

Methoden der Wirksamkeitsprüfung

MONTAG · 19.03.18 · 11.30-13.00 · SAAL BERLIN 1

Optimierung der tuberkuloziden Wirksamkeitsprüfung nach DIN EN 14348

Hintergrund

Tuberkulose ist nach den Angaben der WHO eine der 10 weltweit verbreitetsten Krankheiten mit Todesfolge. Da immer häufiger Antibiotika-resistente Mykobakterien Infektionen auslösen, werden Präventivmaßnahmen, z.B. die routinemäßige und/oder gezielte Desinfektion, wichtiger als in der Vergangenheit. In Deutschland und Europa muss die tuberkulozide/mykobakterizide Wirksamkeit für alle Desinfektionsmittel im quantitativen Suspensionsversuch nach DIN EN 14348 geprüft und bestätigt werden. Speziell bei aminhaltigen Desinfektionsmitteln gab es in der Vergangenheit immer wieder Probleme bzgl. der Neutralisation, sodass es zu invaliden Kontrollen und Ergebnissen gekommen sein könnte.

Material/Methoden

Die Wirksamkeitsprüfung verschiedener aminhaltiger Wirkstofflösungen in Anlehnung an die Anforderungen der DIN EN 14348. Verwendung alternativer, nicht in der DIN EN 14348 aufgeführter Neutralisationsverfahren mit *Mycobacterium terrae*. Vergleich der Rückgewinnung von *M. terrae* von verschiedenen Membranfiltern.

Ergebnisse

Auch die Verwendung alternativer Substanzen für die chemische Neutralisation führte nicht zu validen Ergebnissen.

Bei der Neutralisation mittels kombiniertem Membranfiltrationsverfahren mit chemischer Neutralisation wurden reproduzierbar valide Daten generiert. Wiederfindungsversuche mit verschiedenen Filtern zeigten unterschiedliche Ergebnisse, so dass auch die Auswahl der Filter einen Einfluss auf die Prüfung haben kann.

Fazit

Das derzeit nicht in der DIN EN 14348 beschriebene Neutralisationsverfahren mittels Membranfiltration stellt unter vorheriger chemischer Beladung der Filter eine effektive Alternative zur derzeit nicht immer sicheren chemischen Neutralisation bei aminhaltigen Produkten dar. Dieses Verfahren würde nach Ansicht der Autoren die Sicherheit bei der Wirksamkeitsbewertung von Desinfektionsmitteln erhöhen und damit die entsprechende Präventionsmaßnahme.

Autoren

F. H. H. Brill¹, J. Lenz², N. Radischat³, C. Lach², H. Gabriel², K. Steinhauer³, L. Paßvogel³

1 Dr. Brill + Partner GmbH - Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Hamburg

2 Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, Hamburg

3 Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt

Etablierung eines realistischen mikrobiologischen Prüfverfahrens zur Ergänzung der gängigen Normen JIS Z 2801/ISO 22196

Problemstellung

Bereits in einer Vielzahl von Veröffentlichungen wurde die Infektionsgefahr von mikrobiell kontaminierten Oberflächen für Personal und Patienten in klinischen Einrichtungen beschrieben [1–5]. Ergänzend zu den Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen stellen hier zunehmend antimikrobielle Oberflächen einen zusätzlichen Faktor zur Verbesserung der Patientensicherheit dar. Die Analyse dieser antimikrobiellen Aktivität erfolgt standardmäßig nach der gängigen Norm JIS Z 2801 (bzw. ISO 22196). Hierbei werden Testmuster mit einer vorgegebenen Konzentration an Bakterien kontaminiert und mit einer Folie überschichtet. Nach Bebrütung bei festgelegten 35 °C und >90% Luftfeuchtigkeit werden die verbliebenen und lebensfähigen Keime durch Kultivierung auf Agarplatten bestimmt. Aufgrund des artifiziellen Aufbaus dieses Verfahrens ergibt sich allerdings

immer wieder die Frage nach der Aussagekraft in der praktischen Anwendung dieser Oberflächen und wie stark diese keimreduzierende Wirkung im Vergleich zu momentan gängigen Desinfektionsmaßnahmen ist.

Material und Methoden

Für eine anfängliche Bewertung der antimikrobiellen Aktivität unserer Testmuster wurde eine Standardprüfung nach JIS Z 2801 (bzw. ISO 22196) durchgeführt. Hierbei wurden Testmuster im Triplikate mit einer vorgegebenen Konzentration an Bakterien (ca. 5×10^5 /ml) kontaminiert und bei 35 °C und >90% Luftfeuchtigkeit über 24 Stunden bebrütet. Durch den Vergleich mit einem unbehandelten und unwirksamen Kontrollmuster lässt sich somit die antimikrobielle Wirksamkeit berechnen.

Um eine realistischere Einschätzung der antimikrobiellen Wirkung zu erhalten, wurden die Proben anschließend mit dem von uns entwickelten Prüfverfahren getestet. Bei diesem Ansatz werden 50 µl einer Bakteriensuspension (*Staph. aureus*; 1×10^8 /ml) auf einem antimikrobiell beschichteten Testmuster aufgetragen. Nach Eintrocknen der Proben (ca. 15 min) werden in festgelegten Zeitintervallen (30 sek. bis 60 min.) mittels Abklatschplatten (Roti-ContiPlate TSA-Letheen; Carl Roth GmbH) Proben genommen. Dies geschieht bei Raumtemperatur und bei nicht regulierter Luftfeuchtigkeit. Die Abklatschplatten werden anschließend bei 37°C für 24 Stunden inkubiert und das Keimwachstum dokumentiert und ausgewertet. Als Negativkontrolle dienen erneut unbeschichtete Muster gleicher Art.

Um die Effektivität der Keimreduktion zu beurteilen, wurden zudem Kontrollen mit gängigen Desinfektionsmitteln durchgeführt. Hierbei wurden die Testproben mit einem Desinfektionstuch überdeckt, bzw. direkt in die Lösung eingetaucht. Als Kontrolle wurde der Vorgang analog mit sterilem Wasser durchgeführt.

Ergebnisse

Als Wirksamkeitskontrolle wurde in unserem Labor zunächst eine Standardprüfung nach JIS Z 2801 durchgeführt. Die von uns überprüften unterschiedlichen antimikrobiellen Prüfkörper zeigten alle eine starke und reproduzierbare Reduktion der Keime auf den Oberflächen (>log 3 Keimreduktion).

Die Überprüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit mittels des von uns entwickelten Verfahrens ergab, dass auch unter diesen Versuchsbedingungen die Aktivität der Beschichtungen nachgewiesen werden kann. Die aufgebrachte Kontamination mit grampositiven Erregern (*Staph. aureus*) war bei einigen der Proben bereits bei der ersten Probenahme direkt nach Eintrocknen des Inokulum (ca. 15 Minuten) deutlich reduziert. Dieser Effekt konnte bei längerer Einwirkzeit noch stärker beobachtet werden. Bei analogen Beurteilungskriterien zum Standardverfahren JIS Z 2801 kann auch bei unserer Testanordnung eine starke antimikrobielle Wirksamkeit (>log 3 Keimreduktion) der Testmuster ermittelt werden.

Die Versuche mit den gängigen Desinfektionsmitteln ergaben eine starke dekontaminierende Wirkung beim Eintauchen der Testmuster in die Lösungen. Hier konnten keine Bakterien auf den Oberflächen mehr nachgewiesen werden. Durch Auflegen der Desinfektionstücher auf die Testmuster konnte jedoch keine signifikante Keimreduktion nachgewiesen werden, genauso wie bei dem analogen Vorgehen mit sterilem Wasser.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass die von uns verwendeten antimikrobiellen Testmuster eine starke Wirksamkeit aufweisen. Dies konnte sowohl mit dem Standardverfahren JIS Z 2801, als auch mit dem von uns entwickelten Testverfahren reproduzierbar gezeigt werden. Da bei der von uns entwickelten Prüfung keine festgelegten und artifiziiellen Inkubationsbedingungen gegeben sind, ist hier von einer realistischeren Aussagekraft für die tatsächliche Anwendung der Oberflächen auszugehen. Dies zeigt sich vor allem bei der Prüfung von Testmustern, welche im Standardverfahren eine schwache antimikrobieller Aktivität zeigen, diese jedoch unter realistischeren Bedingungen mit unserem Verfahren nicht mehr nachgewiesen werden kann. Interessanterweise konnten wir in unseren Versuchen zudem feststellen, dass ein reines Auflegen von Desinfektionstüchern auf kontaminierte Oberflächen keine keimreduzierende Wirkung zeigt. Hier ist die manuelle Reinigung durch Abwischen essenziell für die Dekontamination der Oberflächen. Aufgrund unserer Ergebnisse sind diese antimikrobiellen Beschichtungen als Ergänzung zu bereits bestehenden Desinfektionsmaßnahmen als zusätzliche sinnvolle Maßnahme für die Sicherheit von Personal und Patient zu sehen.

Literatur

- 1 Bundesgesundheitsbl 2014 · 57:696-732 DOI 10.1007/s00103-014-1980-x
- 2 Bericht des Nationalen Referenzzentrums (NRZ) für gramnegative Krankenhauserreger Epidemiologisches, Bulletin Nr. 25, DOI 10.17886/EpiBull-2016-041
- 3 Bures S, Fishbain JT, Uyehara CF, Parker JM, Berg BW. Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. *Am J Infect Control* 2000; 28:465-471. [PubMed: 11114617]
- 4 Noskin GA, Bednarz P, Suriano T, Reiner S, Peterson LR. Persistent contamination of fabric-covered furniture by vancomycin-resistant enterococci: implications for upholstery selection in hospitals. *Am J Infect Control* 2000;28:311-313. [PubMed: 10926709]
- 5 Zachary KC, Bayne PS, Morrison VJ, Ford DS, Silver LC, Hooper DC. Contamination of gowns, gloves, and stethoscopes with vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:560-564. [PubMed: 11732785]

Autoren

S. Buhl, A. Stich, C. Bulitta

Ostbayerische Technische Hochschule Amberg-Weiden, Institut für Medizintechnik, Weiden i. d. OPf.

Bioaktive Beschichtungen von Medizinprodukten - Quantifizierung und Performance-Tests im Hinblick auf die novellierte Medizinprodukte-Gesetzgebung

Hintergrund

Bioaktive Beschichtungen spielen eine große Rolle bei Medizinprodukten mit direktem Körperkontakt. Beispiele hierfür sind bio- und hämokompatible Beschichtungen oder Antifouling-Beschichtungen. Die Quantifizierung solcher Beschichtungen z.B. im Rahmen der ständigen Qualitätskontrolle ist technisch nicht immer einfach durchzuführen, vor allem nicht in praxisrelevanten Prüfzenarien. Vor dem Hintergrund der im Mai 2017 veröffentlichten Medizinprodukteverordnung rücken die klinische Bewertung und Usability von Medizinprodukten stark in den Fokus der regulatorischen Betrachtung. Nachweise zur biologischen Sicherheit und Wirksamkeit sind hierbei essentielle Bestandteile, wobei im Sinne der Wirtschaftlichkeit auf valide, aber nicht zu aufwändige Studienprotokolle geachtet werden muss.

Material & Methode

Vielfältige praxisnahe Prüfzenarien werden hinsichtlich ihrer Möglichkeiten und Grenzen diskutiert.

Ergebnisse

Über Zusatz speziell markierter Bestandteile während der Beschichtung wird eine detaillierte Quantifizierung von Beschichtungskomponenten ermöglicht, z.B. als Zeitkinetik

unter simuliertem Gebrauch. Zum Nachweis der Wirksamkeit von Antifouling-Beschichtungen werden Testaufbauten eingesetzt, die eine praxis-relevante Prüfung der Materialperformance erlauben. Dazu können internationale Prüfstandards zur antimikrobiellen Aktivität praxisnah modifiziert werden oder Tests mit künstlich erzeugten Biofilmen durchgeführt werden. Nicht zuletzt können Medizinprodukte auch Teil sogenannter Infektionsketten sein, bei denen Keime von Oberfläche zu Oberfläche übertragen werden (z.B. Haut-Handschuh-Kunststoff-Oberfläche). Hierzu wurden praxisnahe Transmissionsszenarien etabliert.

Fazit

Bioaktive Beschichtungen können einen Beitrag leisten Infektionsketten zu unterbrechen, woraus sich eine berechtigte Forderung an die Hersteller ableitet, diesen Aspekt bei der Entwicklung und Einführung neuer Produkte zu bedenken und zu untersuchen.

Autoren

M. Lorenz, C. Glöckner, A. Gerhardts, T. Hammer

Hohenstein Group, Bönningheim

In-vitro-Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen klinisch relevante Pilzisolat von Patienten

Hintergrund

Für Deutschland wird geschätzt, dass ca. 9 Millionen Menschen jedes Jahr an einer Pilzinfektion erkranken. Über 95% davon sind Haut-Schleimhautmykosen. 5% sind invasive Mykosen, die häufig bei immunsupprimierten Patienten auftreten. In den letzten Jahren haben sich zwei Aspekte verändert:

1. Zunehmende Resistenzentwicklung von Pilzen gegenüber Antimykotika
2. Zunahme von Infektionen von "emerging fungi" wie Mucorales, Scedosporium etc.

Der Prävention solcher Pilzinfektionen bei diesem hochsensiblen Patientengut kommt eine entscheidende Bedeutung zu. Zur Infektionsprävention tragen Desinfektionsmittel mit fungizider Wirksamkeit einen entscheidenden Beitrag. Es werden folgende Fragen adressiert:

1. Besitzen Alkohole und Peressigsäure eine vergleichbare Wirksamkeit gegenüber klinisch rele-

vanten Pilzen im Vergleich zu den Referenzstämmen *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis*?

2. Gibt es Unterschiede in der Empfindlichkeit zw. Antimykotika-resistenten und -sensiblen Isolaten gleicher Spezies

Material und Methoden

Als Prüfverfahren wurde der quantitative Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden Wirksamkeit nach DIN EN 13624 herangezogen. Als Wirkstoffe wurden Ethanol und Peressigsäure eingesetzt.

Elf klinischen Pilz-Isolate z.B. *Aspergillus fumigatus* (Azol-empfindlich), *Aspergillus fumigatus* (Azol-resistent) aus der täglichen Routineanalytik des Universitätsklinikums Essen wurden per Sequenzierung der „internal transcribed spacer“ Region identifiziert. Die Empfindlichkeitstestung gegenüber gängigen Antimykotika erfolgt im Mikrodilutionsverfahren gemäß EUCAST-Bestimmungen.

Ergebnisse

Es werden Reduktionsfaktoren gegenüber den Referenzstämmen im direkten Vergleich zu den klinischen Isolaten dargestellt. Unterschiede und Gemeinsamkeiten in der Wirkkinetik werden herausgestellt.

Schlussfolgerungen

Die Daten zeigen das klinisch relevanten Pilzen sich im Wesentlichen als sensibler im Vergleich zu den Referenzstämmen *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis* gezeigt haben sowie es keine Empfindlichkeitsunterschiede zwischen An-

timykotika-resistenten und -sensiblen Isolaten der gleichen Spezies gibt. Die klinische Relevanz bei der Infektionsprävention wird diskutiert.

Autoren

F. H. H. Brill¹, J. Steinmann²

1 Dr. Brill + Partner GmbH - Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Hamburg

2 Institut für Klinikhygiene, Medizinische Mikrobiologie und Klinische Infektiologie, Universitätsinstitut der Paracelsus Medizinischen Privatuniversität, Klinikum Nürnberg

Prüfmodell für die vergleichende Bewertung von Reinigungsmitteln zur manuellen Aufbereitung von Instrumenten - Arbeit der AG RMT der DGKH e.V.

Bei der Aufbereitung von Medizinprodukten stellt die Reinigung den ersten und wichtigsten Prozessschritt dar, bei dem organische Anschmutzungen und Mikroorganismen entfernt werden. Die anforderungsgerechte Reinigung stellt die Grundlage für die nachfolgenden Prozesse der Desinfektion und Sterilisation dar. Für die Bewertung der Wirksamkeit von Instrumentenreinigern sind gegenwärtig keine allgemein akzeptierten Prüfverfahren, bzw. Prüfmodelle verfügbar. Zur Entwicklung eines Prüfmodells zur vergleichenden Bewertung von Reinigern wurde von der DGKH e.V. die „Arbeitsgruppe Reinigungsmitteltestung“ gegründet, die sich aus Hygienikern und Experten aus Testlaboratorien und Industrie zusammensetzt. Bei den Entwicklungsarbeiten orientierte sich die AG RMT zunächst am Testmodell der ad hoc-Gruppe „Testanschmutzung und Methoden“ zum NA Med 063-04-09 unter Verwendung einer reaktivierten Blutanschmutzung auf Edelstahloberflächen. Auf der Basis mehrerer Ringversuche, die von der AG RMT durchgeführt wurden, wurde festgestellt, dass die Bewertung der Entfernung einer Blutanschmutzung auf Basis des Leitparameters Proteingehalt in einem Submers-/Tauchmodell zu geringe Anforderungen an Reiniger stellt, bzw. keine Unterschiede in der Reinigungswirkung zwischen verschiedenen Reinigern und z.B. Wasser beobachtet wurden. Nachfolgend wurde von der AG RMT eine Prüfanschmutzung auf Basis einer wasserunlöslichen hochmolekularen Fibrinanschmutzung etabliert, die es erstmals erlaubt, die Wirkung verschiedener

Reinigern (z.B. alkalisch vs. enzymatisch) vergleichend zu bewerten. Es werden der aktuelle Stand der Entwicklungen zusammen mit Ergebnissen der Ringversuche präsentiert.

Autoren

M. Wehr¹, R. Bloß², F. Brill³, P. Frey⁴, H. Gabriel³, J. Gebel⁵, A. Hartung⁶, A. Kampe³, G. Kirmse⁷, S. Koch⁵, S. Krüger⁸, D. Martini², H. Martiny⁹, W. Michels¹⁰, O. Riebe¹¹, U. Rosenberg¹², K. Roth⁴, L. Schnieder⁴, M. Tschoerner¹³, U. Weber¹⁴

1 wfk - Cleaning Technology Institute e.V.

2 Bode Chemie GmbH, Hamburg

3 Dr. Brill + Partner GmbH, Hamburg

4 SMP GmbH, Tübingen

5 IHPH, Universitätsklinikum Bonn AöR, Bonn

6 Schülke & Mayr GmbH, Frankfurt a. M.

7 Aesculap AG, Tuttlingen

8 Hygiene Consulting Grünendeich

9 Technische Hygiene, Berlin

10 Prüflabor DWM, Warburg

11 HygCen Germany GmbH, Schwerin

12 Borer Chemie AG, Zuchwil

13 Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, Hamburg

14 Miele & Cie. KG, Gütersloh

Disclosure: Repräsentanten verschiedener Hersteller von Prozesschemikalien sind in der Arbeitsgruppe Mitglieder und stellen diskriminierungsfrei Testprodukte und Informationen zur Verfügung.

Vergleichende Untersuchung zur Inaktivierung des Polyomavirus SV40 als Surrogat für humane Papillomviren im quantitativen Suspensionsversuch: Eine gemeinsame Studie von DVV und VAH mit dem NRZ für Papillom- und Polyomaviren

Humane Papillomviren sind DNA-Viren, die kutane und mukosale Epithelien infizieren und verschiedene maligne und benigne Tumore, wie Zervix-, Anal-, Vulva-, Vagina-, Penis-, Oropharynx-Karzinome, sowie zahlreiche Warzenarten verursachen. Persistierende Hochrisikotypen, insbesondere HPV16, sind als notwendige Voraussetzung für die Entstehung dieser Karzinome anerkannt. Daher interessieren sich Gynäkologen und Aufsichtsbehörden aktuell für die Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln gegenüber diesem Virus. Da die Reifung des HPV an den Differenzierungsgrad des infizierten Keratinozyten gekoppelt ist, ist es in Monolayer-Zellkultur nicht anzüchtbar. Folglich wurde SV40 bisher als Surrogat für HPV angesehen. Das Ziel dieser Studie ist es, die Wirksamkeit einiger Desinfektionsmittelwirkstoffe gegenüber HPV16 und SV40 zu vergleichen. Hierzu werden synthetische HPV16-Pseudoviren verwendet, die in 293TT Zellen über Transfektion von Plasmiden die

a) für die viralen Strukturproteine L1 und L2 und b) für eine EGFP-kodierende Replikations-Kassette produziert werden können. HPV-Pseudoviren-haltige Zellkulturüberstände werden aufbereitet und anschließend mit den zu testenden Desinfektionsmitteln inkubiert. Die verbliebene Infektiosität der behandelten Pseudoviren wird über Infektion von Wildtyp-Zellen quantifiziert. Erste Daten dieser Studie werden präsentiert.

Autoren

M. Hufbauer^{1,2}, U. Wieland^{1,2}, B. Akgül^{1,2}, M. Eggers³

1 Institut für Virologie, Universität zu Köln und

2 Nationales Referenzzentrum für Papillom- und Polyomaviren, Fürst-Pückler-Str. 56, 50935 Köln

3 Labor Enders MVZ GbR Rosenbergstraße 85, 70193 Stuttgart