

GUTACHTEN

zur Beurteilung des Desinfektionsmittels

WESSOCLEAN NOVA[®] K50 Fluid

der WESSOCLEAN Wasserhygiene GmbH in Hersbruck

hinsichtlich seiner desinfizierenden Wirkung
für wasserhygienische Anwendungen.

Erstellt von

Akad.Oberrat Priv.Doiz.Dr.med.Dr.med.habil.Robert Lee Mueller

Arzt für Hygiene und Umweltmedizin

Oberarzt am Institut für Medizinische Hygiene

der Universität Erlangen-Nürnberg

im Januar 1994

im Auftrag des Herstellers

Ausgefertigt am 28.01.1994

Das Gutachten umfaßt

15 Seiten

Präambel

Das Produkt

WESSOCLEAN NOVA^R K 50 Fluid

der WESSOCLEAN Wasserhygiene GmbH

wurde am Institut für Medizinische Hygiene der Universität
Erlangen-Nürnberg im Juli 1993 durch den

Akad.Oberrat Priv.Doiz.Dr.med.Dr.med.habil.Robert Lee Mueller

unter Zugrundelegung der "Richtlinien für die Prüfung und Bewertung
chemischer Desinfektionsverfahren" der Deutschen Gesellschaft für
Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) begutachtet.

Das hier vorliegende Gutachten stellt eine Zusammenfassung dieser
Untersuchungen dar:

- I. Toxikologisch-chemische Beurteilung
- II. Bestimmung der bakteriostatischen und
fungistatischen Wirksamkeit
(DGHM-Richtlinien, Abschnitt 2.1)

Akadem.Oberrat Priv.Doiz.Dr.med.Dr.med.habil.Robert Lee Mueller
Institut für Medizinische Hygiene der Universität Erlangen-Nürnberg

I. Toxikologisch-chemische Beurteilung

WESSOCLEAN NOVA^R K50 Fluid ist eine klare, farblose Flüssigkeit, die in einer Konzentration unter 6 % keine hautätzende Wirkung zeigt.

Angaben zum Prüfpräparat:

Chargenbezeichnung:	WESSOCLEAN NOVA ^R K50 Fluid (ohne Chargenangabe)
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit
Geruch:	ohne
Wassergefährdungsklasse:	0 (i.allg.nicht wassergefährdend)
ph-Wert der Konzentrationsstufe 6% in Wasser standardisierter Härte (WSH):	2,5 (elektrometrisch gemessen).

Für die Untersuchungen wurde die Ausgabe der DGHM-Richtlinien, Stand 12.7.1991 des Verlages Gustav Fischer, Stuttgart - New York, verwendet.

II. Bestimmung der bakteriostatischen und fungistatischen
Wirksamkeit (DGHM-Richtlinie, Abschnitt 2.1)

Testkeime:

Gegenüber der DGHM-Richtlinie wurde die Zahl der Testkeime erweitert und noch zusätzliche Keimarten einbezogen, welche bei § 4 der Mineral- und Tafelwasser-Verordnung Bedeutung haben.

Escherichia coli	ATCC 11229
Klebsielle pneumoniae	ATCC 4352
Staphylococcus aureus	ATCC 6538
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442
Streptococcus faecalis	ATCC 6057
Proteus mirabilis	ATCC 14153
Mycobacterium tuberculosis	ATCC 25618
Clostridium sporogenes	ATCC 3584
Candida albicans	ATCC 10231

Methodik:

Angewandt wurde die unter Ziff. 2.1 der DGHM-Richtlinien vom 12.7.1991 beschriebene Methode. Die Bebrütung der Kulturen mit Clostridium sporogenes erfolgte unter anaeroben Bedingungen. Als Inaktivierungssubstanz wurde folgende Enthemmerkombination eingesetzt:

3,0 % Tween 80
0,3 % Lecithin
0,1 % Histidin
0,5 % Natriumthiosulfat

Als Ausgangskonzentration wurde eine 10%ige Konzentration eingesetzt, die in den angegebenen Verdünnungsstufen weiter verdünnt wurde.

Für die Herstellung der Verdünnungen wurde steriles Wasser standardisierter Härte (WSH) verwendet.

Tabelle I:

Testkeim	Einge- setzter Keimge- halt/ml	Prüfkonzentration in %										Blind- wert mit sterilem Wasser
		10	5	2,5	1,0	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,0125	
Escherichia Coli	3 x 10 ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Klebsiella pneumoniae	1,3 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Staphylo- coccus aureus	5 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++
Pseudo- monas aerugi- nosa	3 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Strepto- coccus faecalis	3 x 10 ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++
Proteus mirabilis	2 x 10 ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Myco- bacterium tubercu- losis	1,5 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Clostridium sporogenes	2 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++
Candida albicans	3 x 10 ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++

Zeichenerklärung:

- = kein Wachstum
- (+) = schwaches Wachstum
- + = deutliches Wachstum
- ++ = starkes Wachstum

Von jedem Testkeim wurde als Blindwert eine Wachstumskontrolle unter den gleichen Versuchsbedingungen, jedoch ohne Zusatz von WESSOCLEAN NOVA^R K50 Fluid durchgeführt.

Alle Testkeime zeigten im Blindversuch starkes Wachstum.

Ergänzung:

Nach der DGHM-Prüfmethode werden 5 ml der Desinfektionsmittelverdünnung mit 5 ml doppelt konzentrierter Caso-Lösung gemischt und diese Lösungen anschließend mit dem jeweiligen Testkeim beimpft. Es wird dabei in Kauf genommen, daß bei oxidierenden Desinfektionsmitteln auch Reaktionen mit der organischen Substanz des Nährmediums eintreten, welche die Desinfektionswirkung mindern.

Da WESSOCLEAN NOVA^R K50 Fluid als Desinfektionswirkstoff in der Wasserhygiene eingesetzt werden soll, wurde deshalb, abweichend von der DGHM-Prüfmethode die bakteriostatische und fungistatische Wirksamkeit in rein wässriger Lösung bestimmt.

Hierzu wurden die einzelnen Verdünnungsstufen ohne Mischen mit Caso-Agar mit dem Testkeim beimpft, 72 Stunden bei 37°C bebrütet und dann Subkulturen auf Caso-Agar angelegt, die nach 72 Stunden Bebrütung bei 37°C ausgewertet wurden.

Die Ergebnisse dieser zusätzlichen Untersuchung sind in Tabelle II dargestellt. Man beachte die kleineren Prüfkonzentrationen gegenüber Tabelle I.

Tabelle II:

Testkeim	Einge- setzter Keimge- halt/ml	Prüfkonzentration in %								Blind- wert mit sterilem Wasser
		1	0,1	0,05	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	
Escherichia Coli	3x10 ⁷	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	++
Klebsiella pneumoniae	1,3x10 ⁶	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	++
Staphylo- coccus aureus	5x10 ⁶	-	-	-	-	-	(+)	+	+	++
Pseudo- monas aerugi- nosa	3x10 ⁶	-	-	-	-	-	(+)	+	+	++
Strepto- coccus faecalis	3x10 ⁷	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	++
Proteus mirabilis	2x10 ⁷	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Myco- bacterium tubercu- losis	1,5x10 ⁶	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	++
Clostridium sporogenes	2x10 ⁶	-	-	-	-	-	-	(+)	+	++
Candida albicans	3x10 ⁶	-	-	-	-	-	(+)	+	+	++

Zeichenerklärung:

- = kein Wachstum
- (+) = schwaches Wachstum
- + = deutliches Wachstum
- ++ = starkes Wachstum

III. Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im Suspensionsversuch.

Als Testkeime wurden folgende Mikroorganismen eingesetzt:

Escherichia coli	ATCC 11229
Staphylococcus aureus	ATCC 6538
Proteus mirabilis	ATCC 14153
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442
Candida albicans	ATCC 10231

Gearbeitet wurde mit 24 Stunden alten Kulturen dieser Keime, die auf Caso-Agar bei 37°C angezüchtet worden waren. Die hergestellten Testkeimsuspensionen wiesen Keimgehalte im Bereich von ca 10⁸ KBE/ml auf (KBE = koloniebildende Einheiten).

Methodik: Angewandt wurden die unter Ziffer 2.2 und 2.3 der DGHM-Richtlinie beschriebenen Methoden für den qualitativen (2.2) und den quantitativen (2.3) Suspensionsversuch. Die Bestimmung des sogenannten Eiweißfehlers im quantitativen Suspensionsversuch erfolgte in parallel geführten Ansätzen ohne und mit Eiweißbelastung, damit ein unmittelbarer Vergleich möglich ist.

1. **Qualitativer Suspensionsversuch (ohne Eiweißbelastung)**

Einwirkzeiten:

5 Minuten
15 Minuten
30 Minuten
60 Minuten

Inaktivierungslösung:

3,0 % Tween 80
0,3 % Lecithin
0,1 % Histidin
0,5 % Natriumthiosulfat

Prüfkonzentrationen:

5 %
4 %
2,5 %
1 %
0,5 %

Nullkontrolle:

Steriles WSH

Bebrütung:

72 h bei 37°C

Ergebnisse: siehe Tabelle III

Tabelle III.

		5%	4%	2,5%	1%	0,5%	Wachstums- kontrolle
Escherichia coli	5 Min.	-	-	+	+	+	+
	15 Min.	-	-	(+)	+	+	
	30 Min.	-	-	-	(+)	+	
	60 Min.	-	-	-	-	+	+
Staphylococcus aureus	5 Min.	-	-	+	+	+	+
	15 Min.	-	-	+	+	+	
	30 Min.	-	-	(+)	+	+	
	60 Min.	-	-	-	+	+	+
Proteus mirabilis	5 Min.	-	-	+	+	+	+
	15 Min.	-	-	-	+	+	
	30 Min.	-	-	-	+	+	
	60 Min.	-	-	-	-	+	+
Pseudomonas aeruginosa	5 Min.	-	-	-	+	+	+
	15 Min.	-	-	-	+	+	
	30 Min.	-	-	-	+	+	
	60 Min.	-	-	-	(+)	+	+
Candida albicans	5 Min.	-	(+)	+	+	+	+
	15 Min.	-	-	+	+	+	
	30 Min.	-	-	(+)	+	+	
	60 Min.	-	-	-	+	+	+

Zeichenerklärung:

- = kein Wachstum
- + = Wachstum
- (+) = schwaches Wachstum

2. Quantitativer Suspensionsversuch

Testkeime: Staphylococcus aureus ATCC 6538
 Escherichia coli ATCC 11229
 Candida albicans ATCC 10231

Einwirkzeiten:

5 Minuten
15 Minuten
30 Minuten
60 Minuten

Inaktivierungslösung:

3,0 % Tween
0,3 % Lecithin
0,1 % Histidin
0,5 % Natriumthiosulfat

Nullkontrolle:

Steriles WSH

Bebrütung:

48 h bei 37°C (Candida albicans: 72 h bei 37°C)

Ergebnisse: siehe Tabelle IV

Tabelle IV.

Angegeben werden die Konzentrationen von WESSOCLEAN NOVA K50 Fluid, bei denen die benannten Testkeime bei 5 Minuten und 60 Minuten Einwirkzeit um 5 log-Stufen ihrer Ausgangskonzentration reduziert werden.

5 Minuten Einwirkzeit:

Ohne Eiweißbelastung:

Staph.aureus	6	%
E.coli	2	%
Candida albicans	6	%

Mit Eiweißbelastung:

Staph.aureus	10	%
E.coli	2,5	%
Candida albicans	10	%

60 Minuten Einwirkzeit:

Ohne Eiweißbelastung:

Staph.aureus	3	%
E.coli	1	%
Candida albicans	2	%

Mit Eiweißbelastung:

Staph.aureus	4	%
E.coli	2	%
Candida albicans	4	%

IV. Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im Keimträgerversuch (DGHM-Richtlinie I/Abschnitt 2.4)

Testkeime:

Staphylococcus aureus	ATCC 6538
Escherichia coli	ATCC 11229
Candida albicans	ATCC 10231
Proteus mirabilis	ATCC 14153
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442

Einwirkzeiten:

5 Minuten
15 Minuten
30 Minuten
60 Minuten
120 Minuten

Nullkontrolle:

Steriles WSH

Bebrütung:

72 h bei 37°C

Ergebnisse: siehe Tabelle V

Tabelle V.

Dargestellt sind die Konzentrationen von WESSOCLEAN NOVA K50 Fluid, die bei 5 und 120minütiger Einwirkung eine Abtötung der Testkeime sicherstellt.

5 Minuten:**Testkeime:**

Staphylococcus aureus	ATCC 6538	: 15	%
Escherichia coli	ATCC 11229	: 3,5	%
Candida albicans	ATCC 10231	: 10	%
Proteus mirabilis	ATCC 14153	: 4,0	%
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442	: 10	%

120 Minuten:**Testkeime:**

Staphylococcus aureus	ATCC 6538	: 0,5	%
Escherichia coli	ATCC 11229	: 0,5	%
Candida albicans	ATCC 10231	: 2,5	%
Proteus mirabilis	ATCC 14153	: 1,5	%

V. Versuche unter praxisnahen Bedingungen (DHGM Richtlinie II/Abschnitt 2.3)**Testobjekte:**

OP-Fliesen
PVC-Stücke

Testkeime:

Staphylococcus aureus ATCC 6538
Escherichia coli ATCC 11229
Pseudomona aeruginosa ATCC 15442

Ergebnisse:

Die in der Richtlinie geforderten Keimreduktionsraten werden bei einer 60minütigen Einwirkzeit einer 20%igen Präparatlösung erreicht.

Zusammenfassende Bewertung

Aufgrund der in den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie geforderten "In-vitro-Versuche" und der "Versuche unter praxisnahen Bedingungen" erfüllt das Produkt

WESSOCLEAN NOVA K50 Fluid

die Anforderungen, die an ein Desinfektionsmittel zu stellen sind.

Bereits kleine Konzentrationen von 0,005% bewirken im wässrigen Milieu bakterio- und fungistatische Wirkung.

Keimtötende Effekte werden im rein wässrigen Bereich bei 5%iger Konzentration und 60minütiger Einwirkzeit beobachtet. Liegen Proteinbelastungen vor, muß bei gleicher Einwirkungszeit die Konzentration auf 20% erhöht werden.

Das Produkt ist aufgrund seiner Zusammensetzung praktisch untoxisch und biologisch unbedenklich.

WESSOCLEAN NOVA K50 Fluid ist deshalb besonders hinsichtlich seiner desinfizierenden Wirkung für wasserhygienische Anwendungen geeignet.

Erlangen, den 28. Januar 1994



Priv.Doz.Dr.R.L.Mueller

