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisches eine höhere Konzentration nötig. Einzelnen betrachtet waren zwar beim Mittel Aldekol Des Aktiv[®] immerhin 80 % der Ansätze eindeutig in Richtung größerer Konzentrationsstufe bei höherem Ansatzvolumen verschoben, aber im Falle von Suma Bac D10[®] war das Verhältnis nahezu ausgeglichen. Dieses Resultat weist somit zum einen darauf hin, dass es zwischen einzelnen Mitteln zu großen Unterschieden kommen kann. Weiterhin zeigt es aber auch, dass das Einführen einer höheren Ansatzmenge keineswegs zur Ermittlung einer niedrigeren Hemmkonzentration führt. Zieht man die später noch diskutierten Ergebnisse des direkten Vergleichs zwischen den Methoden hinzu, verhindert dieser erkennbare Trend eine Verschiebung zwischen der Mikro- und Makromethode (siehe **Kapitel 5.3.2.3; Tabelle 23**). Die Gefahr von Pipettierfehlern durch die Verwendung einer so geringen Ansatzmenge von 2,5 µl rechtfertigt daher die vergrößerte Menge des Ansatzvolumens.

Wendet man den Blick dem eigentlichen Vergleich der alternativen Methoden zu, so wird recht schnell deutlich, dass die Ergebnisse dieses Versuchs bei den beiden Methoden in ähnlichen Bereichen liegen.

Während es in 49,8 % der durchgeführten Vergleichsansätze in der Röhrenmethode zu Abweichungen kam, lag dieser Anteil in der Mikrotiterplattenmethode mit 45,3 % etwas niedriger (**Tabelle 16** und **Tabelle 18**). Zur Betrachtung der Verteilung der Abweichungen im Einzelnen wird an dieser Stelle auf **Abbildung 6** und **Abbildung 7** verwiesen. Sie stellen das Verhältnis der Unterschiede in Zahlen beziehungsweise in Prozenten anschaulich dar. So war der Anteil der Abweichungen um eine Konzentrationsstufe bei der Röhrenmethode geringgradig größer, umgekehrte Verhältnisse lagen in ebenso geringem Maße bei den Unterschieden um zwei Stufen vor. Unterschiede von drei Konzentrationsstufen waren bei beiden Methoden nicht festzustellen.

Die **Tabellen 19 bis 22** stellen die Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit beider Methoden in anderer Form dar. Dabei zeigt sich, dass der Variationskoeffizient der Makromethode im Durchschnitt 39,5 % beträgt, während dieser bei der Mikromethode mit 43,2 % etwas höher liegt. Auffällig bei den Ergebnissen in den genannten Tabellen war, dass die

Variationskoeffizienten einzelner Keime zu bestimmten Zeiten eine sehr große Streubreite aufwiesen. So kamen hier Koeffizienten von ca. 22 % ebenso vor, wie solche von fast 71 %. Die relativ hohen Werte könnten dadurch begründet sein, dass hier Ergebnisse zweier Mittel herangezogen wurden, bei denen schon in der routinemäßigen Prüfung die größte Zahl an Abweichungen vorkam. Diese Mittel wurden allerdings bewusst für diesen Versuch herangezogen, um ein möglichst breites Spektrum an Einflussfaktoren einzuschließen und dadurch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Bei Aldekol Des Aktiv[®] führten wahrscheinlich die niedrigen Konzentrationsstufen und die daraus entstehenden sehr geringen Abstände zwischen den Stufen zu einer hohen Streuung. Auch die 20%ige Eiweißbelastung und die Temperatur 10°C, die im Sinne einer praxisnahen Gestaltung als Faktoren in die Prüfung integriert wurden, resultierten mit hoher Wahrscheinlichkeit in einer schlechteren Reproduzierbarkeit. Im Falle von Suma Bac D10[®], welches ohne Eiweißbelastung und bei 20°C getestet wurde, ist die relativ hohe Streuung möglicherweise auf die teilweise unbeständige Wirksamkeit des Mittels zurückzuführen. Dafür spricht auch, dass neben einer hohen Anzahl von Abweichungen im qualitativen Suspensionstest bei der routinemäßigen Prüfung der Keimträgertest aufgrund fehlender Wirksamkeit auch in sehr hohen Konzentrationen nicht gewertet werden konnte.

Zusammenfassend kann nach den Ergebnissen dieses Kapitels gefolgert werden, dass die mäßige Reproduzierbarkeit der Makromethode durch die Mikromethode nicht wesentlich verbessert werden kann, da in beiden Methoden in etwa gleiche Streuungen der Ergebnisse auftreten. Beide Methoden sind daher als gleichwertig anzusehen.

5.3.2.3 Direkter Vergleich der Methoden und Resultate des Äquivalenztests

Um die beiden Alternativmethoden nicht nur indirekt anhand unabhängig voneinander durchgeführter Versuche jeder Methode zu vergleichen, wurde für den direkten Vergleich ein zusätzlicher Test durchgeführt. Wiederum wurden die Desinfektionsmittel Aldekol Des Aktiv[®] mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C und Suma Bac D10[®] ohne Eiweißbelastung bei 20°C geprüft. Die Voraussetzungen für die Ansätze der verschiedenen Methoden waren identisch (siehe **Kapitel 4.3.2.3**).

Aus der zusammenfassenden **Tabelle 23** wird deutlich, dass sich nur 25,8 % der durchgeführten parallelen Vergleichsansätze in der ermittelten wirksamen Konzentration unterschieden. Dabei überwog der Anteil der Abweichungen um eine Stufe mit 95,7 % deutlich. Dieses Ergebnis sowie die Tatsache, dass es sich bei den restlichen 4,3 % der so verglichenen Ansätze ausschließlich um Unterschiede von zwei Konzentrationsstufen handelte, weisen auf eine relativ gute Übereinstimmung der untersuchten Methoden hin. Beschränkt man sich weiter auf die Konzentrationsstufen, die derzeit nach DVG-Richtlinie tatsächlich geprüft werden (0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1,0 %, 1,5 %, ...), so nimmt die Zahl der Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Methoden deutlich ab. Anstatt der

bisherigen 25,8 % der Vergleichsansätze unterscheiden sich jetzt nur noch 11,9 %. Diese Abnahme hängt mit der Wirksamkeit von Aldekol Des Aktiv[®] bei sehr niedrigen Konzentrationen zusammen, da Resultate unter 0,1 % nun nicht mehr als verschieden angesehen werden. Die an dieser unteren Grenze liegenden Konzentrationen 0,062 % und 0,125 % wurden dabei ebenfalls als gleich bewertet. Nach Abzug der Abweichungen, bei denen dieser Fall eintrat, würde demnach keine der registrierten Unterschiede von zwei Konzentrationsstufen mehr übrig bleiben.

Auch diese Zahlen weisen wiederum darauf hin, dass die untersuchten Methoden einen hohen Grad an Deckungsgleichheit erreichten.

Allerdings war im Laufe dieser Versuche eine ungleiche Verteilung der Abweichungen zwischen den Methoden feststellbar (**Tabelle 23**). In 80,6 % der Unterschiede war bei der Röhrenmethode eine höhere Konzentrationsstufe zum Abtöten der Testorganismen nötig. Dieses Resultat lässt den Schluss zu, dass im Allgemeinen in der Makromethode etwas höhere Hemmkonzentrationen benötigt werden.

Aufgrund dieser beschriebenen ungleichen Verteilung schlug der Versuch fehl, mit einem eigens für diese Arbeit verwendeten Äquivalenztest eine Gleichheit der Methoden zu beweisen. Da der Test jeglichen Trend einer vermehrten Anzahl von Abweichungen bei einer der Methoden registriert, konnte keine Gleichheit festgestellt werden. Auch wenn lediglich Unterschiede um zwei Konzentrationsstufen in die statistischen Berechnungen einbezogen werden, sind die Methoden demnach statistisch nicht gleich. Hierbei muss jedoch erwähnt werden, dass der Nachweis der Gleichheit zweier Methoden generell ein kompliziertes statistisches Problem darstellt. Problematisch gestaltete sich in diesem Fall die Berechnung der Power. Als Power oder auch Trennschärfe wird die Wahrscheinlichkeit bezeichnet, mit der ein Test eine Abweichung von der Nullhypothese erkennt. Die bedingte Power des klassischen Tests von lediglich 16 % und die bedingte Power des Tests mit Randomisierung von 30 % sind nicht ausreichend. Bei der geforderten Toleranz von 0,4 - 0,6 ist eine Fallzahl von $N = 360$ bei 74,2 % Gleichheit stark unterpower. Das Erreichen einer akzeptablen Power würde zumindest eine Fallzahl von $N = 800$ voraussetzen, um beispielsweise auf eine akzeptable unbedingte Power des Tests mit Randomisierung von 79 % zu kommen. Alternativ könnte eine Erweiterung des Toleranzbereiches diskutiert werden.

Obwohl im Verlaufe der Miniaturisierung die Mengenverhältnisse der einzelnen Komponenten nahezu beibehalten wurden, waren aufgrund der doch deutlichen Mengenunterschiede (z.B. 10 ml im Röhren im Vergleich 225 μ l in der Mikrotiterplatte) zwischen den Methoden etwas höhere Hemmkonzentrationen bei der Makromethode abzusehen. Die höheren Konzentrationsstufen sind wahrscheinlich auf ein vermehrtes Wachstum der Testkeime aufgrund eines größeren Nährstoffangebots zurückzuführen. Dadurch werden höhere Konzentrationen des Mittels zur Inaktivierung benötigt. In dieser

Arbeit wurde nicht weiter untersucht, ob es eventuell möglich wäre durch das Einführen einer bestimmten Konstante einen rechnerischen Ausgleich dieses geringen Missverhältnisses zu schaffen.

Bei Betrachtung der Ergebnisse wurde jedoch ein weiterer Gesichtspunkt deutlich. Der erkennbare Trend, nach dem in einer Mehrzahl der Fälle beim Versuch mit 25 µl des Keimsuspension-Desinfektionsmittel-Gemisches eine höhere Konzentration nötig war, verhinderte eine zunehmende Verschiebung zwischen der Mikro- und Makromethode und wirkte sich somit positiv auf eine Vergleichbarkeit der Methoden aus (siehe **Kapitel 5.3.2.2; Tabelle 17; Tabelle 23**).

Abschließend lässt sich sagen, dass die Methoden aufgrund der häufig übereinstimmenden oder meist nur um eine Konzentrationsstufe abweichenden Ergebnisse zu sehr ähnlichen oder identischen und mit hoher Wahrscheinlichkeit auch vergleichbaren Ergebnissen führen. Trotz dieser Tatsache war allerdings das Resultat des Äquivalenztests negativ und somit besteht statistisch bei der durchgeführten Anzahl der Vergleichsansätze, keine Gleichheit der Methoden. Die zahlreichen beschriebenen Vorteile in der praktischen Anwendung untermauern jedoch die Tauglichkeit der Mikrotiterplattenmethode als Alternativmethode zum qualitativen Suspensionstest im Röhrchen.

5.4 Einsatz alternativer oder zusätzlicher Testorganismen

Das Ergebnis der Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf ihre mikrobizide Wirksamkeit wird entscheidend von der Wahl der verwendeten Testorganismen mitbestimmt (BREMER 2003). Für die Auswahl dieser Mikroorganismen lassen sich diverse Kriterien heranziehen. So forderten BORNEFF et al. (1975), dass diese vor allem nach praktischen Gegebenheiten auszurichten sei. Danach sollten die Testorganismen möglichst das gleiche Spektrum von Erregern repräsentieren, gegen die das Desinfektionsmittel in der Praxis vorgesehen ist. Eine Variante wäre hier, dass es sich bei den verwendeten Testkeimen um bedeutende Krankheitserreger handelt, wodurch ein realer Bezug zwischen der Desinfektionsmittelprüfung und dem Ziel der Anwendung dieses geprüften Mittels möglich wäre. Diese Vorgehensweise beschränkt jedoch die Verwendung des Desinfektionsmittels lediglich auf das von dem Prüfumfang abgedeckte Keimpektrum. Mit dem Ziel der Abgabe einer allgemeinen Anwendungsempfehlung wird deshalb in Deutschland und im Zuge der Harmonisierungsbestrebungen der Desinfektionsmittelprüfung auch europaweit ein anderer Weg bei der Auswahl von Testorganismen beschritten (BREMER 2003). Von der Forderung, dass es sich bei den Prüforganismen um bedeutende Krankheitserreger handeln müsse, wird demnach abgesehen und es werden vielmehr besonders resistente Mikroorganismen verwendet.

Weitere Anforderungen an Testorganismen beziehen sich auf die potentielle Gefährlichkeit der Erreger sowie ihre Vermehr- und Nachweisbarkeit. Danach soll es sich weder um Erreger von anzeigepflichtigen Tierseuchen noch um Zoonoseerreger handeln. Der Beachtung der potentiellen Gefährlichkeit wurde während der Arbeit auch dadurch Rechnung getragen, dass alle anfallenden Arbeitsschritte mit Beteiligung der Testkeime mit Handschuhen und in Mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken durchgeführt wurden. Durch diese Maßnahme wurde auch die Gefahr der Kreuzkontamination zwischen den Ansätzen verschiedener Keime reduziert.

Neben ihrer Bedeutung in der tierärztlichen Praxis spielt bei der Auswahl der Testkeime auch die Resistenz der Testorganismen eine Rolle (WALLBAUM 1972). Die auszuwählenden Mikroorganismen sollen hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse zumindest den pathogenen Erregern entsprechen, beziehungsweise eine höhere Widerstandsfähigkeit aufweisen. Somit dienen die genutzten Prüfkeime als ‚Modellkeime‘, die stellvertretend für die Prüfung mit pathogenen Erregern verwendet werden und von denen sich somit eine breiter gefächerte Anwendungsempfehlung ableiten lässt.

Die Widerstandsfähigkeit von alternativen oder zusätzlichen Testkeimen gegenüber Desinfektionsmitteln verschiedener Wirkstoffklassen und gegenüber verschiedenen Faktoren (Temperatur, Eiweiß) war ein weiterer Hauptbestandteil dieser Arbeit. Auf die Ergebnisse im

Einzelnen wurde im Ergebnisteil im **Kapitel 4.3.2.3** und in den **Tabellen 75 bis 78** im Anhang eingegangen.

Eine Auswahl der Prüforganismen, die für die Veterinärmedizin und den Lebensmittelbereich in Prüfrichtlinien und Normen genannt werden, ist in **Tabelle 7** dargestellt. Diese Arbeit befasste sich jedoch ausschließlich mit Bakterien und Pilzen, die Bestandteil der Prüfung von Desinfektionsmitteln nach DVG-Richtlinie im Bereich der Tierhaltung sind oder in diesem Zusammenhang als Alternativ- oder Zusatzkeime zur Diskussion stehen (**Kapitel 3.1.4**). Im Entwurf einer neuen Fassung der DVG-Richtlinie, angelehnt an die CEN-Richtlinie, sind beispielsweise einige der in dieser Arbeit alternativ erprobten Keime aufgeführt (ANON. 1999; ANON. 2005). Die in dieser Arbeit angesprochenen Testorganismen stehen entweder aufgrund der derzeitigen Resistenzsituation, der Häufigkeit ihres Vorkommens oder dem teilweise bereits erfolgten Eingang in europäische Richtlinien als Alternativ- beziehungsweise Zusatzkeim zur Diskussion. Zur Anwendung kommen hier nur von Stammsammlungen bezogene und gelistete Bakterien- und Pilzstämmen. So ist sichergestellt, dass eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der hier durchgeführten Versuche auch in anderen Laboratorien gewährleistet ist (HAUT und HERTER 1989).

Auch der verwendeten Keimsuspension kommt bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln eine besondere Bedeutung zu. Die Erfahrung zeigt, dass jeder Ansatz einer Bakterienkultur sich von anderen Kulturen des gleichen Bakterienstammes unterscheidet (MINER 1999). Diese und die Aussage von FÜLLHAAS et al. (1981), nach der die Art der Vorkultur der Testkeime in Bezug auf Bebrütungsdauer, -temperatur und Kulturmedium einen entscheidenden Einfluss auf die Prüfung von Desinfektionsmitteln hat, kann nach den gemachten Erfahrungen nur bestätigt werden. Kleine Veränderungen, beispielsweise im Zeitregime oder bei der Zusammensetzung der Nährmedien, waren mit Sicherheit einer der Gründe für unterschiedliche Ergebnisse in zwei unabhängigen Ansätzen.

Zwischen den von der DVG vorgegebenen Organismen und den im Rahmen der Doktorarbeit getesteten Alternativkeimen oder Zusatzkeimen waren keine nachteiligen Unterschiede in Kultivierbarkeit und Wachstum festzustellen (**Kapitel 4.4.1**). Um die Alternativkeime mit den nach DVG-Richtlinie zu prüfenden Testkeimen zu vergleichen, wurden diese bei gleichen Bedingungen geprüft. Untersucht wurde, wie bereits erwähnt, ob eventuell höhere Konzentrationen einer Reihe von Desinfektionsmitteln verschiedener Wirkstoffgruppen nötig sind, um die Alternativkeime abzutöten. Der Versuch, *Rhodococcus equi* als Zusatztestkeim unter denselben Bedingungen zu kultivieren, schlug fehl. Aufgrund der Annahme, ein unter anderen Bedingungen zu kultivierender Testkeim würde die einheitliche Prüfung aller Testorganismen verkomplizieren, wurden die Versuche nicht weiter vertieft.

5.4.1 *Enterococcus hirae*

Enterococcus hirae war von den drei getesteten alternativen oder zusätzlichen Testorganismen offensichtlich der Einzige, der sich im Vergleich mit dem bisher geprüften Keim *Enterococcus faecium* als der Resistenterere erwies. Insgesamt war *Enterococcus hirae* in 73,5 % aller durchgeführten Tests zumindest in gleichem Maße resistent wie *Enterococcus faecium*. Eine geringere Widerstandsfähigkeit trat lediglich bei 26,5 % der Fälle auf.

Während der Alternativkeim *Enterococcus hirae* sich im Reihenverdünnungstest noch als der eindeutig resistenterere Keim gegenüber den vier geprüften Desinfektionsmitteln dargestellt hatte, trat im Keimträgerstest jedoch der umgekehrte Fall ein (**Tabelle 25** und **Tabelle 26**). Der bisher geprüfte Testkeim *Enterococcus faecium* wird bei diesem Test erst bei teilweise deutlich höheren Konzentrationen der Desinfektionsmittel abgetötet. Insgesamt zeigte sich bei der Bestimmung der bakteriziden Wirkung im qualitativen Suspensionstest eine starke Abhängigkeit der Ergebnisse vom jeweiligen Desinfektionsmittel, der Eiweißbelastung, der Temperatur und der Einwirkzeit (siehe **Kapitel 4.4.2.1**; **Tabellen 75 bis 78** im Anhang).

Aufgrund der erzielten Resultate dieser Arbeit, nämlich einer vergleichbaren Kultivierbarkeit im Zusammenhang mit einer größeren Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln verschiedenster Stoffgruppen, stellt *Enterococcus hirae* insgesamt jedoch eine sinnvolle Alternative zu *Enterococcus faecium* dar.

5.4.2 *Proteus hauseri*

Insgesamt weisen die Ergebnisse der Tests mit *Proteus hauseri* im Vergleich zu *Proteus mirabilis* auf eine teilweise deutlich geringere Resistenz gegenüber den geprüften Desinfektionsmitteln hin. So war *Proteus hauseri* zwar in 40,1 % der Fälle mindestens ebenso resistent, aber eine deutlich größere Widerstandsfähigkeit war lediglich bei 16,7 % der Testansätze zu vermerken. Vor allem bei der Bestimmung der bakteriziden Wirkung im Suspensionstest und im Keimträgerstest zeigte sich *Proteus mirabilis* insgesamt als der resistenterere Testorganismus (**Tabelle 28**; **Tabellen 75 bis 78** im Anhang). Nur im Reihenverdünnungstest war *Proteus hauseri*, allerdings lediglich bei Einwirkung von Aldekol Des Azid[®] und Virucidal extra[®], der Keim mit der größeren Desinfektionsmittelresistenz (**Tabelle 27**).

Proteus hauseri zeigt somit zwar im Resistenzvergleich mit dem in der Richtlinie vorgeschriebenen *Proteus mirabilis* die deutlich schlechteren Resultate, aber diese Bakterienspezies weist gegenüber *Proteus mirabilis* eine Besonderheit auf. Während dieser auf einem festen Nähragar schwärmt, bildet *Proteus hauseri* gut voneinander abgrenzbare und sichtbare Kolonien. Diese Tatsache ist vor allem bei der Durchführung eines Oberflächenverfahrens zur Keimzahlbestimmung von beträchtlichem Vorteil.

5.4.3 *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis*

Im Gegensatz zu den bisher diskutierten Bakterien steht *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* nicht als Alternative sondern als zusätzlicher Testorganismus zur Diskussion. In dieser Arbeit wurde der Vergleich zu den beiden bisher verwendeten gramnegativen Keimen *Proteus mirabilis* und *Pseudomonas aeruginosa* gezogen, um sich so eine Vorstellung von der Resistenzlage dieses zusätzlichen Testorganismus zu verschaffen.

In den dazu durchgeführten Versuchen machte zwar die Anzahl der Fälle, in denen die Hemmkonzentration von *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* mindestens einer der beiden bisher zu testenden gramnegativen Bakterienspezies gleicht, 50,6 % aus. In nur 18,5 % der Vergleichsansätze zeigte sich dieser Keim jedoch als eindeutig widerstandsfähiger.

Während **Tabelle 29** zeigt, dass sich *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* im Reihenverdünnungstest bei den Desinfektionsmitteln Aldekol Des Azid® und Virucidal extra® noch als resistenter erwies, stellte der Bakterienstamm sich im Keimträgertest nur bei einem der getesteten Mittel als der Widerstandsfähigere heraus (**Tabelle 30**).

Somit ist der Einsatz von *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* als zusätzlicher Testkeim für den Bereich Tierhaltung wohl nur für besondere Fragestellungen wie zum Beispiel den Einsatz von Desinfektionsmitteln zur gezielten Salmonellenreduktion in Geflügel- oder Schweinebeständen angezeigt. Im Bereich Lebensmittel sollte dieser Testkeim aufgrund seiner exponierten Bedeutung und der starken Wirkstoffabhängigkeit jedoch routinemäßig mitgetestet werden (**Tabellen 75 bis 78** im Anhang).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass es in Bezug auf Kultivierbarkeit und Wachstum keine Probleme beim Einsatz der getesteten Alternativ- oder Zusatzkeime anstatt der vorgeschriebenen Organismen nach DVG-Richtlinie gab.

In Bezug auf eine höhere Resistenz kann allerdings einzig *Enterococcus hirae* als sinnvolle Alternative für den bisher vorgeschriebenen *Enterococcus faecium* empfohlen werden.

Die Eigenschaft von *Proteus hauseri*, auf festem Nähragar deutliche Kolonien zu bilden und nicht zu Schwärmen, hat bei der Keimzahlbestimmung große Vorteile und macht ihn damit durchaus ebenfalls zu einer Alternative von *Proteus mirabilis*.

Der Vorschlag der DVG im Entwurf zur neuen Fassung der Richtlinie, *Salmonella cholerasuis subsp. cholerasuis* zusätzlich fakultativ testen zu lassen, ist aufgrund der wichtigen Bedeutung des Erregers im Bereich Tierhygiene und im Lebensmittelbereich uneingeschränkt nachzuvollziehen.

Mit Blick auf die Desinfektionsmittelprüfung in Europa kann resümiert werden, dass das von MINER (1999) und vielen anderen Autoren erwähnte große Problem der Desinfektionsmittelprüfung, nämlich die fehlende Vereinheitlichung der Prüfmethode auf internationaler Basis, trotz erkennbarer Bemühungen noch nicht gelöst werden konnte. Die Arbeit der CEN stellt jedoch die Lösung dieses Problems zumindest europaweit in Aussicht.

Eine der aktuellsten und umstrittensten Fragen bleibt dabei die Frage nach den Testverfahren, die künftig nach den Richtlinien der CEN angewandt werden und damit in Deutschland in die DVG-Richtlinien Einzug halten. Nach den intensiven Erfahrungen im Verlauf dieser Arbeit hat sich der Reihenverdünnungstest mit gleichzeitigem Ermitteln des wirksamsten Enthemmers als ein wenig aufwändiger und zugleich sinnvoller Vorversuch erwiesen. Auch die Suspensionstests, qualitativ wie quantitativ, sind im Rahmen des Möglichen gut standardisierbare und reproduzierbare Prüfmethode. An dieser Stelle erscheint, aufgrund der angezeigten Vorteile in der praktischen Anwendung, die Einführung der Mikrotiterplattenmethode durchaus möglich und sinnvoll. Da der zurzeit in der Makromethode mit aufwendiger Ausplattierung durchgeführte quantitative Suspensionstest nach DVG den Laboratorien einen hohen personellen und materiellen Aufwand abverlangt, ist eine Durchführung des qualitativen Suspensionstests zur vorherigen Ermittlung der zu testenden resistenteren Keime und der nötigen Konzentrationsstufen, zumindest aus praktischer Sicht, sinnvoll. Auch der Eiweißfehler lässt sich auf diese Weise einfach und günstig feststellen.

Ein weiterer Diskussionspunkt ist immer wieder die schon 1981 von GUNDERMANN grundsätzlich gestellte Frage: Sind Endpunktbestimmungen bei der Desinfektionsmittelprüfung überhaupt erforderlich oder gibt die Keimzählung und damit die Beurteilung des dynamischen Ablaufs der Keimzahlreduktion eine bessere Bewertungsgrundlage? Diese Frage kann bis heute als nicht sicher entschieden gelten. BORNEFF et al. (1975), GUNDERMANN (1981), SCHLIESSER (1985) und HÖLLER und GUNDERMANN (1986) sind sich allerdings einig, dass über die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels auf der Fläche erst aufgrund kombinierter qualitativer und quantitativer Wirksamkeitsprüfungen befunden werden kann.

Auch die Durchführung eines praxisbezogenen Tests mit Keimträgern aus verschiedenen Materialien steht immer wieder zur Diskussion. Nach Meinung von BORNEFF et al. (1975) haben Keimträgerversuche, bei denen an verschiedenen Materialien angetrocknete Mikroorganismen in der Desinfektionsmittellösung exponiert werden, nur eine begrenzte Aussagekraft für die Eignung eines bestimmten Desinfektionsverfahrens und könnten zu ungerechtfertigten Aussagen verleiten. So könnte man beispielsweise nicht einen Keimträger in die Suspension einlegen und aus dem Resultat auf die Wirksamkeit an der Fläche schließen, da in der Praxis zu viele andere Faktoren (Ausbreitungsfähigkeit, Verdampfung, Luftfeuchte)

das Ergebnis beeinflussen, die bei dieser Vorgehensweise unberücksichtigt bleiben. Diese Bedenken erscheinen durchaus gerechtfertigt, jedoch sollte dabei immer berücksichtigt werden, dass mit einer größeren Praxisnähe in der Regel die Standardisierbarkeit und vor allem die Reproduzierbarkeit abnehmen. Zudem nimmt die Prüfung nach DVG-Richtlinie für sich nicht in Anspruch, eine ‚Garantie für eine erfolgreiche Anwendung unter Praxisbedingungen‘ zu bieten (ANON. 2000). Diese Verantwortung verbleibt bei demjenigen, der ein Desinfektionsmittel anwendet oder dessen Anwendung anordnet.

In den bisherigen Prüfrichtlinien ist lediglich im Bereich Tierhaltung ein Keimträgertest vorgeschrieben, wobei nur Holz als Trägermaterial genutzt wird. Betrachtet man die Vielfalt der Baumaterialien auf denen Desinfektionsmittel in verschiedenen Bereichen aufgetragen werden, so erscheint sowohl die Prüfung weiterer Materialien als auch das Durchführen von Keimträgertests in weiteren Bereichen sinnvoll. Im Schlussentwurf zur betreffenden EN 1656 und auch im Entwurf zur neuen Fassung der DVG-Richtlinie wurden deshalb zusätzlich Beton- und Stahlplatten als Keimträger in die Prüfung eingebracht (ANON. 1999; ANON. 2005).

Zuletzt gaben auch die vorgeschriebenen Testtemperaturen immer wieder Anlass zur Diskussion. Während für die Versuche im Bereich der Tierhaltung lediglich eine Temperatur von $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ vorgegeben ist, sind im Lebensmittelbereich auch Temperaturen unter 20°C vorgeschrieben (ANON. 2000). So werden Desinfektionsmittel, die im Kühlbereich angewendet werden sollen, zusätzlich bei $10^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ geprüft.

Nach SCHLIESSER (1974) und THIEL (1977) liegen die Stalltemperaturen in Mitteleuropa meist niedriger als die bei der labormäßigen Prüfung angewandten 20°C . In Tierställen, Kühlräumen sowie bei Desinfektionen außerhalb von Gebäuden ist somit mit niedrigeren Temperaturen der zu desinfizierenden Flächen zu rechnen. Für den Bereich ‚Tierstall‘ wurden deshalb auch vom Expertenausschuss des CEN Prüftemperaturen zwischen 2°C und 15°C gefordert (BRILL und HÖFFLER 1996). Das Einbeziehen einer niedrigeren Prüftemperatur in die Prüfrichtlinien des Bereichs Tierhygiene erscheint aufgrund der bereits genannten Sachverhalte als unumgänglich.

6 Zusammenfassung

Vergleichende Untersuchung von Alternativmethoden zur Desinfektionsmittelprüfung nach DVG-Richtlinie

Jan Rockhoff

Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Juni 2005

151 Seiten, 8 Abbildungen, 78 Tabellen, 155 Literaturstellen

Schlüsselworte: Desinfektion, Tierhaltung, Desinfektionsmittel, Desinfektionsmittelprüfung, Röhrchenmethode, Mikrotiterplattenmethode, Alternativkeime

Im Zuge der internationalen Vereinheitlichung der Desinfektionsmittelprüfung kommt es auch in Deutschland zu einer Anpassung und Neugestaltung der bestehenden Prüfrichtlinien. Dabei werden die bisher angewandten Prüfverfahren einer genauen Betrachtung und Bewertung unterzogen. Das Augenmerk richtet sich hier unter anderem auf die Suche nach möglichen Alternativen zu den material- und arbeitsintensiven Makromethoden.

Im Hinblick auf die Bewertung der derzeitigen Prüfmethode befasste sich die vorliegende Arbeit hauptsächlich mit dem Vergleich zweier alternativer Methoden des qualitativen Suspensionstests. Das derzeitige Verfahren im Röhrchen wurde mit einer alternativen Mikrotiterplattenmethode verglichen. Neben einer Verbesserung der Praktikabilität der Methoden zur Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im Suspensionstest war dabei auch die vergleichende Betrachtung der Reproduzierbarkeit der Verfahren ein Ziel der Arbeit. Darüber hinaus wurde eine Untersuchung der Eignung verschiedener Alternativ- und Zusatzkeime durchgeführt.

Die Arbeit konzentrierte sich bei den genannten Fragestellungen auf die Methoden der Prüfung von Desinfektionsmitteln an Bakterien und Pilzen für den Bereich Tierhaltung. Insgesamt wurden vier Desinfektionsmittel aus verschiedenen Wirkstoffklassen in die Untersuchungen einbezogen.

Beim Vergleich der fraglichen Methoden wurde deutlich, dass die Vorteile der Mikromethode in einer Einsparung an Arbeitszeit und Material sowie in einer Erhöhung des Probendurchsatzes und einer Verringerung der für die Prüfung notwendigen Substanzmenge liegen.

Die Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der beiden zur Diskussion stehenden Verfahren des qualitativen Suspensionstests zeigten, dass der Anteil der Abweichungen zwischen den Ansätzen in der Mikrotiterplattenmethode mit 39,7 % bzw. 45,3 % etwas niedriger lag als die ermittelten 45,3 % bzw. 49,8 % in der Röhrchenmethode. Die Verteilung der Abweichungen

bewegte sich bei den beiden Verfahren in einem vergleichbaren Bereich. Der Variationskoeffizient der Makromethode betrug im Durchschnitt 39,5 %, während dieser bei der Mikromethode mit 43,2 % etwas höher lag. Beim parallel durchgeführten, direkten Vergleich unterschieden sich nur 25,8 % der Vergleichsansätze in der ermittelten wirksamen Konzentration. Mit 95,7 % handelte es sich beim überwiegenden Anteil der Abweichungen um Unterschiede von einer Verdünnungsstufe, die somit als nicht bedeutsam anzusehen sind. In 80,6 % der Unterschiede war bei der Röhrenmethode jedoch eine höhere Konzentrationsstufe zum Abtöten der Testorganismen nötig. Aufgrund dieser ungleichen Verteilung schlug der Versuch fehl, mit einem eigens für diese Arbeit entwickelten Äquivalenztest statistisch eine Gleichheit der Methoden zu beweisen.

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse dieser Arbeit den Schluss zu, dass die alternative Mikrotiterplattenmethode mindestens ebenso reproduzierbar zu sein scheint wie die bisher durchgeführte Makromethode. Insbesondere aufgrund der aufgezeigten Vorteile in Bezug auf Praktikabilität, Durchführbarkeit sowie Material- und Arbeitsaufwand, erscheint die Mikromethode als eine ernsthafte Alternative zur bisher durchgeführten Makromethode im Röhren.

Die Betrachtung der Ergebnisse aller vorgeschriebenen Teilprüfungen nach DVG mit vier Desinfektionsmitteln zeigte auf, dass die mäßige Reproduzierbarkeit der Ergebnisse weiterhin ein Problem der Desinfektionsmittelprüfung darzustellen scheint. Fehlende Übereinstimmungen bei 44,4 % aller geprüften Doppelansätze verdeutlichen diese Annahme.

Die Untersuchungen zum Einsatz der Alternativ- oder Zusatzkeime ergaben, dass diese Keime in jeder Hinsicht gut zu kultivieren waren. Die Eigenschaft des Testkeims *Proteus hauseri* Kolonien zu bilden, erwies sich als deutlicher Vorteil dieses Alternativkeims. Nach Vergleich der jeweiligen Resistenz der Keime kann allerdings lediglich *Enterococcus hirae* als sinnvolle Alternative zum bisher vorgeschriebenen *Enterococcus faecium* empfohlen werden.

7 Summary

Comparative investigation of alternative methods in disinfectant testing according to the DVG-guideline

Jan Rockhoff

Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health
Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in June 2005

151 pages, 8 figures, 78 tables, 155 references

Keywords: disinfection, disinfectant, disinfectant testing, animal housing, tube method, microdilution method, alternative test microorganisms

In the course of international standardization of disinfectant testing, Germany must also adapt and recreate the existing testing directives. Thereby, the current methods of disinfectant testing are critically assessed. Special attention is paid to find possible alternatives to the expensive dilution methods in tubes.

Therefore, in this thesis, two alternative methods of qualitative suspension tests were compared. The current procedure using 10 millilitre test tubes was compared to an alternative microdilution method in microtiter plates. The goal of this work was to evaluate the practicability of these two methods in a suspension test for bactericidy and fungicidy, as well as comparing of the repeatability of these methods. Moreover, the selection of the proposed alternative and additional microorganisms were tested for their suitability and possible advantages.

In accordance to the above stated purposes, the work focused on disinfectant testing with bacteria and fungi which are relevant in animal housing. A total of four disinfectants, belonging to different chemical groups, were included.

When compared with the method in tubes the microdilution method showed advantages as it saves time and material, and it increases the number of possible realisable assays.

The analysis of the repeatability of both investigated methods of the qualitative suspension test showed that the rate of differences between the attempts was at the microdilution method 39.7 % and 45.3 % respectively. Whereas, these differences were determined at the tube method with 45.3 % and 49.8 % respectively. The distribution of these internal differences of both methods lay within an assimilable range. The mean coefficient of inter assay variation of the tube method was 39.5 %, whereas the mean coefficient of variation of the microdilution method was slightly higher with 43.2 %. Only 25.8 % of the determined effective disinfectant dilutions differed in the parallel accomplished direct comparison. 95.7 % of differences

differed in only one dilution step and were, thus, regarded as not significant. However, in 80.6 % of the differences, the tube method required a higher concentration of the disinfectant for killing the testorganisms. Because of these unequal distributions, it was not possible to statistically prove the equality of both methods.

In summary, the results of this thesis show that the alternative microdilution method appear to be as repeatable as the so far used tube method. Especially the mentioned advantages in practicability and material effort, make the microdilution method a serious alternative to the current tube method.

However, the results of the disinfectant testing with four disinfectants showed that the repeatability still presents a problem in disinfectant testing. Missing analogy in 44.4 % of the duplicates demonstrates this assumption.

The results also show that alternative and additional test microorganisms are easily culturable. *Proteus hauseri* has a distinct advantage because of growing in colonies. With respect to resistance, only *Enterococcus hirae* can be recommended as effective alternative for *Enterococcus faecium*.

8 Literaturverzeichnis

Andenmatten R, Reber H. Methode zur Prüfung von Flächendesinfektionsverfahren unter Anwendungsbedingungen. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]. 1984;179(4):340-64.

Anon. Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. DGHM. 3. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1972).

Anon. Antiseptiques et désinfectants utilisés a l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide (méthode pour dilution-neutralisation). AFNOR. NFT, 72-150 (1977).

Anon. Association of Official Analytical Chemists. AOAC. 13th ed. Washington, DC (1980).

Anon. Europäische Norm/Schlussentwurf pr EN 1656 - Deutsche Fassung: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika. Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich - Prüfverfahren und Anforderungen. CEN (1999).

Anon. Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. DVG. 3. Auflage, Gießen (2000).

Anon. 12. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für die Tierhaltung. DVG. Gießen (2003a).

Anon. 6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für den Lebensmittelbereich. DVG. Gießen (2003b).

Anon. Vorläufige und unvollständige Fassung der Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. DVG. 4. Auflage, Gießen (2005).

Arndt J. Desinfektion und Sterilisation in der tierärztlichen Praxis. Der praktische Tierarzt. 1983.

Autorenkollektiv. Methode zur Prüfung chemische Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. Tierhygiene-Information Eberswalde-Finow. 1987;19:62.

Ayliffe GA. Standardization of disinfectant testing. J Hosp Infect. 1989;13(3):211-6.

Beck EG, Borneff J, Grun L, Gundermann KO, Kanz E, Lammers T et al. Empfehlungen für die Prüfung und Bewertung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsverfahren. 1. Prüfung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsverfahren. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1977;165(3-4):335-80.

Bellinger H. Dreißig Jahre Desinfektion 1955-1985. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]. 1987;184(2):95-107.

Bisping W, Kirpal G. Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von Desinfektionsmitteln. 1. Mitt.: Die bakteriellen Testkeime. Arch Lebensmittelhyg. 1973;7:157-9.

Bisping W, Kirpal G. Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von Desinfektionsmitteln. 2. Mitt.: Keimträger und Keimträgerverfahren. Arch Lebensmittelhyg. 1974;4:84-8.

- Bode R. Darstellung der Desinfektionsmittelprüfungen in Deutschland. Hyg+Med. 1981;6:544-8.
- Böhm R. Organische Säuren als Desinfektionsmittel. Fleischwirtschaft. 1986;66(6):976-9.
- Böhm R. Grundlagen der Reinigung und Desinfektion. Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. Stuttgart: Enke Verlag; 2002.
- Borneff J, Eggers H-J, Grün L, Gundermann KO, Kuwert E, Lammers Th et al. Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]. 1981;172:534-62.
- Borneff J, Werner HP, van d, V, Reybrouck G. Kritische Beurteilung der Prüfmethode für chemische Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1975;160(6):590-600.
- Bräunig I. Peressigsäure - der bessere Desinfektionswirkstoff für gesunde Rinderbestände. Vet-Med Report. 2005;Sonderausgabe V1(29.Jahrgang):9.
- Bremer P. Untersuchungen zur viruziden Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln bei verschiedenen Temperaturen [Dissertation med. vet.]
Gießen: Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität; 2003.
- Brill H, Höffler J. Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln bei niedrigen Temperaturen. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle. 1996;3:277-8.
- Bruins G, Dyer JA. Environmental considerations of disinfectants used in agriculture. Rev Sci Tech. 1995;14(1):81-94.
- Devleeschouwer MJ, Dony J. An in vitro test for the evaluation of the efficacy of disinfectants. Intern J Pharmaceutic. 1981;9:49-58.
- Diehl JF. Sterilisation von Lebensmitteln durch Strahlen. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1972;156:157-70.
- Dony J, Devleeschouwer MJ. Disinfection evaluation: Preliminary laboratory in vitro test. J Pharm Belg. 1978;33:49-58.
- Dräger KG. Untersuchungen zur Prüfmethode chemischer Desinfektionsmittel auf Bakterizidie [Dissertation med. vet.]
Gießen: Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität; 1981.
- Edelmeyer H. Desinfektions-Verfahren. Fleischwirtschaft. 1976;1:44-50.
- Eggensperger H. Desinfektionsmittel auf der Basis persäureabspaltender Verbindungen. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1979;168(5-6):517-24.
- Edelmeyer H. Über Eigenschaften, Wirkungsmechanismen und Wirkungen chemischer Desinfektionsmittel. Arch Lebensmittelhyg. 1982;33(1):1-11.
- Ernst C. Optimierung von Desinfektionsverfahren in Verpflegungs- und Betreuungseinrichtungen der Bundeswehr im Hinblick auf die *Bacillus cereus* - Belastung von Oberflächen und Lebensmitteln [Dissertation med. vet.]
Berlin: Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin; 2003.
- Fraise AP. Choosing disinfectants. J Hosp Infect. 1999;43:255-64.

- Fritsche W. Mikrobiologie. 1. Auflage. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1990.
- Füllhaas J, Kaess M, Hoffstetter F. Der Einfluss des Alters des Inokulums auf die Keimreduktion im Suspensionstest. Hyg+Med. 1981;6:360.
- Geppert J. Zur Lehre von den Antisepticis. Berl klin Wschr. 1889;789.
- Gröschel D. Allgemeine Anforderungen an Desinfektionsmittel und an die Desinfektion aus der Sicht des Komitees für Mikrobiologische Maßstäbe der Desinfektion in Krankenhäusern der American Society for Microbiology. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1973;157:514-6.
- Grow AG. Writing guidelines to require disinfection. Rev Sci Tech. 1995;14(2):469-77.
- Grün L, Heyn U. Der Serumfehler in der Desinfektionspraxis. Gesundheitswesen und Desinfektion. 1974;66:182-7.
- Gundermann K-O. Entwicklung der Desinfektionsverfahren und ihrer Bewertung. Hyg+Med. 1981;6:356-9.
- Hahn W. Desinfektionsmittel - Wirkungsweise, Wirkungsspektren und toxikologische Aspekte. Hyg+Med. 1981;6:458-75.
- Hailer E. Die Desinfektion. In: Weyls Handbuch der Hygiene, Band 8. Leipzig: Verlag J. A. Barth; 1922.
- Harmsen H, Ostertag H, Rhode D. Zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Z Gesamte Hyg. 1955;142:38.
- Haut M-A, Herter N-W. Vergleichende Untersuchungen einer Mikromodifikation und der DGHM-Referenzmethode zur Wertbestimmung von Flächendesinfektionsmitteln unter praxisnahen Bedingungen [Dissertation med. vet.] Heidelberg: Abt. Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, Hygiene-Institut, Universität Heidelberg; 1989.
- Heicken K. Kommentar zur Desinfektionsmittelliste des Bundesgesundheitsamtes. Bundesgesundheitsblatt. 1966;9:65.
- Holah JT, Lavaud A, Peters W, Dye KA. Future techniques for disinfectant efficacy testing. International Biodeterioration & Biodegradation. 1998;41(3-4):273-9.
- Höller C, Gundermann K-O. Vorschlag einer quantitativen Methode für den Keimträgerversuch bei der Desinfektionsmittellistung. Hyg+Med. 1986;11:333-6.
- Horn H, Privora M, Weuffen W. Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band 1. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit; 1972.
- Hoy S. Seifenfehler. In: Wiesner E, Ribbeck R, (Hrsg.). Lexikon der Veterinärmedizin. Stuttgart: Enke im Hippokrates Verlag GmbH; 2000.
- Jeffrey DJ. Chemicals used as disinfectants: active ingredients and enhancing additives. Rev Sci Tech. 1995;14(1):57-74.
- Jentsch G. Pharmazie, Pharmakologie und Toxikologie der Desinfektionswirkstoffe 6. Hyg+Med. 1978a;3:25-7.
- Jentsch G. Pharmazie, Pharmakologie und Toxikologie der Desinfektionswirkstoffe 7. Hyg+Med. 1978b;3:52-5.

- Jentsch G. Pharmazie, Pharmakologie und Toxikologie der Desinfektionswirkstoffe 8. Hyg+Med. 1978c;3:81-4.
- Jentsch G. Pharmazie, Pharmakologie und Toxikologie der Desinfektionswirkstoffe 9. Hyg+Med. 1978d;3:125-7.
- Jono K, Takayama T, Kuno M, Higashide E. Effect of alkyl chain length of benzalkonium chloride on the bacterial activity and binding to organic materials. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1986;34:4215-44.
- Kahrs KF. General disinfection guidelines. Rev Sci Tech. 1995;14(1):105-22.
- Kelsey JC, Maurer IM. An improved Kelsey-Sykes test for disinfectants. Pharmaceutical Journal. 1974;207:528-30.
- King LJ. History and future perspectives of the use of disinfectants in animal health. Rev Sci Tech. 1995;14(1):41-6.
- Kircher D. Untersuchungen zur Effektivität von Reinigung und Desinfektion an der Innenauskleidung von Fleischtransportfahrzeugen mit Modellversuchen an künstlich kontaminierten Wandsegmenten [Dissertation med. vet.] Berlin: Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin; 1999.
- Kirchhoff H. Wirkungsmechanismen chemischer Desinfektionsmittel - II. Spezielle Reaktionsabläufe bei einzelnen Desinfektionsmitteln. Gesundheitswesen und Desinfektion. 1974;66(10):157-60.
- Kirpal G. Bakteriologische Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von chemischen Desinfektionsmittel [Dissertation med. vet.] Hannover: Tierärztliche Hochschule; 1973.
- Klawitter E. Vergleich der Desinfektionsmittelresistenz verschiedener Bakterien- und Pilzstämmen gegenüber Formaldehyd und Peressigsäure unter besonderer Beachtung der Indikatorkeimproblematik [Dissertation med. vet.] Leipzig: Wissenschaftsbereich Tierhygiene und Strahlenbiologie, Sektion Tierproduktion und Veterinärmedizin, Karl-Marx-Universität; 1980.
- Kleiner U. Der Eiweißfaktor bei der Beurteilung der Desinfektionsmitteleinwirkung. In: Machmerth R, Winkler M, Kramer A, (Hrsg.). Mikrobielle Umwelt und antimikrobielle Maßnahmen. Band 9: Fortschritte in der Krankenhaushygiene - Sterilisation, Desinfektion, Keimzahlverminderung. Leipzig: Johann Ambrosius Barth; 1984: 90-91.
- Kleiner U, Profé D, Trenner P. Erste Ergebnisse der bakteriellen Prüfung des Desinfektionsmittels Kombinal Vetasept. Mh Vet Med. 1986;41:661-4.
- Kleiner U, Trenner P. Methodische Probleme bei der bakteriologischen Laborprüfung von Desinfektionsmitteln zur Flächendesinfektion in der Veterinärmedizin. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1988a;186:138-52.
- Kleiner U, Trenner P. Anwendung eines Mikroverfahrens bei quantitativen Desinfektionsmittelprüfungen. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1988b;186:89-93.
- Kleiner U, Trenner P. Prüfmodell der bakteriologischen Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln für die Veterinärmedizin. Arch Exp Veterinarmed. 1990;44(1):103-16.
- Kliewe H, Heicken K, Schmidt B, Wagener K, Wüstenberg J, Ostertag H et al. Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1958;173:307-17.

- Koch R. Über Desinfektion. Mitt kaiserl Gesundheitsamt. 1881;1:234-82.
- Kornfeld F. Zur Beurteilung moderner Desinfektionsmittel. Alimenta. 1971;4:143.
- Kurzweg W, Steiger A, Profé D. Ökologische Aspekte des Desinfektionsmitteleinsatzes in der Tierproduktion. Arch Exp Veterinärmed. 1988;42(4):518-27.
- Lambert RJ, Johnston MD. The effect of interfering substances on the disinfection process: a mathematical model. J Appl Microbiol. 2001;91:548-55.
- Lambert RJ, Johnston MD, Simons E-A. Disinfectant testing: use of the Bioscreen Microbiological Groth Analyser for laboratory biocide screening. Letters in Applied Microbiology. 1998;26:288-92.
- Luppens SBI, Reij MW, van der Heijden RWL, Rombouts FM, Abee T. Development of a standard test to assess the resistance of Staphylococcus aureus biofilm cells to disinfectants. Applied and Environmental Microbiology. 2002;68(9):4194-200.
- Maris P. Modes of action of disinfectants. Rev Sci Tech. 1995;14(1):47-55.
- Mayr A. Der infektiöse Hospitalismus in der Tierproduktion. Der praktische Tierarzt. 1983;12:1081-94.
- Mayr A. Grundlagen der Allgemeinen Medizinischen Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. In: Rolle M., Mayr A., (Hrsg.). Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Stuttgart: Enke Verlag; 2002.
- Mehlhorn G. Lehrbuch der Tierhygiene, Teil 1. 1. Auflage. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1979.
- Meier R. Mikromethode zur In-vitro-Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Hyg+Med. 1996;21:177-89.
- Meier R, Lichtenberg F, Munzinger J, Ochs D, Siegrist H, Stephan R et al. Validierung einer Mikromethode zur Desinfektionsmittelprüfung. Hyg+Med. 2003;28(9):339-48.
- Miner N. Principles to guide international standard tests for liquid chemical germicides: A proposal. Journal of Aoac International. 1999;82(3):669-75.
- Mrozek H. Anforderungen an die Wirksamkeit von Desinfektionsverfahren und Grenzen der Realisierbarkeit. Fleischwirtschaft. 1976;2:195-98.
- Mrozek H. Der Desinfektionserfolg und sein Nachweis. Brauwelt. 1979;119:732-46.
- Müller W, Schlenker G. Kompendium der Tierhygiene. 2. Auflage. Berlin: Lehmanns Media; 2004.
- Ohgke H. Alte und neue Desinfektionsmittel. In: Sander J, Sander U, (Hrsg.). Desinfektion und Sterilisation - Referate vom 2. Fortbildungskongress Hannover, 3.-5.11.1986. Osnabrück: Monika Schliehe Verlag; 1986: 130-3.
- Ostertag H. Zur Prüfung und Beurteilung von Flächendesinfektionsmitteln. Gesundheitswesen und Desinfektion. 1971;63:2-9.
- Paul Th. Entwurf zur einheitlichen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Berlin: Julius Springer; 1901.

- Paul Th, Krönig B. Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Z Hyg Infekt -Kr. 1897;25:1.
- Payne DN, Babb JR, Bradley CR. An evaluation of the suitability of the European suspension test to reflect in vitro activity of antiseptics against clinically significant organisms. Letters in Applied Microbiology. 1999;28(1):7-12.
- Peters J, Spicher G. Grenzen der Anwendungsmöglichkeit von Desinfektionsmitteln auf der Grundlage von aktivem Sauerstoff. Hyg +Med. 1985;10:49-52.
- Phan Thuy My. Prüfmethode zur Bewertung der Bakterizidie und des Rückstandsverhaltens von in Lebensmittelbetrieben verwendeten Desinfektionsmitteln [Dissertation med. vet.] Berlin: Technische Universität; 1980.
- Rathmachers B, Borneff M. Entwicklung einer neuen Prüfmethode für Flächendesinfektionsverfahren. 4.Natürliche Absterberaten und deren Beeinflussung durch Umgebungsfaktoren. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1977;165:43.
- Reber H. Forderungen der Krankenhaushygiene an die wissenschaftliche Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln. Gesundheitswesen und Desinfektion. 1970;62:168.
- Reber, H., Fleury, C., Gaschen, M., Hess, E., Regamey, R., Ritter, P., Tanner, F., and Vischer, W. Bewertung und Prüfung von Desinfektionsmitteln und -verfahren im Auftrag der Schweizerischen Mikrobiologischen Gesellschaft. (1972).
- Reber H. Desinfektion: Vorschlag für eine Definition. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1973;157:421-38.
- Reber H. Bewertung und Prüfung von Desinfektionsmitteln und Desinfektionsverfahren. Bjull EGA. 1977;44:583-93.
- Reverdy ME, Martra A, Fleurette J. [Application of a micromethod to the study of the bactericidal activity of 2 antiseptics based on chlorhexidine gluconate]. Pathol Biol (Paris). 1986;34(5 Pt 2):688-93.
- Reybrouck G. A theoretical approach of disinfectant testing. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1975;160(4-5):342-67.
- Reybrouck G. Factors influencing the assessment of the pseudomonacidal activity of disinfectants by a quantitative suspension test. I. Influence of the growth conditions of the test organism. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1977;165(1):102-12.
- Reybrouck G. Bactericidal Activity of 40 Potential Disinfectant Inactivators. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1978;167:528.
- Reybrouck G. Efficacy of inactivators against 14 disinfectant substances. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1979;168:480-92.
- Reybrouck G. Uniformierung der Prüfung von Desinfektionsmitteln in Europa. Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hyg [B]. 1986;182(5-6):485-98.
- Reybrouck G. The testing of disinfectants. Intern Biodeterioration & Biodegradation. 1998;41:269-72.
- Reybrouck G, Werner H-P. Ausarbeitung eines neuen quantitativen In-Vitro-Testes für die bakteriologische Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1977;165:126-37.

- Rideal S, Walker TA. The standardization of disinfectants. J roy sanit Inst. 1903;24:424-41.
- Schinzel A. Grundsätzliches zu den Fragen der Keimtötung. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1973;157:517-23.
- Schliesser Th. Zum Problem der Stalldesinfektion. Tierärztliche Praxis. 1974;2:1-8.
- Schliesser Th. Tierarzt und Desinfektion. Tierärztliche Umschau. 1975;7:319-24.
- Schliesser Th. Erfahrungen mit den DVG-Prüfungsverfahren für Stalldesinfektionsmittel. In: Hilliger H, (Hrsg.). Proc. des Internationalen Kongresses für Tierhygiene: Congress-Centrum Hannover, 10.-13.Sept. 1985, Bd.2. 1985: 586-590.
- Schliesser Th, Strauch D. Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft. Stuttgart: Enke Verlag; 1981.
- Schliesser Th, Wiest JM. Zur Temperaturabhängigkeit der bakteriziden Wirkung einiger chemischer Desinfektionsmittel. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1979;169(5-6):560-66.
- Schmidt J, Naumann G, Horsch W. Sterilisation, Desinfektion und Entwesung. Leipzig: VEB Georg Thieme; 1968.
- Schmidt U. Cleaning and disinfection methods - Effect of rinsing on surface bacterial account. Fleischwirtschaft. 1989;69(1):71-4.
- Schuler A. Desinfizieren im Schlachthof und dessen Fleischkühlräumen: womit? Fleischwirtschaft. 1972;52(10):1268-70.
- Sonntag H-G. Entkeimung durch Hitze, chemische Stoffe und Strahlen. In: Sander J, Sander U, (Hrsg.). Desinfektion und Sterilisation - Referate vom 2. Fortbildungskongress Hannover, 3.-5.11.1986. Osnabrück: Monika Schliehe Verlag; 1986: 18.
- Spicher G. Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren unter besonderer Berücksichtigung der Faktoren, die ihre Wirksamkeit und Brauchbarkeit beeinflussen. Path Microbiol. 1970;36:259.
- Spicher G, Peters J. Resistenz mikrobieller Keime gegenüber Formaldehyd. I.Vergleichende quantitative Untersuchungen an einigen ausgewählten Arten vegetativer Bakterien, bakterieller Sporen, Pilze, Bakteriophagen und Viren. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1976;163(5-6):486-508.
- Spicher G, Peters J. Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln an Oberflächen in Modellversuchen. 2.Mitt.: Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von der Methodik der Desinfektion (Sprühen, Verteilen, Wischen). Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1980;170:431-48.
- Spicher G, Peters J. Resistenz mikrobieller Keime gegenüber Formaldehyd. III. Abhängigkeit des mikrobioziden Effektes von der Temperatur bei Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium und Sporen von Bacillus stearothermophilus. Zentralbl Hyg Umweltmed. 1995;196(6):545-61.
- Sporkenbach-Höffler J, Meyer-Pannwitt K, Dernick R. Die virusinaktivierende Wirkung von anorganischen Peroxyverbindungen. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1987;184:253-61.
- Sprößig M. Anwendungsmöglichkeiten der Peressigsäure für die Desinfektion und Sterilisation. Hyg+Med. 1979;4:294-9.

Sprößig M. Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten der Peressigsäure - 25 Jahre Erfahrung und Entwicklung. Hyg+Med. 1989;14:498.

Stehmann R. Vergleich der Aussagefähigkeit zweier Desinfektionskontrollmethoden auf der Basis von Indikatorkeimen [Dissertation med. vet.]
Leipzig: Wissenschaftsbereich Tierhygiene und Strahlenbiologie, Sektion Tierproduktion und Veterinärmedizin, Karl-Marx-Universität; 1983.

Steiger A. Desinfektion. 1. Auflage. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1986.

Stellmacher W, Scholz K, Preißler K. Desinfektion. 2. Auflage.
Jena: Gustav Fischer Verlag; 1974.

Stellmacher W, Schwebs M, Somnitz M. Einwirkungen verschiedener Temperaturen auf Desinfektionsmittellösungen. Arch Exp Veterinarmed. 1973a;27(2):341-7.

Stellmacher W, Schwebs M, Zerbe J. Zur Eignung der Kombinationen mikrobizid wirkender Lösungen als Grobdesinfektionsmittel. Arch Exp Veterinarmed. 1973b;27(2):349-55.

Steuer W, Lutz-Dettinger U, Schubert F. Leitfaden der Desinfektion, Sterilisation und Entwesung. 7. Auflage. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1998.

Sykes G. Disinfection and Sterilization. 2. Auflage. London: E. & F. N. Spon Ltd.; 2004.

Tamasi G. Testing disinfectants for efficacy. Rev Sci Tech. 1995;14(1):75-9.

Teuber M. Prüfung von Desinfektionsverfahren bei Pilzinfektionen. Hyg+Med. 1978;3:345-7.

Thiel N. Zum Einfluss von Stallklimafaktoren auf die Desinfektion. Tierärztliche Umschau. 1977;4:200-4.

Thiel N. Die Bedeutung des Milieus bei der Stalldesinfektion; 1.Mitt.: Der Einfluss von Komponenten des Stallmilieus auf die Desinfektion.
Der praktische Tierarzt. 1978;11:850-62.

Thiel N. Die Bedeutung des Milieus bei der Stalldesinfektion; 2.Mitt.: Die Planung und Durchführung der Stalldesinfektion unter Berücksichtigung des Stallklimas.
Der praktische Tierarzt. 1979;1:50-60.

Thiele D. Protothekosen bei Mensch und Tier sowie In-vitro-Untersuchungen zur Wirksamkeit und lokalen Euterverträglichkeit von Polyvinylpyrrolidon-Iodlösung und Lugolscher Lösung [Dissertation med. vet.]
Leipzig: Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen; 1997.

Trautwein K, Krüger G. Desinfektion in der Veterinärhygiene - Theorie und Praxis.
Tierärztliche Umschau. 1977;1:3-12.

van de Voorde H, Reybrouck G. Erfahrungen bei der Standardisierung von Prüfungsmethoden. Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1973;157:542-8.

van Klinger B, Koller W, Bloomfield SF, Böhm R., Cremieux A, Holah J et al. Assessment of the efficacy of disinfectants on surfaces. Intern Biodeterioration & Biodegradation. 1998;41:289-96.

van Klinger B, Mossel DAA. Official evaluation of disinfectants in the netherlands.
Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]. 1978;166:540-1.

- Wallbaum W. Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von Flächendesinfektionsmitteln auf bakterizide Wirkung [Dissertation med. vet.]
Gießen: Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität; 1972.
- Wallhäußer KH. Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung. 3. Auflage.
Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1984.
- Wallhäußer KH. Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung. 4. Auflage.
Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1988.
- Wegner G. Über Wirkungen und Nebenwirkungen chemischer Desinfektionsmittel. *Alimenta*. 1977;16:183-9.
- Wellek S. Statistische Methoden zum Nachweis von Äquivalenz.
Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1994.
- Werner H-P, Borneff M, Borneff J. Entwicklung einer neuen Prüfmethode für Flächendesinfektionsverfahren. 1.Mitt.: Literaturübersicht über bisherige Laboratoriumsmethoden. *Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]*. 1977;165(1):1-10.
- Werner H-P, Engelhardt Ch. Problematik der Inaktivierung am Beispiel des in-vitro-Tests. *Hyg+Med*. 1978;3:326.
- Werner H-P, Reybrouck G. Zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in Europa. Bericht über die Arbeitstagung des erweiterten Europäischen Komitees, 22.-24.9.1975 in Mainz. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg , 1 Abt Ref*. 1976;250:97-117.
- Werner H-P, Reybrouck G, Werner G. Ein Vergleich von 4 nationalen Methoden zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in 2 Laboratorien. *Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]*. 1975;160:368-91.
- Weuffen W. Die Stellung der Desinfektion und Antiseptik im antimikrobiellen Regime. *Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]*. 1973;157:524-41.
- Weuffen W, Wigert H, Friedemann J, Treuhoff I. Zur Terminologie auf dem Gebiet der Desinfektion. *Z Gesamte Hyg*. 1970;16(1):72-7.
- Weuffen W, Wigert H. Stand und Entwicklungstendenzen der Desinfektion in der DDR. *Z Gesamte Hyg*. 1972;9:633.
- Willinger H, Thiemann G. Kritische Beurteilung der Desinfektionswirkstoffe im veterinärhygienischen Bereich. *Zentralbl Bakt Hyg [Orig B]*. 1972;156(2):145-56.

Anhang

Tabellen und Abbildungen

Ergebnisse der Prüfung nach DVG-Richtlinie im Röhrchen

Tabelle 31: Reihenverdünnungstest mit Aldekol Des Aktiv®

Ergebnisse der Bakteriostase- und Fungistase Prüfung aus zwei unabhängigen Versuchen (I und II) von ALDEKOL DES AKTIV® (Angaben der MHK-Werte in Vol. %)					
Prüfstämme		ohne	mit	Kontrolle	Keimzahl/ml Ausgangskultur
		Polyvalentem Enthemmer (DVG) + 0.5% Na-Thiosulfat		Phenol-Lsg. Formalin-Lsg. ¹⁾	
<i>Staph. aureus</i>	I	0,062	0,5	0,25	4,6 x 10 ⁸
	II	0,125	0,5	0,25	6,0 x 10 ⁸
<i>E. faecium</i>	I	0,062	0,5	0,5	3,1 x 10 ⁸
	II	0,062	0,5	0,5	5,2 x 10 ⁸
<i>Proteus mirabilis</i>	I	0,125	0,5	0,5	6,0 x 10 ⁸
	II	0,25	0,5	0,25	8,0 x 10 ⁸
<i>Ps. aeruginosa</i>	I	0,125	0,5	0,25	7,2 x 10 ⁸
	II	0,062	0,5	0,25	3,0 x 10 ⁸
<i>Candida albicans</i>	I	0,25	0,5	0,5 ¹⁾	4,2 x 10 ⁸
	II	0,25	0,5	0,5 ¹⁾	2,6 x 10 ⁸

¹⁾ für *C.albicans*

Tabelle 32: Reihenverdünnungstest mit Suma Bac D10®

Ergebnisse der Bakteriostase- und Fungistase Prüfung aus zwei unabhängigen Versuchen (I und II) von SUMA BAC D10® (Angaben der MHK-Werte in Vol. %)					
Prüfstämme		ohne	mit	Kontrolle	Keimzahl/ml Ausgangskultur
		Polyvalentem Enthemmer (DVG)		Phenol-Lsg. Formalin-Lsg. ¹⁾	
<i>Staph. aureus</i>	I	0,004	3,5	0,25	3,2 x 10 ⁸
	II	0,002	3,0	0,25	4,8 x 10 ⁸
<i>E. faecium</i>	I	0,016	6,0	0,5	9,4 x 10 ⁸
	II	0,008	5,5	0,5	4,6 x 10 ⁸
<i>Proteus mirabilis</i>	I	0,25	25,0	0,25	1,1 x 10 ⁸
	II	0,25	25,0	0,25	5,6 x 10 ⁸
<i>Ps. aeruginosa</i>	I	0,25	37,5	0,25	8,4 x 10 ⁸
	II	0,25	37,5	0,25	7,4 x 10 ⁸
<i>Candida albicans</i>	I	0,016	8,5	0,5 ¹⁾	4,6 x 10 ⁸
	II	0,016	8,0	0,5 ¹⁾	3,8 x 10 ⁸

¹⁾ für *C.albicans*

Tabelle 33: Reihenverdünnungstest mit Aldekol Des Azid®

Ergebnisse der Bakteriostase- und Fungistase Prüfung aus zwei unabhängigen Versuchen (I und II) von ALDEKOL DES AZID® (Angaben der MHK-Werte in Vol. %)					
Prüfstämme		ohne	mit	Kontrolle	Keimzahl/ml Ausgangskultur
		Polyvalentem Enthemmer (DVG) + Natriumhydrogenphosphat		Phenol-Lsg. Formalin-Lsg. ¹⁾	
<i>Staph. aureus</i>	I	0,062	0,25	0,25	4,3 x 10 ⁸
	II	0,125	0,5	0,25	5,0 x 10 ⁸
<i>E. faecium</i>	I	0,062	0,5	0,5	3,2 x 10 ⁸
	II	0,125	0,5	0,5	4,2 x 10 ⁸
<i>Proteus mirabilis</i>	I	0,062	0,25	0,5	5,0 x 10 ⁸
	II	0,125	0,5	0,25	7,0 x 10 ⁸
<i>Ps. aeruginosa</i>	I	0,062	0,5	0,25	5,3 x 10 ⁸
	II	0,125	0,25	0,25	2,6 x 10 ⁸
<i>Candida albicans</i>	I	0,25	0,5	0,5 ¹⁾	2,0 x 10 ⁸
	II	0,25	0,5	0,5 ¹⁾	2,1 x 10 ⁸

¹⁾ für *C. albicans*

Tabelle 34: Reihenverdünnungstest mit Virucidal extra®

Ergebnisse der Bakteriostase- und Fungistase Prüfung aus zwei unabhängigen Versuchen (I und II) von VIRUCIDAL EXTRA® (Angaben der MHK-Werte in Vol. %)					
Prüfstämme		ohne	mit	Kontrolle	Keimzahl/ml Ausgangskultur
		Polyvalentem Enthemmer (DVG) + 0.5% Na-Thiosulfat		Phenol-Lsg. Formalin-Lsg. ¹⁾	
<i>Staph. aureus</i>	I	0,125	1,0	0,25	3,2 x 10 ⁸
	II	0,25	1,0	0,25	4,4 x 10 ⁸
<i>E. faecium</i>	I	0,125	1,0	0,25	1,5 x 10 ⁸
	II	0,25	1,0	0,5	3,6 x 10 ⁸
<i>Proteus mirabilis</i>	I	0,5	1,0	0,25	8,9 x 10 ⁸
	II	0,5	1,0	0,25	5,3 x 10 ⁸
<i>Ps. aeruginosa</i>	I	0,5	1,0	0,25	6,2 x 10 ⁸
	II	0,5	1,5	0,25	6,8 x 10 ⁸
<i>Candida albicans</i>	I	0,5	4,0	0,5 ¹⁾	2,1 x 10 ⁸
	II	0,5	4,0	0,5 ¹⁾	3,4 x 10 ⁸

¹⁾ für *C. albicans*

Tabelle 43: Keimträgertest mit Aldekol Des Aktiv®

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Keimträgertest bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)					
Prüfstämme	Konz. Vol %	Einwirkungszeit auf Holzkeimträger			
		30 min		60 min	120 min
		I	II	I	II
<i>S. aureus</i> Keimzahl/ml 6,2 x 10 ⁸ (I) 2,3 x 10 ⁸ (II)	1,5	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-
	0,25	+	+	-	-
	0,125	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	-	-
<i>E. faecium</i> Keimzahl/ml 9,0 x 10 ⁸ (I) 8,1 x 10 ⁸ (II)	2,5	+	-	-	-
	2,0	+	+	-	-
	1,5	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i> Keimzahl/ml 2,2 x 10 ⁸ (I) 5,0 x 10 ⁸ (II)	1,5	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	+
	0,25	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	+	-
<i>Ps. aeruginosa</i> Keimzahl/ml 6,7 x 10 ⁸ (I) 4,0 x 10 ⁸ (II)	1,5	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	-
	0,25	+	+	+	-
	0,125	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	-	-
<i>C. albicans</i> Keimzahl/ml 4,1 x 10 ⁸ (I) 4,9 x 10 ⁸ (II)	2,5	-	-	-	-
	2,0	+	+	-	-
	1,5	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+
	Fo. 3%	-	-	-	-

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz
Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

Tabelle 44: Keimträgertest mit Suma Bac D10[®]

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>SUMA BAC D10[®]</u> im Keimträgertest bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)							
Prüfstämme	Konz. Vol %	Einwirkungszeit auf Holzkeimträger					
		30 min		60 min		120 min	
		I	II	I	II	I	II
<i>S. aureus</i>	20,0	+	+	+	+	+	+
	17,5	+	+	+	+	+	+
	15,0	+	+	+	+	+	+
	12,5	+	+	+	+	+	+
	10,0	+	+	+	+	+	+
	3,2 x 10 ⁸ (I)	7,5	+	+	+	+	+
	1,8 x 10 ⁸ (II)	Fo. 3%	-	-	-	-	-
<i>E. faecium</i>	20,0	+	+	+	+	+	+
	17,5	+	+	+	+	+	+
	15,0	+	+	+	+	+	+
	12,5	+	+	+	+	+	+
	10,0	+	+	+	+	+	+
	5,6 x 10 ⁸ (I)	7,5	+	+	+	+	+
	4,6 x 10 ⁸ (II)	Fo. 3%	+	+	-	+	-
<i>P. mirabilis</i>	20,0	+	+	+	+	+	+
	17,5	+	+	+	+	+	+
	15,0	+	+	+	+	+	+
	12,5	+	+	+	+	+	+
	10,0	+	+	+	+	+	+
	2,4 x 10 ⁸ (I)	7,5	+	+	+	+	+
	7,2 x 10 ⁸ (II)	Fo. 3%	+	-	-	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i>	20,0	+	+	+	+	+	+
	17,5	+	+	+	+	+	+
	15,0	+	+	+	+	+	+
	12,5	+	+	+	+	+	+
	10,0	+	+	+	+	+	+
	3,8 x 10 ⁸ (I)	7,5	+	+	+	+	+
	5,7 x 10 ⁸ (II)	Fo. 3%	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	20,0	+	+	+	+	+	+
	17,5	+	+	+	+	+	+
	15,0	+	+	+	+	+	+
	12,5	+	+	+	+	+	+
	10,0	+	+	+	+	+	+
	9,2 x 10 ⁸ (I)	7,5	+	+	+	+	+
	3,8 x 10 ⁸ (II)	Fo. 3%	-	-	-	-	-

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz
Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

Tabelle 45: Keimträgertest mit Aldekol Des Azid®

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AZID® im Keimträgertest bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)								
Prüfstämme	Konz. Vol %	Einwirkungszeit auf Holzkeimträger						
		30 min		60 min		120 min		
		I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	4,5	-	-	-	-	-	-	
	4,0	+	+	-	-	-	-	
	3,5	+	+	-	-	-	-	
	3,0	+	+	-	-	-	-	
	2,5	+	+	-	+	-	-	
	2,0	+	+	+	+	-	-	
	1,5	+	+	+	+	-	+	
Keimzahl/ml 3,1 x 10 ⁸ (I) 6,4 x 10 ⁸ (II)	1,0	+	+	+	+	+	+	
	Fo. 3%	-	+	-	-	-	-	
<i>E. faecium</i>	5,5	-	-	-	-	-	-	
	5,0	+	+	-	-	-	-	
	4,5	+	+	-	-	-	-	
	4,0	+	+	+	-	-	-	
	Keimzahl/ml 9,5 x 10 ⁸ (I) 6,0 x 10 ⁸ (II)	3,5	+	+	+	+	-	-
	3,0	+	+	+	+	+	+	
		Fo. 3%	+	+	-	+	-	-
<i>P. mirabilis</i>	2,5	-	-	-	-	-	-	
	2,0	+	+	-	-	-	-	
	1,5	+	+	+	+	-	-	
	1,0	+	+	+	+	-	+	
	Keimzahl/ml 4,7 x 10 ⁸ (I) 8,6 x 10 ⁸ (II)	0,5	+	+	+	+	+	+
	0,25	+	+	+	+	+	+	
		Fo. 3%	+	+	-	-	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i>	2,5	-	-	-	-	-	-	
	2,0	-	-	-	-	-	-	
	1,5	+	+	+	+	-	-	
	1,0	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 2,0 x 10 ⁸ (I) 6,4 x 10 ⁸ (II)	0,5	+	+	+	+	+	+
	0,25	+	+	+	+	+	+	
		Fo. 3%	+	+	+	-	-	-
<i>C. albicans</i>	3,0	-	-	-	-	-	-	
	2,5	+	-	-	-	-	-	
	2,0	+	+	-	-	-	-	
	Keimzahl/ml 1,8 x 10 ⁸ (I) 3,8 x 10 ⁸ (II)	1,5	+	+	+	+	-	+
	1,0	+	+	+	+	+	+	
		Fo. 3%	+	-	-	-	-	-

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz
Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

Tabelle 46: Keimträgertest mit Virucidal extra®

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von VIRUCIDAL EXTRA® im Keimträgertest bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)							
Prüfstämme	Konz. Vol %	Einwirkungszeit auf Holzkeimträger					
		30 min		60 min		120 min	
		I	II	I	II	I	II
<i>S. aureus</i> Keimzahl/ml 2,0 x 10 ⁸ (I) 1,2 x 10 ⁸ (II)	3,0	-	-	-	-	-	-
	2,5	-	-	-	-	-	-
	2,0	+	+	+	-	-	-
	1,5	+	+	+	+	-	-
	1,0	+	+	+	+	-	-
	0,5	+	+	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	-	-	-	-
<i>E. faecium</i> Keimzahl/ml 1,2 x 10 ⁸ (I) 3,4 x 10 ⁸ (II)	3,0	-	-	-	-	-	-
	2,5	+	+	+	-	-	-
	2,0	+	+	+	+	-	-
	1,5	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	+	+	-	-
<i>P. mirabilis</i> Keimzahl/ml 8,4 x 10 ⁸ (I) 6,0 x 10 ⁸ (II)	2,0	-	-	-	-	-	-
	1,5	-	-	-	-	-	-
	1,0	+	+	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	+	+	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i> Keimzahl/ml 1,2 x 10 ⁸ (I) 5,6 x 10 ⁸ (II)	2,0	-	-	-	-	-	-
	1,5	+	+	-	-	-	-
	1,0	+	+	+	+	+	-
	0,5	+	+	+	+	+	+
	0,25	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+
	Fo. 3%	+	+	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> Keimzahl/ml 5,1 x 10 ⁸ (I) 4,7 x 10 ⁸ (II)	5,5	-	-	-	-	-	-
	5,0	+	+	-	-	-	-
	4,5	+	+	-	+	-	-
	4,0	+	+	+	+	-	-
	3,5	+	+	+	+	-	+
	3,0	+	+	+	+	+	+
	Fo. 3%	-	-	-	-	-	-

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz
Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

Ergebnisse der Prüfung nach der Alternativmethode in Mikrotiterplatten

Tabelle 47: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Aldekol Des Aktiv® bei 20°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunkt-methode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß Zeit in Minuten				mit 20% Rinderserum Zeit in Minuten												
		5		15		30		60		Konz. Vol %	5		15		30		60	
		I	II	I	II	I	II	I	II		I	II	I	II	I	II	I	II
S. aureus	0,016	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	-	-	-	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,002	+	+	+	+	+	-	-	-	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 4,3 x 10 ⁸ (I) 2,4 x 10 ⁸ (II)	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
E. faecium	0,016	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	+	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	+	-	-	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 9,2 x 10 ⁸ (I) 7,5 x 10 ⁸ (II)	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
Pr. mirabilis	0,016	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	-	-	-	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 8,4 x 10 ⁸ (I) 8,1 x 10 ⁸ (II)	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ps.aeruginosa	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	+	+	+	-	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,004	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 7,4 x 10 ⁸ (I) 2,9 x 10 ⁸ (II)	0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
C. albicans	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	-	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	+	-	+	-	+	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-
Keimzahl/ml 8,9 x 10 ⁸ (I) 2,7 x 10 ⁸ (II)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fo.3%	+	-	-	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	-	-	-	-	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 48: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Aldekol Des Aktiv® bei 10°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>ALDEKOL DES AKTIV®</u> im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß Zeit in Minuten								mit 20% Rinderserum Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml																		
4,2 x 10 ⁸ (I)																		
3,8 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,016	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	-	-
	0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml																		
4,2 x 10 ⁸ (I)																		
5,8 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,016	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	-	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	Keimzahl/ml																	
6,9 x 10 ⁸ (I)																		
5,4 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,008	+	+	+	+	-	+	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,004	+	+	+	+	+	+	-	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml																		
1,8 x 10 ⁸ (I)																		
5,3 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	0,25	+	-	+	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	+	-	+	-
	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml																		
7,6 x 10 ⁸ (I)																		
5,9 x 10 ⁸ (II)	Fo.3%	+	+	+	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	+	+	-	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin
++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 49: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Suma Bac D10[®] bei 20°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß Zeit in Minuten								mit 20% Rinderserum Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	Konz. Vol %	I	II	I	II	I	II	I	II
<i>S. aureus</i>	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	2,0	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	1,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	1,0	+	+	+	+	+	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	-	-	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 1,9 x 10 ⁸ (I) 7,5 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	-	-	-	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 2,6 x 10 ⁸ (I) 6,2 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	2,5	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	2,0	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	1,5	+	+	+	+	+	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	1,0	+	+	+	+	+	+	-	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 9,0 x 10 ⁸ (I) 3,5 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	...	+	+	-	-	-	-	-	-
	1,0	+	+	+	+	-	-	-	-	...	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	+	+	-	-	2,0	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	1,5	+	+	+	+	-	+	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
Keimzahl/ml 6,9 x 10 ⁸ (I) 2,3 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	1,5	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	1,0	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	+	-	+	-	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	Keimzahl/ml 2,2 x 10 ⁸ (I) 1,8 x 10 ⁸ (II)	Fo.3%	+	+	-	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	-	-	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin
++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 50: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Suma Bac D10® bei 10°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>SUMA BAC D10®</u> im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß Zeit in Minuten								mit 20% Rinderserum Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	Konz. Vol %	I	II	I	II	I	II		
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	+	-	-	-	-	-	
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	2,0	+	+	-	-	-	-	-	
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	1,5	+	+	-	+	-	-	-	
	0,125	+	+	+	+	+	-	-	-	1,0	+	+	+	+	+	+	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 9,0 x 10 ⁸ (I) 4,8 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	1,0	+	+	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 8,2 x 10 ⁸ (I) 1,2 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	2,5	+	+	-	-	-	-	-	
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	2,0	+	+	-	-	-	-	-	
	0,25	+	+	+	+	-	+	-	-	1,5	+	+	-	-	-	-	-	
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+	1,0	+	+	+	+	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 4,9 x 10 ⁸ (I) 7,8 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	+	+	-	-	-	-	-	
	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	...	+	+	-	-	-	-	-	
	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	...	+	+	-	-	-	-	-	
	1,0	+	+	-	-	-	-	-	-	3,0	+	+	-	+	-	-	-	
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	2,5	+	+	-	+	-	-	-	
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	2,0	+	+	+	+	-	+	-	
	Keimzahl/ml 2,6 x 10 ⁸ (I) 9,1 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	+	-	-	-	-	-	
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	1,5	+	+	-	+	-	-	-	
	0,125	+	+	+	-	+	-	-	-	1,0	+	+	+	+	-	+	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 2,0 x 10 ⁸ (I) 4,6 x 10 ⁸ (II)	Fo.3%	+	+	+	+	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	+	+	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 51: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Aldekol Des Azid[®] bei 20°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>ALDEKOL DES AZID[®]</u> im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																				
Prüfstämme	ohne Eiweiß										mit 20% Rinderserum									
	Konz. Vol %	Zeit in Minuten								Konz. Vol %	Zeit in Minuten									
		5		15		30		60			5		15		30		60			
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II				
<i>S. aureus</i>	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	1,0	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	0,5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-			
Keimzahl/ml 9,5 x 10 ⁸ (I) 3,4 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+			
<i>E. faecium</i>	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-			
	0,5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+			
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Keimzahl/ml 8,8 x 10 ⁸ (I) 7,2 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+			
<i>Pr. mirabilis</i>	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-			
	0,25	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-			
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	Keimzahl/ml 5,0 x 10 ⁸ (I) 2,8 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	-		
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-			
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-			
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+			
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	Keimzahl/ml 8,0 x 10 ⁸ (I) 3,4 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	-	-		
<i>C. albicans</i>	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-			
	3,5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-			
	3,0	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-			
	2,5	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-			
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-			
	1,5	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-			
	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	Keimzahl/ml 8,7 x 10 ⁸ (I) 7,6 x 10 ⁸ (II)	Fo.3%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	-	-	-		

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +/- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 52: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Aldekol Des Azid[®] bei 10°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AZID [®] im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß								mit 20% Rinderserum								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	-	
	2,5	+	+	-	-	-	-	-	-	3,0	+	-	-	-	-	-	-	
	2,0	+	+	+	-	-	-	-	-	2,5	+	+	-	-	-	-	-	
	1,5	+	+	+	+	-	-	-	-	2,0	+	+	+	+	+	+	+	+
	Keimzahl/ml 6,5 x 10 ⁸ (I) 6,2 x 10 ⁸ (II)	1	+	+	+	+	+	+	+	+	1,5	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	-	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	
<i>E. faecium</i>	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	-	
	1,5	-	+	-	-	-	-	-	-	3,0	+	+	+	-	-	-	-	
	1,0	+	+	-	-	-	-	-	-	2,5	+	+	+	+	-	-	-	
	0,5	+	+	+	+	+	-	-	-	2,0	+	+	+	+	+	+	-	
	Keimzahl/ml 1,5 x 10 ⁸ (I) 8,3 x 10 ⁸ (II)	0,25	+	+	+	+	+	+	-	-	1,5	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	1,0	+	+	+	+	+	+	+	
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Pr. mirabilis</i>	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	
	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	+	+	-	-	-	-	-	
	0,5	+	+	+	-	-	-	-	-	1,0	+	+	+	-	-	-	-	
	Keimzahl/ml 5,9 x 10 ⁸ (I) 3,0 x 10 ⁸ (II)	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+	+	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	
	Ph.1%	+	+	-	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	-	-	-	
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	
	Keimzahl/ml 2,2 x 10 ⁸ (I) 2,4 x 10 ⁸ (II)	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	-	-	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. albicans</i>	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	6,0	-	-	-	-	-	-	-	
	4,0	+	+	-	-	-	-	-	-	5,5	+	+	-	-	-	-	-	
	3,5	+	+	-	+	-	-	-	-	5,0	+	+	-	-	-	-	-	
	3,0	+	+	+	+	-	+	-	-	4,5	+	+	-	+	-	-	-	
	2,5	+	+	+	+	+	+	-	+	4,0	+	+	+	+	+	+	-	
Keimzahl/ml 5,7 x 10 ⁸ (I) 7,3 x 10 ⁸ (II)	2,0	+	+	+	+	+	+	+	+	3,5	+	+	+	+	+	-	-	
										3,0	+	+	+	+	+	-	-	
										2,5	+	+	+	+	+	+	+	
	Fo.3%	+	+	+	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	+	+	-	-	

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 53: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Virucidal extra® bei 20°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>VIRUCIDAL EXTRA</u> ® im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	ohne Eiweiß								mit 20% Rinderserum									
	Konz. Vol %	Zeit in Minuten				Zeit in Minuten				Konz. Vol %	Zeit in Minuten							
		5 I II	15 I II	30 I II	60 I II	5 I II	15 I II	30 I II	60 I II									
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	+	+	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	Keimzahl/ml 4,8 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	2,6 x 10 ⁸ (II)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	-	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	-	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	-	-	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-
	Keimzahl/ml 5,1 x 10 ⁸ (I)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	3,9 x 10 ⁸ (II)	0,004	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	+	-	+	-	-
	Keimzahl/ml 2,8 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	2,2 x 10 ⁸ (II)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	-	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	+	-	-	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-
	Keimzahl/ml 1,5 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	3,4 x 10 ⁸ (II)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	5,0	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	4,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	+	-	-	4,0	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	-	+	3,5	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	3,0	+	+	+	+	-	-	-	-
										2,5	+	+	+	+	+	+	-	-
	Keimzahl/ml 3,8 x 10 ⁸ (I)									2,0	+	+	+	+	+	+	-	+
	2,4 x 10 ⁸ (II)									1,5	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fo.3%	+	-	-	-	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	-	-	-	-	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin
++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 54: Qualitativer Suspensionstest in der Mikrotiterplatte mit Virucidal extra® bei 10°C

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von VIRUCIDAL EXTRA® im Suspensionstest in der Mikrotiterplatte (Endpunktmethode) ohne und mit Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	ohne Eiweiß Zeit in Minuten								mit 20% Rinderserum Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	+	+	-	-
	Keimzahl/ml	0,031	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	8,1 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	3,4 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	+	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	Keimzahl/ml	0,031	+	+	+	+	+	+	-	0,25	+	+	+	+	+	+	-	+
	2,6 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	4,2 x 10 ⁸ (II)	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	+	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	Keimzahl/ml	0,031	+	+	+	+	+	+	-	0,25	+	+	+	+	-	+	-	-
	7,8 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	9,4 x 10 ⁸ (II)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	-	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	1,0	+	+	+	+	-	-	-	-
	Keimzahl/ml	0,031	+	+	+	+	+	+	-	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
	2,9 x 10 ⁸ (I)	0,016	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	3,9 x 10 ⁸ (II)	0,008	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	Ph.1%	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0	-	+	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	6,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	6,0	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	5,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	5,0	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	4,5	+	+	+	+	-	-	-	-
										4,0	+	+	+	+	-	-	-	-
										3,5	+	+	+	+	-	+	-	-
										3,0	+	+	+	+	+	+	-	-
	Keimzahl/ml									2,5	+	+	+	+	+	+	-	-
	1,8 x 10 ⁸ (I)									2,0	+	+	+	+	+	+	+	+
	7,6 x 10 ⁸ (II)	Fo.3%	+	+	+	-	-	-	-	Fo.3%	+	+	+	+	+	-	-	-

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv; Ph. = Phenol, Fo. = Formalin
 ++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Inter-Assay-Variationen**Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina (Mikrotiterplattenmethode)****Tabelle 55:** Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz I und II)

		Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)															
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 56: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz III und IV)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (III und IV = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	+	-	+	0,031	+	+	+	+	-	+	-	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	-	+	-	+	-	0,031	+	+	+	-	+	-	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 57: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz V und VI)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (V und VI = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0,125	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 58: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz VII und VIII)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (VII und VIII = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	-	-	-	-	-	0,031	+	+	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 59: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz IX und X)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (IX und X = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	-	+	-	+	0,031	+	+	+	+	-	+	-	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	-	+	-	-	-	-	-	0,062	+	-	+	-	-	-	-	
	0,031	+	+	+	-	+	-	-	-	0,031	+	+	+	-	+	-	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	-	-	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	+	-	-	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-	
	0,125	+	+	+	+	-	+	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 60: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Suma Bac D10® (Ansatz I und II)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	+	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	-	-	0,062	+	+	+	+	-	+	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	-	-	-	-	0,5	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	+	-	+	-	-	0,125	+	+	-	+	-	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 61: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Suma Bac D10[®] (Ansatz III und IV)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (III und IV = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 62: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Suma Bac D10[®] (Ansatz V und VI)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (V und VI = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5μl : 247,5μl Zeit in Minuten								25μl : 225μl Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 63: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Suma Bac D10[®] (Ansatz VII und VIII)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>SUMA BAC D10[®]</u> im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (VII und VIII = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII		
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	1,0	-	+	-	-	-	-	
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	+	-	-	-	-	0,25	+	+	-	+	-	-	
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	-	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	+	-	-	-	-	0,25	+	+	-	+	-	-	
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	-	0,125	+	+	+	+	+	+	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	
	0,5	+	+	+	+	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	-	-	
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	
	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 64: Vergleich unterschiedlicher Ansatzvolumina mit Suma Bac D10[®] (Ansatz IX und X)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>SUMA BAC D10[®]</u> im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (IX und X = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	2,5µl : 247,5µl Zeit in Minuten								25µl : 225µl Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	1,0	-	+	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	+	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	+	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	0,5	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	+	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	+	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	-	-	-	-	-	0,5	+	+	+	+	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	-	+	-	0,125	+	+	+	-	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Vergleich zwischen Röhrchen- und Mikrotiterplattenmethode

Tabelle 65: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz I und II)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	-	+	-	0,031	+	+	+	+	-	+	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 66: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz III und IV)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (III und IV = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	-	-	-	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	+	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	-	-	-	0,031	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	-	+	-	0,125	+	+	+	-	+	-	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 67: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz V und VI)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (V und VI = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	-	0,031	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	+	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	-	-	-	0,031	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	+	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 68: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz VII und VIII)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (VII und VIII = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-	0,031	+	+	-	+	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	+	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	+	-	+	0,031	-	+	-	+	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	-	+	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	-	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 69: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Aldekol Des Aktiv® (Ansatz IX und X)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von ALDEKOL DES AKTIV® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit 20% Eiweißbelastung bei 10°C (IX und X = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Röhrchen								Mikrotiterplatte									
	Konz. Vol %	Zeit in Minuten				Zeit in Minuten				Konz. Vol %	Zeit in Minuten							
		5	15	30	60	5	15	30	60									
IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X			
<i>S. aureus</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	+	-	-	0,031	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-	0,031	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	-	-	-	-	-	-	-	0,062	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	-	+	-	+	-	-	0,031	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-	0,062	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+	0,008	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 70: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Suma Bac D10[®] (Ansatz I und II)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von <u>SUMA BAC D10[®]</u> im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (I und II = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Röhrchen										Mikrotiterplatte							
	Konz. Vol %	Zeit in Minuten				Zeit in Minuten						Konz. Vol %	Zeit in Minuten					
		5	15	30	60	5	15	30	60	5	15		30	60				
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II		
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	+	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+	-	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	+	-	+	-	0,062	+	+	+	+	-	+	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	-	+	-	+	-	0,25	+	+	-	+	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	-	+	-	-	0,5	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	+	-	+	-	0,25	+	+	-	+	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	+	-	0,125	+	+	+	+	+	-	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,016	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 71: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Suma Bac D10[®] (Ansatz III und IV)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (III und IV = unabhängige Ansätze)																		
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten								
		5		15		30		60		5		15		30		60		
		III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	III	IV	
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	+	-	+	0,25	-	+	-	+	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	-	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	-	-	-	-	-	0,125	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-	0,031	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	-	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	+	-	-	-	-	-	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	-	+	0,25	+	+	+	+	+	+	-	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	-	-	0,125	+	+	+	+	-	+	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 72: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Suma Bac D10[®] (Ansatz V und VI)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (V und VI = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI
S. aureus	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	-	-	-	-	0,125	+	+	+	+	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	-	-	0,062	+	+	+	+	+	+	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
E. faecium	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	-	-	0,031	+	+	+	+	+	+	-
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
Pr. mirabilis	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	0,5	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
Ps.aeruginosa	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	-	-	-	-	-	-	-	0,5	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+	-	+
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
C. albicans	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	+	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	+	-	+	-	-	0,125	+	+	-	+	-	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 73: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Suma Bac D10[®] (Ansatz VII und VIII)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10 [®] im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (VII und VIII = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Konz. Vol %	Röhrchen Zeit in Minuten								Mikrotiterplatte Zeit in Minuten							
		5		15		30		60		5		15		30		60	
		VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Tabelle 74: Vergleich unterschiedlicher Methoden mit Suma Bac D10® (Ansatz IX und X)

Bakterizidie- und Fungizidie-Prüfung von SUMA BAC D10® im Suspensionstest (Endpunktmethode) mit ohne Eiweißbelastung bei 20°C (IX und X = unabhängige Ansätze)																	
Prüfstämme	Röhrchen										Mikrotiterplatte						
	Konz. Vol %	Zeit in Minuten								Konz. Vol %	Zeit in Minuten						
		5		15		30		60			5		15		30		60
		IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X	IX	X
<i>S. aureus</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	-	-	-	0,25	+	+	+	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	-	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	-	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	-	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	-	-	-	-	-	0,125	+	+	+	-	-	-	-
	0,062	+	+	+	+	-	-	-	-	0,062	+	+	+	+	-	-	-
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	-	-	-	-	-	0,25	+	+	-	-	-	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	-
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps.aeruginosa</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	+	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+	+	-	-	-	0,5	+	+	+	-	+	-	-
	0,25	+	+	+	+	+	+	+	-	0,25	+	+	+	+	+	+	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+	+	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
	0,5	+	+	-	-	-	-	-	-	0,5	+	+	-	-	-	-	-
	0,25	+	+	-	+	-	-	-	-	0,25	+	+	+	-	+	-	-
	0,125	+	+	+	+	+	+	+	-	0,125	+	+	+	+	+	-	+
	0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+	+	+
	0,031	+	+	+	+	+	+	+	+	0,031	+	+	+	+	+	+	+
	0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	0,016	+	+	+	+	+	+	+

Die Vermehrung war in WSH in allen Fällen positiv

++ = Wachstum in allen Ansätzen, +- = Wachstum in mind. einem Ansatz, -- = Wachstum in keinem Ansatz

Vergleich der Ergebnisse der Prüfung mit Testorganismen nach DVG-Richtlinie und Alternativkeimen

Tabelle 75: Vergleich der bakteri- /fungiziden Wirkung unterschiedlicher Testorganismen im qualitativen Suspensionstest mit Aldekol Des Aktiv®

Desinfektionsmittel	Eiweißbelastung	Temperatur	Zeit	Ansatz	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Pr. hauseri</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. choleraesuis</i>		
Aldekol Des Aktiv®	ohne EW	20°C	5 min	1	0,016	0,031	0,016	0,008	0,016	0,031	0,008		
			15 min		0,008	0,016	0,008	0,004	0,008	0,016	0,004		
			30 min		0,004	0,008	0,004	0,002	0,004	0,016	0,002		
			60 min		0,004	0,008	0,004	0,002	0,004	0,008	0,002		
			5 min	2	0,016	0,031	0,016	0,008	0,016	0,016	0,016	0,016	
			15 min		0,008	0,008	0,004	0,004	0,004	0,016	0,004		
			30 min		0,004	0,008	0,004	0,002	0,004	0,008	0,002		
			60 min		0,004	0,004	0,004	0,002	0,004	0,008	0,002		
	20% EW	20°C	5 min	1	0,125	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,062	
			15 min		0,125	0,125	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	
			30 min		0,062	0,125	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	
			60 min		0,062	0,125	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	
			5 min	2	0,062	0,125	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062
			15 min		0,062	0,125	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062
			30 min		0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	
			60 min		0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	
	ohne EW	10°C	5 min	1	0,016	0,125	0,031	0,016	0,031	0,031	0,031	0,016	
			15 min		0,008	0,031	0,008	0,004	0,008	0,016	0,008		
			30 min		0,004	0,008	0,004	0,002	0,004	0,008	0,004		
			60 min		0,004	0,004	0,004	0,002	0,004	0,004	0,002		
			5 min	2	0,032	0,062	0,016	0,008	0,016	0,031	0,031	0,031	
			15 min		0,008	0,016	0,008	0,004	0,008	0,031	0,008		
			30 min		0,004	0,004	0,002	0,002	0,002	0,008	0,004		
			60 min		0,004	0,004	0,002	0,002	0,002	0,008	0,002		
20% EW	10°C	5 min	1	0,25	0,25	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25	0,125		
		15 min		0,125	0,062	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125	0,062		
		30 min		0,125	0,062	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125	0,062		
		60 min		0,062	0,062	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125	0,062		
		5 min	2	0,125	0,125	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25	0,125		
		15 min		0,125	0,062	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125	0,062		
		30 min		0,125	0,062	0,125	0,031	0,125	0,125	0,062			
		60 min		0,031	0,031	0,125	0,031	0,125	0,125	0,062			

Tabelle 76: Vergleich der bakteri- /fungiziden Wirkung unterschiedlicher Testorganismen im qualitativen Suspensionstest mit Suma Bac D10®

Desinfektionsmittel	Eiweißbelastung	Temperatur	Zeit	Ansatz	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Pr. hauseri</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. cholerasuis</i>
Suma Bac D10®	ohne EW	20°C	5 min	1	0,5	0,25	1,5	0,25	1,5	1,5	1,0
			15 min		0,125	0,125	0,5	0,25	0,5	1,5	0,5
			30 min		0,125	0,125	0,25	0,125	0,25	1,0	0,25
			60 min		0,062	0,032	0,25	0,125	0,25	0,5	0,125
			5 min	2	0,25	0,5	1,0	0,25	1,0	1,5	1,0
			15 min		0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	1,5	0,5
			30 min		0,062	0,125	0,25	0,125	0,25	1,0	0,25
			60 min		0,062	0,032	0,125	0,062	0,125	0,5	0,125
	20% EW	20°C	5 min	1	1,5	1,0	3,0	1,0	3,0	>13,0	2,5
			15 min		1,0	0,5	2,0	1,5	2,0	2,0	2,5
			30 min		1,0	0,5	2,0	0,5	2,0	1,5	1,5
			60 min		1,0	0,25	1,0	0,5	1,0	1,5	1,5
			5 min	2	1,0	1,5	2,5	1,5	2,5	>13,0	2,0
			15 min		1,0	0,5	2,0	1,0	2,0	2,5	2,0
			30 min		1,0	0,5	1,5	0,5	1,5	2,0	1,5
			60 min		0,5	0,5	1,5	0,5	1,5	1,5	1,5
	ohne EW	10°C	5 min	1	0,125	0,5	1,0	0,5	1,0	1,5	1,0
			15 min		0,125	0,25	0,5	0,25	0,5	1,0	0,5
			30 min		0,062	0,125	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5
			60 min		0,062	0,062	0,125	0,125	0,125	1,0	0,25
			5 min	2	0,125	0,5	1,5	0,5	1,5	1,5	1,0
			15 min		0,125	0,125	0,5	0,25	0,5	1,0	0,5
			30 min		0,062	0,125	0,5	0,25	0,5	1,0	0,5
			60 min		0,062	0,062	0,25	0,125	0,25	1,0	0,25
20% EW	10°C	5 min	1	1,5	1,5	3,0	1,5	3,0	>13,0	3,5	
		15 min		1,0	1,5	1,5	1,0	1,5	2,5	3,0	
		30 min		1,0	0,5	1,0	0,5	1,0	2,0	3,0	
		60 min		1,0	0,5	1,0	0,25	1,0	2,0	3,0	
		5 min	2	1,5	1,5	3,0	2,0	3,0	>13,0	3,5	
		15 min		1,0	1,0	1,5	1,0	1,5	3,5	2,5	
		30 min		1,0	0,5	1,0	0,5	1,0	2,5	2,5	
		60 min		1,0	0,25	1,0	0,5	1,0	2,0	2,5	

Tabelle 77: Vergleich der bakteri- /fungiziden Wirkung unterschiedlicher Testorganismen im qualitativen Suspensionstest mit Aldekol Des Azid®

Desinfektionsmittel	Eiweißbelastung	Temperatur	Zeit	Ansatz	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Pr. hauseri</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. cholerasuis</i>	
Aldekol Des Azid®	ohne EW	20°C	5 min	1	1,5	2,5	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	
			15 min		1,0	2,0	0,5	1,0	0,5	0,5	0,5	
			30 min		1,0	2,0	0,25	1,0	0,25	0,25	0,25	
			60 min		0,5	1,5	0,25	1,0	0,25	0,125	0,25	
			5 min	2	1,0	2,0	0,5	1,5	0,5	0,5	0,5	0,5
			15 min		1,0	2,0	0,5	1,0	0,5	0,25	0,25	
			30 min		0,5	1,5	0,5	1,0	0,5	0,25	0,25	
			60 min		0,5	1,5	0,25	1,0	0,25	0,062	0,125	
	20% EW	20°C	5 min	1	2,5	3,5	1,5	1,5	1,5	0,5	1,5	
			15 min		2,0	3,0	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0	
			30 min		2,0	2,5	0,5	1,5	0,5	0,5	0,5	
			60 min		1,5	2,0	0,5	1,5	0,5	0,25	0,5	
			5 min	2	2,5	3,0	1,0	1,5	1,0	1,0	1,0	
			15 min		2,0	2,5	0,5	1,5	0,5	0,5	1,0	
			30 min		1,5	2,5	0,5	1,5	0,5	0,5	0,5	
			60 min		1,5	1,5	0,5	1,0	0,5	0,25	0,5	
	ohne EW	10°C	5 min	1	1,5	2,5	1,0	0,5	1,0	1,0	1,5	
			15 min		1,0	2,0	1,0	0,25	1,0	0,25	0,5	
			30 min		1,0	2,0	0,5	0,25	0,5	0,25	0,5	
			60 min		0,25	2,0	0,5	0,125	0,5	0,125	0,25	
			5 min	2	2,0	2,5	1,0	0,5	1,0	0,5	1,5	
			15 min		1,0	2,0	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	
			30 min		0,5	2,0	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	
			60 min		0,25	1,5	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25	
20% EW	10°C	5 min	1	3,5	3,5	2,0	2,0	2,0	1,0	1,5		
		15 min		3,5	3,0	1,5	1,5	1,5	1,0	1,5		
		30 min		2,5	3,0	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0		
		60 min		2,0	2,0	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0		
		5 min	2	3,5	3,0	2,0	2,0	2,0	1,0	1,5		
		15 min		3,0	2,5	1,0	1,5	1,0	1,0	1,0		
		30 min		2,5	2,5	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0		
		60 min		2,0	2,0	0,5	1,5	0,5	0,5	1,0		

Tabelle 78: Vergleich der bakteri- /fungiziden Wirkung unterschiedlicher Testorganismen im qualitativen Suspensionstest mit Virucidal extra®

Desinfektionsmittel	Eiweißbelastung	Temperatur	Zeit	Ansatz	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Pr. hauseri</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. cholerasuis</i>
Virucidal extra®	ohne EW	20°C	5 min	1	0,062	0,125	0,125	0,062	0,125	0,062	0,125
			15 min		0,031	0,031	0,062	0,031	0,062	0,062	0,125
			30 min		0,031	0,016	0,031	0,008	0,031	0,031	0,062
			60 min		0,016	0,016	0,031	0,008	0,031	0,031	0,031
			5 min	2	0,062	0,125	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125
			15 min		0,031	0,031	0,062	0,062	0,062	0,062	0,125
			30 min		0,031	0,031	0,031	0,016	0,031	0,062	0,062
			60 min		0,016	0,016	0,016	0,008	0,016	0,016	0,031
	20% EW	20°C	5 min	1	1,0	1,5	1,5	0,5	1,5	1,0	1,0
			15 min		1,0	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5
			30 min		0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,5	0,5
			60 min		0,5	0,5	0,25	0,125	0,25	0,5	0,5
			5 min	2	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0	1,0	1,0
			15 min		0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5
			30 min		0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5
			60 min		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5
	ohne EW	10°C	5 min	1	0,125	0,125	0,125	0,062	0,125	0,125	0,125
			15 min		0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,125
			30 min		0,062	0,031	0,062	0,016	0,062	0,062	0,062
			60 min		0,031	0,016	0,031	0,008	0,032	0,031	0,031
			5 min	2	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
			15 min		0,125	0,031	0,125	0,062	0,125	0,062	0,125
			30 min		0,062	0,031	0,062	0,016	0,062	0,062	0,062
			60 min		0,031	0,016	0,031	0,008	0,031	0,031	0,031
	20% EW	10°C	5 min	1	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0	1,5	1,0
			15 min		0,5	1,0	0,5	0,25	0,5	1,5	1,0
			30 min		0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5
			60 min		0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5
5 min			2	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0	1,5	1,0	
15 min				0,5	1,0	0,5	0,5	0,5	1,5	1,0	
30 min				0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	1,0	0,5	
60 min				0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5	

Chemikalien und Reagenzien

WSH

17,5 ml einer 10%igen Lösung $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$
+ 5 ml einer 10%igen Lösung $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ in 3300 ml Aqua dest.;
Autoklavieren (15min bei $121 \pm 1^\circ\text{C}$);
pH-Wert $7,2 \pm 0,2$.

Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar (CSA)

Caseinpepton	15,0 g
Sojabohnenmehlpepton	5,0 g
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Agar	15,0 g
Aqua dest.	1000 ml
ph des fertigen Nährbodens 7,3	

40 g Trockennährboden in 1000 ml Aqua dest. unter Erwärmen lösen, im Autoklaven 15 min bei $121 \pm 1^\circ\text{C}$ sterilisieren und in heißem Zustand gut mischen.

Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung (CSL)

Caseinpepton	17,0 g
Sojabohnenmehlpepton	3,0 g
Glukose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	2,3 g
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Dikaliumphosphat (K_2HPO_4)	2,5 g
Aqua dest.	1000 ml
ph der fertigen Nährlösung 7,3	

30 g Trockennährboden in 1000 ml Aqua dest. lösen und bei $121 \pm 1^\circ\text{C}$ 15 min im Autoklaven sterilisieren.

CSA+D und CSL+D

Den festen und flüssigen Nährmedien für die Anzucht von *C. albicans* werden jeweils 2% Dextrose zugesetzt.

Bariumsulfat-Standard

90 mg Bariumchlorid auf 99 ml Aqua dest. + 1 ml 1 N Schwefelsäure

Inaktivierungsmittel (Enthemmer)

<u>Wirkstoff</u>	<u>Inaktivierungsmittel</u>
Aldehyd	0,1% Histidin
Chlorabspaltende Mittel	0,5% Natriumthiosulfat
Schwermetalle in organischer oder ionischer Bindung	0.1% Cystein
Organozinnverbindungen	3,0% Tween 80
	0,3% Lecithin
	0.1% Cystein
Quartäre Ammoniumsalze	3,0% Tween 80
	0,3% Lecithin
Phenol und Derivate	1,0% Tween 80
Amphotenside	3,0% Tween 80
	0,3% Lecithin

Bei pH-wirksamen Desinfektionsmitteln muss zusätzlich eine Pufferung im Subkulturmedium erfolgen (z.B. durch 0,1 mol/l Na_2HPO_4 für saure, bzw. 0,1 mol/l NaH_2PO_4 für alkalische Mittel).

Polyvalente Inaktivierungskombination nach DVG

3% Tween 80, 0,3% Lecithin, 3,0% Saponin, 0,1% Histidin

Phenol-Lösung

Um eine 1%ige Phenol-Lösung zu erhalten, gibt man je nach Bedarf z.B. zu 1 g kristallinem Phenol 99 ml WSH.

Formalin-Lösung

Formaldehyd solutus (=Formalin) ist eine wässrige 34,5 bis 38,0 %ige Formaldehyd enthaltende Lösung. Die Lösung muss stets frisch angesetzt werden.

Um eine 3 %ige Formalin-Lösung zu erhalten, müssen z.B. 30 ml von Formaldehyd solutus (DAB) mit WSH auf 1000ml aufgefüllt werden.

Danksagung

Zum Abschluss meiner Arbeit möchte ich all den Personen herzlich danken, die durch ihre Mitarbeit in jeglicher Form zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Insbesondere danke ich:

- Herrn Professor Dr. Uwe Tryen für die Bereitstellung und wissenschaftliche Betreuung des Themas dieser Arbeit sowie die jederzeit gewährte Hilfe.
- Herrn Dr. Uwe Rösler für die wissenschaftliche Betreuung, die Einweisung in die Thematik der Desinfektionsmittelprüfung sowie das bereitwillige Weitergeben seiner Erfahrungen und seine tatkräftige Unterstützung in allen Bereichen.
- Frau Evelin Brumme und Frau Nadja Leinecker herzlich für die stets zuverlässige Unterstützung im Labor und ihre aufmunternden Worte.
- Frau Birgit Hunsinger und Frau Beate Filohn für ihre ausführliche Beratung bei vielen praktischen Fragestellungen und die dabei aufgebrachte Geduld.
- Herrn Dr. Markus Scholz für die ausführliche Beratung und Unterstützung auf dem Gebiet der Statistik und das Programmieren des Äquivalenztests.
- Frau Dr. Sonja Wilhelm und Herrn Dr. Gerd Möbius für ihre Hilfe bei ungelösten Fragen der Statistik.
- allen Angehörigen des Instituts für Tierhygiene und öffentliches Veterinärwesen für die stets freundliche Unterstützung jeder Art, hierbei insbesondere Frau Monika Schneider und Herrn Reinhard Willig für die Schaffung eines außerordentlich angenehmen Arbeitsklimas.
- allen Doktoranden des Instituts, insbesondere Asja Möller für Rat und Verbesserungsvorschläge bei anfallenden Korrekturproblemen und Haukur Sigmarsson für seine Hilfe bei Computerfragen.
- meiner Verlobten Vivian für ihre Ratschläge, ihre Geduld, Nachsicht und liebevolle Unterstützung.
- meiner Familie für die Unterstützung zu jeder Zeit der Dissertation und des Studiums.
- allen anderen ungenannten Personen, die durch ihre Mitarbeit zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.