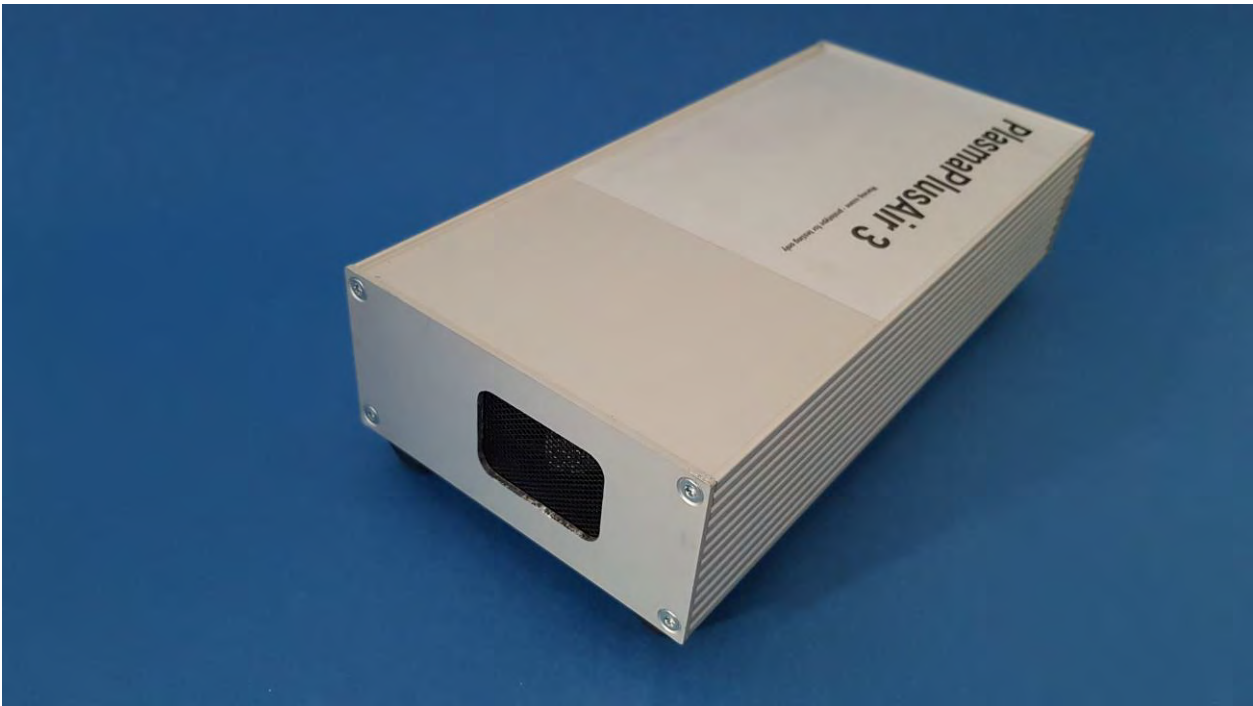


Prüfbericht

Bestimmung der Desinfektionswirkung des Verfahrens
„Plasma Plus Air 3“
am Modell von Enterococcus faecium
unter Anwendung des Quantitativen Suspensionsversuchs mit Keimträgern
nach den Vorgaben der Standardprüfverfahren der
Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)



Kooperationsprojekt zwischen
Umwelthygiene Marburg GmbH & Co. KG und Dr. Schmelz GmbH Malsfeld

Durchführung der Untersuchungen:
03.04.2020 bis 15.04.2020

Datum des Prüfberichts: 15.04.2020

1. Fragestellung und Darstellung der Methodik:

Das Gerät „Plasma Plus Air 3“ erzeugt durch stille Entladung an entsprechenden Elektroden eine Umsetzung des Sauerstoffs der Luft zu Hydroxylradikalen. Die Hydroxylradikale stellen das Wirkagens dar.

Hierzu wird die Umgebungsluft am Boden des Geräts durch einen Ventilator angesaugt und im Gerät an den Elektrodenoberflächen entlang geleitet. Im Bereich der Elektrodenoberflächen ist das Gasgemisch Luft leitfähig, sodass dort ein atmosphärisches Niedertemperaturplasma entsteht. In dem Plasmazustand des Gasgemischs Luft wird die oben beschriebene Umsetzung des Luftsauerstoffs zu Hydroxylradikalen vollzogen.

Dazu ist eine bestimmte Elektrodenkonfiguration und eine bestimmte Elektrodenoberfläche notwendig, die herstellerseitig entsprechend installiert ist.

Durch Veränderung der Spannung zwischen den Elektroden kann bei einem Ruhepotential von 1750 Volt (1,75kV) weitgehend sichergestellt werden, dass fast ausschließlich Hydroxylradikale entstehen. Eine Ozonbildung unterbleibt bei dieser Spannung.

Durch ein Drehpotentiometer an der Rückseite des Geräts kann die Elektrodenspannung stufenlos auf 3500 Volt (3,5kV) erhöht werden, sodass zwischen 1750 Volt und 3500 Volt ebenfalls stufenlos eine Ozonbildung einsetzt. Das bedeutet, dass das Gerät optional (!) neben Hydroxylradikalen auch Ozon zu bilden vermag, was für forcierte Entkeimung oder Desodorierungsmaßnahmen (Entfernung von Störgerüchen) verwendet werden könnte.

Als Wirkagens für den bestimmungsgemäßen Einsatz sind die Hydroxylradikale zu beschreiben. Diese weisen eine starke denaturierende (verändernde) Eigenschaft gegenüber singulären Zellen (Bakterien, Pilze) und auf singuläre zellähnliche Assoziate (Viren) auf. Vornehmlich ungesättigte Fettsäuren der Fette der Zellmembran werden oxidiert. Dadurch wird die Zellmembran zerstört, bzw. die Durchlässigkeit erhöht.

Zellverbände höherer Zellen, z.B. pflanzliche Zellen oder tierische Zellen werden hingegen in keiner Weise beeinträchtigt, da die Zusammensetzung der Fette der Zellmembranen eine andere ist.

Im Hinblick auf stille elektrische Entladungen mit Ausformung eines Plasmazustands ist immer die Bildung von Stickoxiden (NO_x) möglich. Dies ist aber aufgrund der chemischen Stabilität des Stickstoffgasmoleküls durch eine Dreifachbindung und eine sp-Hybridisierung der beteiligten Atome nur in dem Falle möglich, sofern, die Elektrodenspannung deutlich über 3 kV liegt. Das geprüfte Gerät beinhaltet eine technische Begrenzung der Elektrodenspannung auf 3,5kV, sodass eine Stickoxidbildung chemisch und physikalisch nicht möglich ist.

Daher kann das Verfahren als sicheres Verfahren bezeichnet werden und ist interessant im Hinblick auf die Inaktivierung von Mikroorganismen im fortlaufenden Betrieb unter Zugewesen von Personen.

Die Anwendung von Plasma, bzw. die Veränderung des Luftsauerstoffs durch den Plasmazustand, wird in bestimmten technischen Nischenbereichen bereits genutzt: Dazu zählt die Entkeimung von Pfandflaschen vor erneuter Verwendung, sowie die Entkeimung von kältetechnischen Geräten. Weiterhin wird ebenfalls der Einsatz dieses Verfahrens zur Wunddesinfektion geprüft.

Der hier geprüfte Plasmagenerator weist einen Luftdurchsatz von 12m³/h auf. Der Einsatz wird empfohlen für Räume bis ca. 40m², sowie im Nahfeld von Personen, welche gegenüber Aerosol-Kontaminationen geschützt werden sollen. Weiterhin wird der Plasmagenerator auch in zwei höheren Leistungsstufen angeboten.

Die Wirkstärke der Keiminaktivierung soll in einem Modellversuch mit dem Testkeim *Enterococcus faecium*, der ein Standardtestkeim für Desinfektionsprozesse ist (z.B. Spülmaschinen, Waschmaschinen, Reinigungs- und Desinfektionsgeräte), geprüft werden.

Ist eine entsprechende Inaktivierungsleistung gegenüber *Enterococcus faecium* gegeben, werden damit auch sämtliche behüllte (lipophile) Viren erfasst. Da bestimmte Viren, z.B. Viren, welche Atemwegsinfektionen auslösen (z.B. Rhinoviren, Coronaviren), aerogen übertragen werden, ergäbe sich bei entsprechender antimikrobieller Wirksamkeit eine Anwendung im Rahmen der Raumlufedesinfektion oder der fortlaufenden Desinfektion im Nahfeld von Personen (z.B. bei zahnärztlicher Behandlung oder in öffentlichen Verkehrsmitteln).

Gleichzeitig ist bekannt, dass aerogen emittierte Erreger in Räumen nach unbestimmter Zeit auf Oberflächen sedimentieren. Auch im Bereich der Oberflächen ist eine Desinfektion durch das zu prüfende Verfahren annehmbar.

Die antimikrobielle Wirksamkeit wird für diese Begutachtung mittels eines Inaktivierungsversuchs an Oberflächen geprüft. Sofern an den Oberflächen (als stofflich dichte Korrelate) eine Inaktivierung zu erkennen ist, ergibt sich gleichzeitig daraus die Tatsache, dass auch die Luft selbst entkeimt wird.

Dies ist möglich, da in der Luft entsprechende Mikroorganismen im Vergleich zu Oberflächen in viel geringerer Anzahldichte verteilt sind (Gas versus fester Werkstoff der Oberfläche).

Die Prüfung erfolgt im Quantitativen Suspensionsversuch nach DGHM Vorgaben.

Hierzu wird ein Testkeim auf Edelstahlbleche aufgetragen, anschließend werden die Prüfkörper gegenüber dem Verfahren exponiert, darauf folgend werden die Keime abgeschwemmt und es wird eine dekadische Verdünnungsreihe (in Zehnerpotenzen) angelegt. Von jedem Verdünnungsschritt wird ein Aliquot auf einen Nährboden aufgebracht und anschließend inkubiert. Parallel wird eine Kontrollprobe ohne Exposition zur Feststellung der Ausgangskeimzahl (initiale Keimzahl) angelegt.

Von der initialen Keimzahl wird die Keimzahl nach Exposition gegenüber dem Verfahren subtrahiert, dadurch wird der logarithmische Reduktionsfaktor berechnet.

Dieser gibt an, um wie vielfach eine Ausgangskeimzahl durch das betrachtete Verfahren reduziert wird.

Als Grundanforderung der DGHM an eine suffiziente Desinfektion wird eine Reduktionsleistung von mindestens 3 Zehnerpotenzen gefordert.

Da das Verfahren nur wirksam ist, sofern der zugehörige Plasmagenerator aktiv ist, ist eine Inaktivierung (Enthemmung des Desinfektionsmittels) hier nicht erforderlich. Die Desinfektionszeit wird allein durch die Expositionszeit der Prüfkörper gegenüber dem Verfahren begrenzt.

Eine Desinfektion soll als mikrobiozider Vorgang einen Gegenstand, eine Oberfläche oder die Luft in einen Zustand versetzen, von welchem keine Infektionsgefahr mehr

ausgeht. Das bedeutet, dass eine initiale Keimlast soweit reduziert werden muss, dass von den verbleibenden restlichen Keimen keine Infektionsgefahr mehr ausgeht. In der Regel sind geringe zurückbleibende Hintergrundkeimlasten (z.B. 10 bis 100 Mikroorganismen pro Gegenstand) unproblematisch, weil die vorhandene Keimzahl dann in der Regel unter der Infektionskeimzahl liegt. In diesem Falle liegt ein aspetischer Zustand vor, der nichts anderes beschreibt, als die Tatsache, dass in keine Infektionsgefahr mehr besteht.

2. Material und Methoden:

2.1 Material

- Grundausrüstung eines mikrobiologischen Labors:
 - Pipetten, steril
 - Pinzetten, steril
 - Impfösen
 - Drigalski-Spatel, steril
 - Reagenzgläser für Verdünnungsreihe, steril
 - Reagenzglasständer
 - Homogenisator (z.B. Vortex ®)
 - Laborbrenner
 - Brutschrank 36°C
 - Lupenarbeitsplatz mit Beleuchtung für Auswertung
 - Sterilisator

- Caso-Agar-Nährboden in Petrischalen
- Columbia-Vollblut-Nährboden in Petrischalen
- Kochsalzlösung 0,9% steril
- Testkeim *Enterococcus faecium* ATCC 6057 kultiviert auf Nährboden

2.2 Methodik:

Zunächst wird mittels Drei-Ösen-Ausstrich eine Reinkultur des Testkeims *Enterococcus faecium* ATCC 6057 auf Columbia Vollblut Nährboden erstellt. Von der Reinkultur werden einzelne Kolonie abgenommen und auf einem weiteren Nährboden flächig ausgestrichen.

Nach Inkubation über 48h ist der Testkeim ausreichend gediehen und kann für die Erstellung der Prüfkontamination verwendet werden.

Dazu wird der mit der Reinkultur bewachsene Nährboden mit 1,0mL Kochsalzlösung beaufschlagt und anschließend mit einem Abstrich-Tupfer durch Reiben an der Nährbodenoberfläche eine Abschwemmung und Suspendierung der Kolonien vorgenommen.

Die Keimsuspension wird danach mittels des Tupfers auf die Prüfkörper aufgestrichen. Als Prüfkörper werden sterile Edelstahlbleche ca. 80 * 5mm verwendet. Die Edelstahloberfläche hat eine Rautiefe von 100µm. Diese Prüfkörper sind die

Standardprüfkörper für die Validierung der Desinfektionsleistung von Reinigungs- und Desinfektionsautomaten im klinischen Umfeld.

Nach Abtrocknen haften die Keime auf dem Prüfkörper. Dieser kann nun für die Untersuchung verwendet werden.

Zur Durchführung der Prüfung werden die Prüfkörper auf eine glatte, ebene Fläche ca. 25cm vor der Auslassöffnung des Plasmagenerators aufgebaut. Dabei werden die Prüfkörper mit einem Digalski Spatel leicht angehoben, sodass alle Oberflächen (Vorder- und Rückseite) Kontakt mit der umgebenden Luft haben.

Es werden drei verschiedene Betriebsarten geprüft:

- Versuchsreihe 1 und 2 (V1 und V2):
 - Expositionszeit 30min, nur Plasma bei 30% rel. Feuchte (halbe Elektrodenspannung 1,75kV)
- Versuchsreihe 3 und 4 (V3 und V4):
 - Expositionszeit 30min, nur Plasma bei 95% rel. Feuchte (verstärkte Bildung von Hydroxyl-Ionen) (halbe Elektrodenspannung 1,75kV)
- Versuchsreihe 5 und 6 (V5 und V6):
 - Expositionszeit 30min, Plasma und Ozon parallel (maximale Elektrodenspannung 3,5kV ist eingestellt)

Je Prüfung werden parallel zwei Prüfkörper gegenüber dem Verfahren exponiert und untersucht. Sofern die Ergebnisse stark differieren, wird die Prüfung mit einer größeren Zahl an Prüfkörpern wiederholt, um durch Erhöhung des Stichprobenumfangs die Homogenität der Ergebnisse zu erreichen.

Die Prüfung erfolgt in einem Raum folgender Dimensionen:

- Länge = 5,20m, Breite = 2,57m, Höhe = 2,34m
- Gesamtvolumen = 31,27m³

- **V1 und V2:**
 - Die rel. Feuchte von 30% wird durch die RLTA eingestellt und lag am Tag der Prüfung vor. Elektrodenspannung im Gerät ca. 1,75kV

- **V3 und V4:**
 - Unter dem Plasmagenerator wird eine Petrischale mit Wasser aufgestellt, sodass der Plasmagenerator nahezu wasserdampfgesättigte Luft ansaugt. Elektrodenspannung im Gerät ca. 1,75kV

- **V5 und V6:**
 - Analog zu V1 und V2 (trockene Raumluft) ohne zusätzliche Aufsättigung, jedoch Elektrodenspannung ca. 3,5kV, sodass eine Ozonbildung möglich ist.

Zur Durchführung der Prüfung wird die raumluftechnische Anlage (RLTA) im Prüfraum abgeschaltet, bzw. inaktiviert.

Nach Durchführung der Exposition der Prüfkörper gegenüber dem Inaktivierungsverfahren werden die Prüfkörper wieder mit sterilen Pinzetten in sterile Reagenzgläser überführt und für den Fortgang der Analyse vorgehalten.

Eine spezielle Inaktivierung der Desinfektionswirkung (sog. „Enthemmung“) ist, wie initial bemerkt, nicht erforderlich, da das geprüfte Verfahren keine Remanenz, d.h. nachhaltige Wirkung aufweist. Die Desinfektionswirkung ist präsent, solange das Verfahren aktiv ist. Nach Abschalten des Verfahrens ist keine nachhaltige Wirkung mehr gegeben.

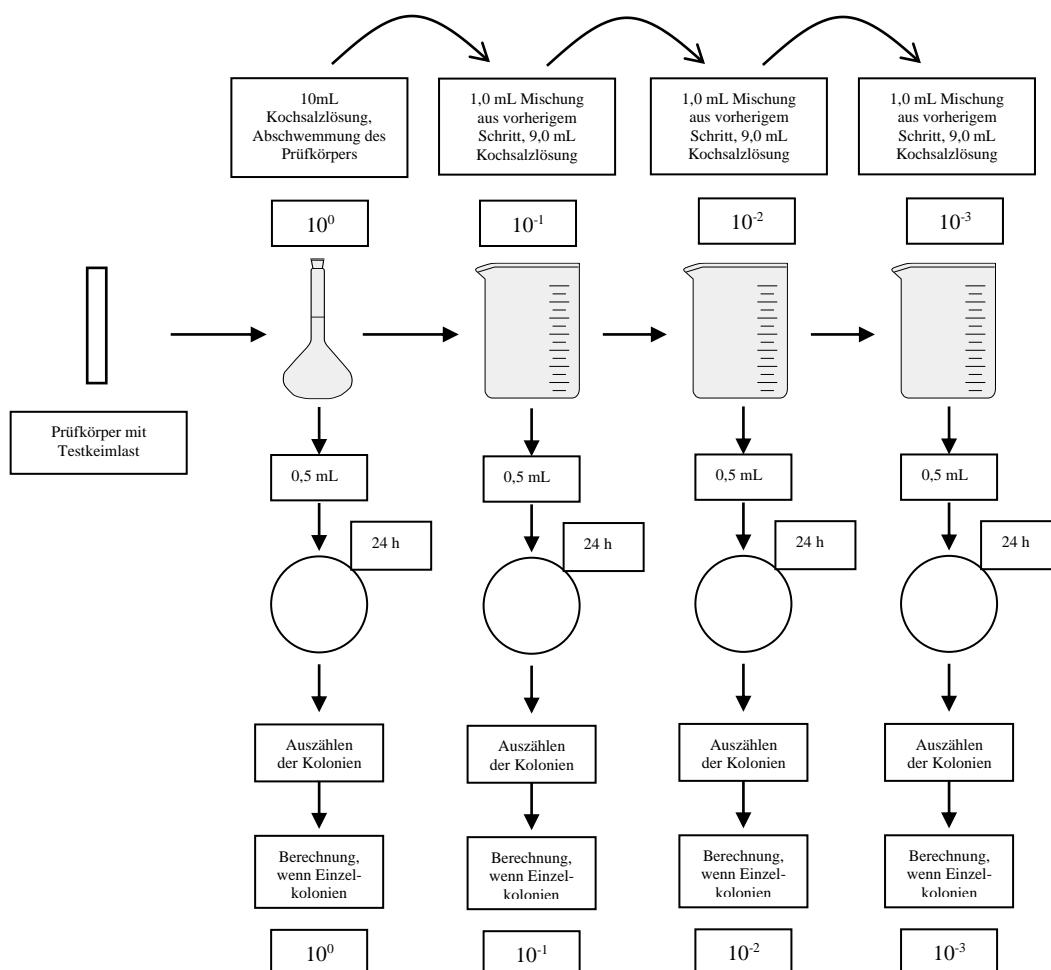
Die Prüfkörper werden anschließend in ein Röhrchen mit 10mL steriler Kochsalzlösung überführt und anschließend mit dem Homogenisator geschüttelt. Auf diese Weise werden an dem Prüfkörper anhaftende Mikroorganismen in die flüssige Phase überführt.

Von dieser Suspension aus wird eine Verdünnungsreihe in Zehnerpotenzen bis 10^{-3} angelegt. Dazu wird 1 mL der Suspension auf dem Röhrchen mit dem abgeschwemmten Prüfkörper zu 9mL Kochsalzlösung in einem neuen Röhrchen pipettiert. Dieses wird homogenisiert, dann wird daraus wieder 1mL entnommen und die Verdünnungsreihe entsprechend fortgesetzt.

Anschließend wird von jeder Verdünnungsstufe ein Volumen von 0,5mL auf je einen Caso-Agar Nährboden aufgegeben und anschließend mit einem Drigalski-Spatel homogen verteilt.

Die Nährböden werden danach in einem Brutschrank bei 36°C über 24h inkubiert.

Nach dieser Zeit erfolgt die Zählung der Kolonien im Durchlichtverfahren bei 8-facher Vergrößerung.



Für die Auswertung wird der Nährboden der Verdünnungsstufe gezählt, der 10 bis 200 Kolonien aufweist. Dann wird die festgestellte Koloniezahl mit dem auf den Nährboden aufgebrauchten Volumen (0,5mL), sowie dem initialen Volumen der Verdünnungsstufe (10mL) und der jeweils gezählten Verdünnungsstufe verrechnet.

Dadurch wird die Keimzahl pro Prüfkörper berechnet. Anschließend wird der dekadische Logarithmus berechnet.

Der Logarithmus der Keimzahl des Prüfkörpers unter Exposition gegenüber dem Inaktivierungsverfahren wird von dem Logarithmus der Keimzahl des Prüfkörpers ohne Exposition (Kontrollprobe) subtrahiert.

Auf diese Weise wird der Logarithmische Reduktionsfaktor (LRF) erhalten. Der LRF gibt an, um wie viele Zehnerpotenzen die initiale Keimzahl reduziert wird.

Nach Empfehlungen der DGHM soll eine suffiziente Desinfektion eine Keimzahlreduktion von 3 Zehnerpotenzen (= 1000-fache Keimzahlreduktion) erreichen.

Dann werden 99,9% der vorhandenen Mikroorganismen abgetötet, sodass die desinfizierten Oberflächen oder Bereiche in der Regel nicht mehr infektiös sind.

3. Ergebnisse:

Auswertung Expositionsversuch Plasma Air Plus 3 mit Testkeim Enterococcus faecium auf Keimträger als Quantitativer Suspensionsversuch nach DGHM

| Nr. | Beschreibung | 10 ^{^0} | 10 ^{^-1} | 10 ^{^-2} | 10 ^{^-3} | Volumen auf Platte | Volumen Verd.Stufe | Verd. Stufe für die Berechnung | KbE/Prüfkörper | Mittelwert KbE | Log KbE | Log Reduktionsfaktor |
|------|---|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|----------------|----------------|---------|----------------------|
| | | 1 = 1 | 1 = 10 | 1 = 100 | 1 = 1000 | | | | | | | |
| | Verdünnungsfaktor | 1 | 10 | 100 | 1000 | | | | | | | |
| V 01 | Expos. 30min, Plasma, 30% rel. Feuchte | 3 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 60 KbE | 90 KbE | 1,95 | 5,38 |
| V 02 | Expos. 30min, Plasma, 30% rel. Feuchte | 6 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 120 KbE | | | |
| V 03 | Expos. 30min, Plasma, 95% rel. Feuchte | 1 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 20 KbE | 20 KbE | 1,30 | 6,04 |
| V 04 | Expos. 30min, Plasma, 95% rel. Feuchte | 1 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 20 KbE | | | |
| V 05 | Expos. 30min, Plasma + Ozon, 30% rel. Feuchte | 1 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 20 KbE | 20 KbE | 1,30 | 6,04 |
| V 06 | Expos. 30min, Plasma + Ozon, 30% rel. Feuchte | 1 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1 | 20 KbE | | | |
| K 1 | Ausgangskeimzahl PK 1 | > 200 KbE | > 200 KbE | > 200 KbE | 692 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1000 | 13840000 KbE | | | |
| K 2 | Ausgangskeimzahl PK 2 | > 200 KbE | > 200 KbE | > 200 KbE | 1480 KbE | 0,5 mL | 10,0 mL | 1000 | 29600000 KbE | 21720000 KbE | 7,34 | |

Bemerkungen / Hinweise:

V03 / V04 und V05 / V06 zeigten auch bei direkter Kultivierung (10^{^0}) kein Wachstum. Für die Berechnung der Logarithmen darf der Wert nicht Null sein. Es wird theoretisch ein Keim (1 KbE) für die Berechnung angenommen. Das Ergebnis ist hier also korrekt < 1, wodurch die Log. Reduktionsfaktor mit jeweils > 6,04 angegeben werden muß. Das bedeutet, dass die Keimzahlreduktion in der Praxis noch höher ist.

Beschreibung der Abkürzungen:

V = Expositionsversuch, d.h. der Prüfkörper wurde dem Inaktivierungsverfahren gegenüber exponiert.

K = Kontrollprobe ohne Exposition zur Feststellung der Ausgangskeimzahl

KbE = koloniebildende Einheiten = mindeste Zahl in der Probe befindlicher Mikroorganismen

Volumen auf Platte = das zur Kultivierung auf Caso Agar aus der jeweiligen Verdünnungsstufe verwendete Volumen, hier 0,5mL

Verd. Stufe für die Berechnung = die zur Berechnung der Keimzahl verwendete Verdünnungsstufe, optimal soll diese ca. 1 bis 200 Kolonien zeigen.

KbE/Prüfkörper = aus Zählbefund der Agarplatte und zugehöriger Verdünnungsstufe und Berücksichtigung von 0,5mL aus 10mL einer Verdünnungsstufe berechnete Keimzahl auf einem Prüfkörper

Mittelwert KbE = aus den parallel durchgeführten Expositionsversuchen berechneter Mittelwert der Koloniezahl

Log KbE = dekadischer Logarithmus der zuvor berechneten Koloniezahl.

Log Reduktionsfaktor = Logarithmus der Keimzahlreduktion bei Vergleich der Ausgangskeimzahl (Mittelwert von K1 und K2) mit den Mittelwerten der Keimzahl, die auf den Prüfkörpern nach den drei verschiedenen Versuchsbedingungen war

Ein Log Reduktionsfaktor von z.B. 5,38 gibt an, dass unter den zugehörigen Expositionsbedingungen 10^{^5,38} KbE eliminiert werden.

Das bedeutet: 10^{^5,38} = 239883-fache Reduktion = mehr als 100.000-fache Reduktion = Reduktion um mehr als 5 Zehnerpotenzen = 99,999% der Mikroorganismen werden zerstört

4. Interpretation, Bewertung und Empfehlungen:

Die Ergebnisse zeigen unter Auftreten von Hydroxylradikalen (Sauerstoff-Plasma) bei trockener Luft (ca. 30% rel. Feuchte) über 30 min einen log. Reduktionsfaktor von 5,38.

Bei verstärkter Hydroxylradikalbildung unter Wasserdampfsättigung wird über 30 min ein etwas höherer log. Reduktionsfaktor von 6,04 erreicht.

Ein ebensolcher log. Reduktionsfaktor von 6,04 wird auch bei paralleler Aktivierung der Ozonsynthese über 30 min erreicht.

Eine suffiziente Desinfektion liegt vor, wenn eine Keimzahlreduktion um mindestens 3 Zehnerpotenzen, also 1000-fach erreicht wird. Das entspricht einem log. Reduktionsfaktor von 3.

Ein Reduktionsfaktor von 5,38 entspricht damit $10^{5,38} = 239.883$ (> 5 Zehnerpotenzen). Das bedeutet, dass von 239.883 Keimen noch ein Keim lebensfähig ist.

Ein Reduktionsfaktor von 6,04 entspricht damit $10^{6,04} = 1.096.478$ (> 6 Zehnerpotenzen). Das bedeutet, dass von 1.096.478 Keimen noch ein Keim lebensfähig ist.

Damit sind die Anforderungen an eine hinreichende Desinfektion unter den geprüften Bedingungen im Quantitativen Suspensionsversuch in vollem Maße erreicht.

Sowohl unter üblichen Umgebungsbedingungen ohne Ozonsynthese (Versuch 01 und 02, LRF 5,38), als auch unter maximaler Hydroxylradikalbildung bei Wasserdampfsättigung (Versuch 03 und 04, LRF 6,04) und unter zusätzlicher Ozonsynthese (Versuch 05 und 06, LRF 6,04) trifft dies zu.

Der Unterschied eines LRF zwischen 6,04 und 5,38 ist im Hinblick auf eine Desinfektion unwesentlich, daher wird eine suffiziente Desinfektionswirkung unter allen drei geprüften Betriebsarten / Betriebsbedingungen erreicht.

Die optional aktivierbare parallele Ozonsynthese kann als zusätzliche Sicherheit, bzw. auch zum Zweck der Desodorierung (Geruchsentfernung) aus Räumen genutzt werden.

In einem Vorversuch wurde eine identische Prüfung vorgenommen. Der Unterschied bestand in der organischen Last. Die Prüfung im Vorversuch wurde unter hoher organischer Last (3% Schaerythrozyten in der Keimsuspension) durchgeführt.

Der Vorversuch ergab keine signifikante Keimzahlreduktion, das bedeutet, dass die Keimzahlen auch unter Exposition nahezu unverändert im Vergleich mit der Kontrollprobe waren.

Die in der aktuellen Untersuchung erhobenen Ergebnisse einer suffizienten Keimzahlreduktion wurden ohne zusätzliche organische Last festgestellt.

Das bedeutet, dass eine organische Last die Wirkung des Inaktivierungsverfahrens reduziert, bzw. aufhebt. Diese Beobachtung ist nachvollziehbar, da das Inaktivierungsverfahren auf der Basis von Hydroxyl-Radikalen wirkt und diese nur in der

Gasphase (Luft) und an Oberflächen wirksam sind, nicht aber innerhalb von Kontaminationen. In Kontaminationen eingeschlossene Keime werden daher nicht inaktiviert.

Daraus ergeben sich folgende Schlussfolgerungen:

- Das Verfahren zeigt bei geringer oder abwesender organischer Belastung eine deutliche mikrobiozide Wirksamkeit im Nahfeld des Plasmagenerators.
- Die Wirksamkeit entspricht mit > 5 , bzw. > 6 Zehnerpotenzen Keimzahlreduktion einer Desinfektion im Sinne einer Asepsis, d.h. die Keimzahlreduktion führt im behandelten Bereich zu einem Zustand, der keine Infektiosität mehr aufweist. Eine potentiell infektiöse Ausgangskeimzahl wird soweit reduziert, dass keine Infektionsgefahr mehr besteht.
- Die Desinfektions-Wirksamkeit wurde am Testkeim *Enterococcus faecium* bestätigt. Dieser Testkeim ist als Modellorganismus für die Prüfung von Desinfektionsverfahren im klinischen Umfeld (Spülmaschinen, Reinigungs- und Desinfektionsgeräte (RDGs), Steckbeckenspülgeräte, Industriewaschmaschinen, etc.) etabliert.
- Eine Zerstörung des Testkeims *Enterococcus faecium* weist eine Wirksamkeit des Desinfektionsverfahrens in den folgenden Wirkklassen nach RKI-Liste aus:
 - Wirkklasse A: vollständig
 - Wirkung gegen native Bakterien mit Ausnahme bakterieller Endosporen, sowie gegen Pilze
 - Wirkklasse B: begrenzt, nur wirksam gegen behüllte (lipophile) Viren
 - Die Inaktivierungswirkung ist gegen behüllte Viren identisch der Wirkung in Wirkklasse A, im Hinblick auf Viren ist die Wirkung nur gegen behüllte Viren gegeben, nicht jedoch gegen unbehüllte Viren (z.B. Norovirus, Rotavirus, Hepatitis A – Virus).
- Das bedeutet, dass die Inaktivierungsprüfung gegenüber *Enterococcus faecium* stellvertretend oder gleichzusetzend ist mit der Inaktivierung auch von behüllten Viren.
- Die Wirksamkeit innerhalb von Kontaminationen ist jedoch nicht gegeben. Das Verfahren ist wirksam an der Oberfläche und in der Luft.

Behüllte Viren verfügen über eine Hülle aus Phospholipiden, welche der Plasmamembran der Wirtszelle entstammen. Dies ist dadurch begründet, da derlei Viren durch kontrollierte Exozytose (Ausschleusen) aus der Wirtszelle freigesetzt werden. Während der Ausschleusung legt sich die Plasmamembran um das Viruspartikel und formt die Virushülle. Die Virushülle vermittelt die Infektiosität von behüllten Viren. Dadurch, dass die Phospholipide der Virushülle bereits durch Luftsauerstoff und Austrocknung verändert und dadurch zerstört werden, verlieren behüllte Viren meistens nach 3 bis 5 Tagen an der Umgebungsluft (z.B. auf Oberflächen) die Infektiosität. Dieses Zeitintervall ist aber zu lange, in der Zwischenzeit können von eventuellen Kontaminationen aus entsprechend Infektionsketten und damit infektiologische Gefährdungen ausgehen.

Behüllte Viren werden in der Regel hämatogen oder aerogen und selten über Kontaktkontaminationen übertragen.

Im Vergleich dazu werden *unbehüllte Viren* durch Zerstörung der Wirtszelle, also unkontrolliert, freigesetzt. Dadurch fehlt die Phospholipid-Hülle um die Viruspartikel. Derlei Viruspartikel bestehen aus resistenten Eiweißverbindungen (Kapside), die nur

durch stärker wirksame Stoffe (z.B. Halogenverbindungen, wie Chlor oder Chlordioxid und Peroxide, sowie Aldehyde) zerstört werden können.

Daher sind unbehüllte Viren sehr umwelt- und inaktivierungsresistent.

Meistens werden unbehüllte Viren fäkal-oral oder über Kontaktkontaminationen übertragen.

Das geprüfte Desinfektionsverfahren reduziert das für die natürliche Zerstörung behüllter Viren erforderliche Zeitintervall von 3 bis 5 Tagen auf ca. 30min, bzw. kann ständig betrieben werden, was zu einer fortlaufenden Desinfektion der Luft und der Oberflächen im Nahfeld führt.

Der Nachweis einer Oberflächendesinfektionwirkung im Nahbereich des Geräts weist *gleichzeitig* eine Luftdesinfektion aus, da das Desinfektionsagens (Hydroxylradikale) in der aus dem Gerät geführten Luft enthalten ist. Wenn die Wirkung am Zielort (hier: an den Prüfkörpern im Nahbereich des Geräts) eintritt, dann ist die aus dem Plasmagenerator emittierte Luft ebenfalls desinfiziert.

Da das geprüfte Desinfektionsverfahren eine Wirksamkeit gegenüber Enterococcus faecium zeigt und damit die Wirkklassen A und begrenzt B (nur behüllte Viren) erfasst werden, ist der Einsatz des Verfahrens vor allem gegenüber bestimmten aerogen übertragenen Viren interessant.

Dazu zählen bestimmte Rhinoviren, Influenzaviren und speziell auch Coronaviren. Auch das im Dezember 2019 erstbeschriebene Coronavirus „SARS-CoV-2“ zählt dazu.

Es ergeben sich daher interessante Einsatzmöglichkeiten des geprüften Desinfektionsverfahrens in Bereichen, in welchen der für die Unterbrechung der Übertragung von aerogenen Infektionen erforderliche Abstand von 1,5 bis 2m nicht eingehalten werden kann.

Aus Sicht der Mikrobiologie und Epidemiologie sind folgende Einsatzbereiche besonders empfehlenswert:

- Patientenberührende Situationen der medizinischen Versorgung und der Altenversorgung (Patientenzimmer, Räume der Diagnostik, Behandlungsräume, Wohnräume / Aufenthaltsräume in Altenheimen, Sanitätshäuser, etc.)
- Zahnmedizinische Versorgung: gerade hier werden im Rahmen der Behandlung Aerosole forciert freigesetzt, die in der Raumluft verbleiben und denen gegenüber nachfolgende Patienten punktuell und das zahnmedizinische Personal permanent ausgesetzt sind.
- Warenverkauf und Artikelerfassung / Kasse: hier ebenso können Infektionsrisiken durch eine zusätzliche Luft / Flächendesinfektion im Nahfeld der Mitarbeitenden reduziert werden
- Öffentlicher Personenverkehr und sonstige Verkehrsmittel: die Reduktion von aerogenen Übertragungen ist hier besonders wichtig, daher kann das Verfahren auch in diesem Bereich sinnvoll eingesetzt werden
- Weiterhin ist der Einsatz in raumlufttechnischen Anlagen empfehlenswert

Anhand dieser Beispiele ergeben sich diverse weitere Anwendungsmöglichkeiten.

Insgesamt betrachtet, stellt das Verfahren ein probates Mittel der Keimzahlreduktion aerogen getragener Mikroorganismen sowie an Oberflächen im Nahbereich des Geräts sedimentierter Mikroorganismen dar. Die Wirksamkeit ist gegenüber nativen Bakterien und Pilzen, sowie behüllten Viren (darunter auch das SARS-CoV-2-Virus) gegeben.

Das Verfahren kann und soll eine Oberflächendesinfektion nicht ersetzen. Es soll auch kein alleiniges Verfahren der Risikoreduktion sein und auch weitere Hygienemaßnahmen der Risikoreduktion ersetzen.

Wichtig ist, dass das geprüfte Verfahren eine sehr wirksame Ergänzung der Prävention der Übertragung aeroGENER Erreger darstellt. Somit wird bei aerogenen Übertragungen genau der relevante Übertragungsweg (über die Luft) unterbunden.

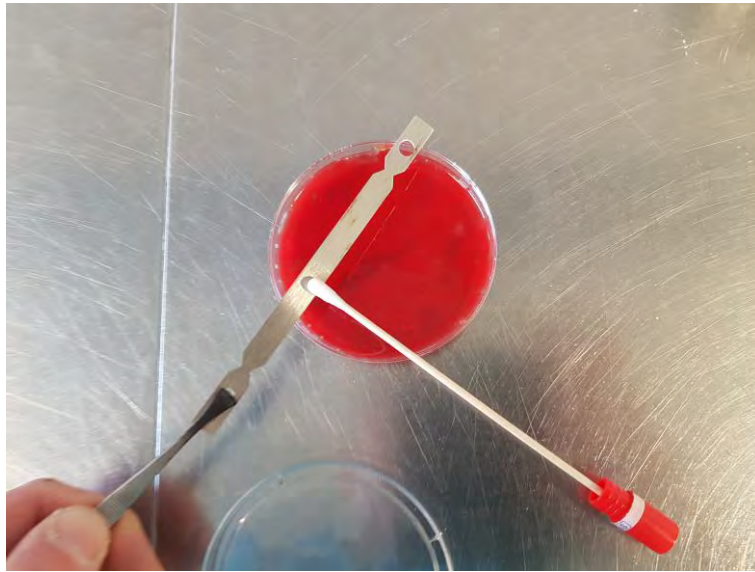
Im „Hürdenkonzept“ der Prävention werden einer möglichen Übertragung eines Mikroorganismus mehrere Hürden in den Weg gestellt. Je mehr Hürden aufgebaut sind, desto wirksamer ist die Prävention. Und in diesem Kontext stellt das geprüfte Verfahren eine wertvolle und wichtige Hürde für Mikroorganismen dar, da hier speziell das Medium der Übertragung, d.h. die Luft, desinfiziert wird. Weiterhin werden mögliche von Aerosolen ausgehende Oberflächensedimentationen eliminiert.



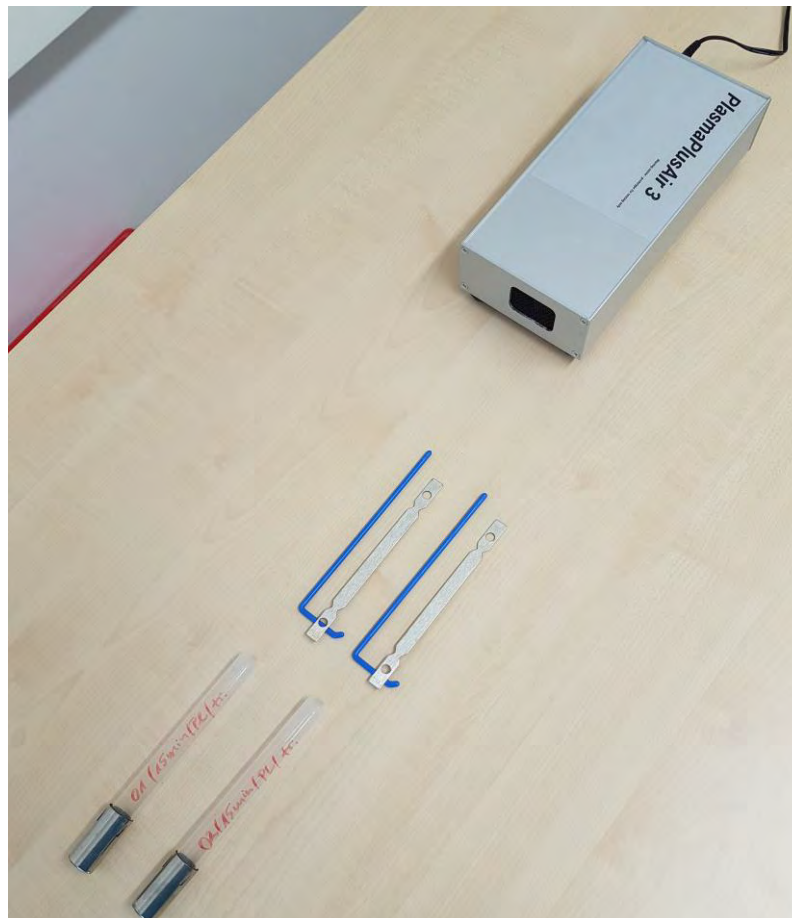
gez. PD Dr.med. Ulrich F. Schmelz

PD Dr.med. | Dipl.-Chem. | Dipl.-Ing.(FH), Leiter der Einrichtung
Arzt für Med. Mikrobiologie & Infektionsepidemiologie, Dipl.-Lebensmittelchemiker, Dipl.-Ing.(FH) Verfahrens- und Anlagentechnik

Abbildungsanhang 1 – Versuchsaufbau und Laboranalysen



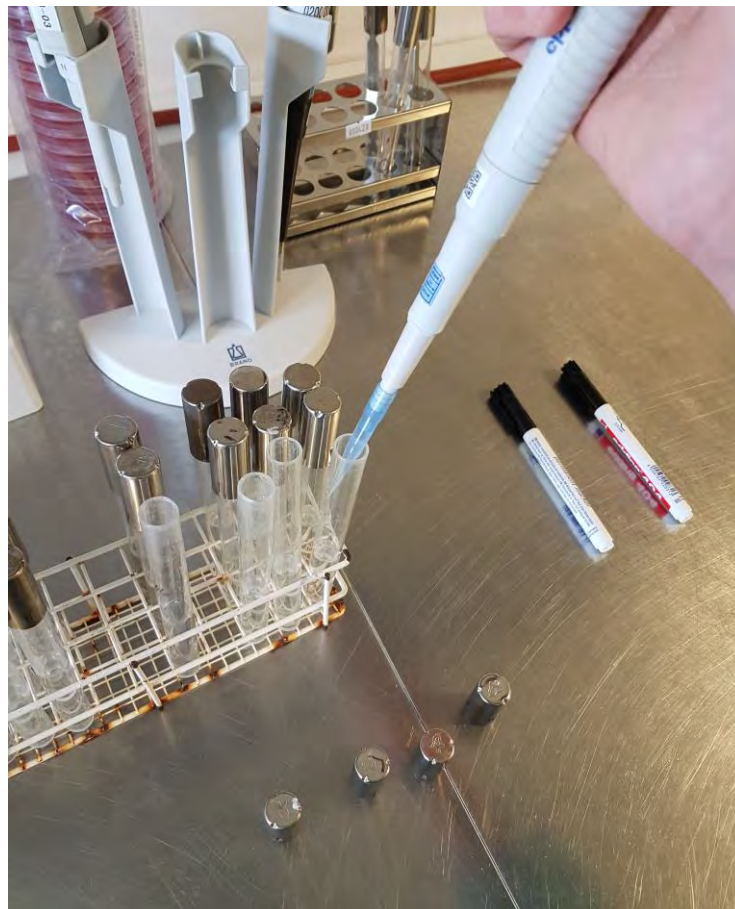
Aufbringen der Testkeime mittels Tupper von einer vorkultivierten Platte auf die Prüfkörper (Edelstahlstreifen)



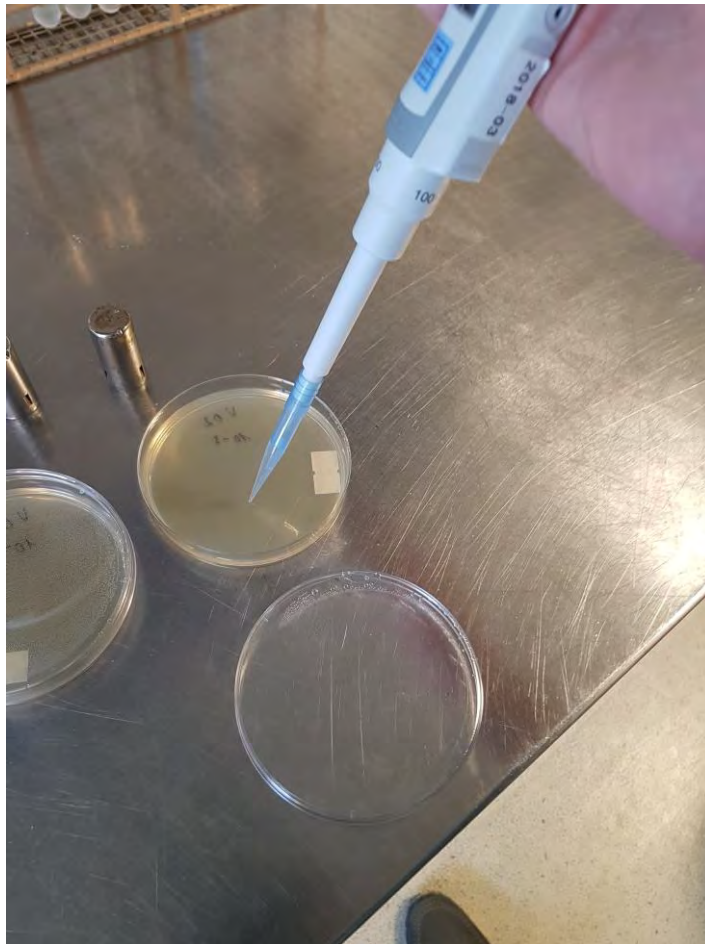
Exposition der Prüfkörper gegenüber des Inaktivierungsverfahrens unter verschiedenen Betriebsbedingungen des Plasmagenerators



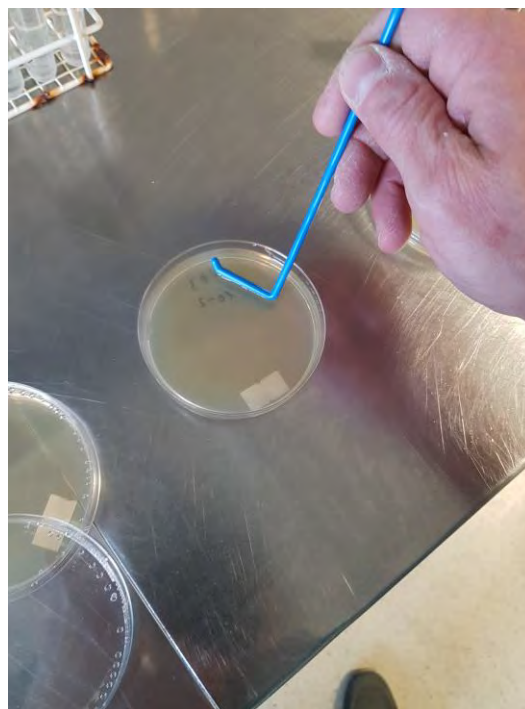
Resuspendieren der Mikroorganismen von den Prüfkörpern als Ausgang für die dekadische Verdünnungsreihe.



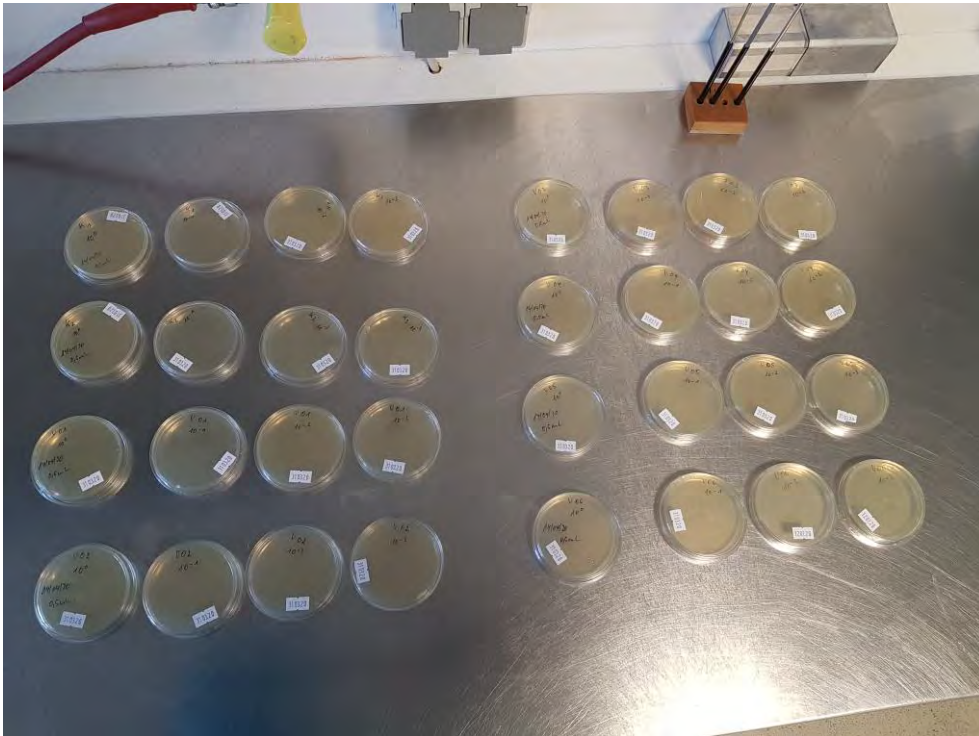
Anlegen der dekadischen Verdünnungsreihe



Beimpfen der Nährböden mit der Suspension der Schritte der Verdünnungsreihe



Homogenes Ausstreichen der aufgebrachtten Suspension der Verdünnungsstufen
mittels Drigalski-Spatel



Vorbereitete Nährmedien nach Aufbringen der Suspensionen der Verdünnungsstufen



Inkubation im Brutschrank über 24 Stunden

Abbildungsanhang 2 – Ergebnisse der Kultivierung

