

Mikromethode als Alternative für den quantitativen Suspensionstest zur Verbesserung der Nachhaltigkeit und Screening von Isolaten am Beispiel von *C. auris*

J. Gebel, M. Rausch, K. Bientreue, L. Schmitz
und K. Roesch

I. Liste

Anlage

der nach den „Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel“* geprüften und von der „Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie“ empfohlenen Desinfektionsmittel

(Vorläufige Liste nach dem Stand vom 6. Februar 1959 auf Grund derzeitiger wissenschaftlicher Erkenntnisse. Gültig bis zum 31. Dezember 1960)

A) Zubereitungen des Deutschen Arzneibuches und chemisch einheitliche Desinfektionsmittel

Name	Händedesinfektion		Wäsche-desinfektion, auch bei Tuberkulose	Scheuer- ^{**} desinfektion a) auch bei Tbc b) nicht bei Tbc	Sputum-desinfektion	Stuhl-desinfektion	Scheuer-desinfektion bei Hautpilz-erkrankungen	Allgemeine Bemerkungen
	hygienische	chirurgische						
Chlorkalkmilch				b) 10 %				Bei Tbc unbrauchbar. Wirksames und wirtschaftliches Mittel zur Stuhl-desinfektion bei übertragbaren Darmerkrankheiten. Bei empfindlichen Personen hautschädigend, giftig. Vorzüge: geruchlos, starke bakterizide Nachwirkung auf der Haut.
Formalin			3 %— 4h 1,5 %—12h	a) 3 %			3 %	
Kalkmilch 20 %						20 %—6h (2 Tle Kalkmilch — 1 Tl Stuhl)		
Kresolsifenlösung			2 %— 4h 1 %—12h	a) 6 %				
Phenol (Karbolsäure)			2 %— 4h 1 %—12h					
Sublimat	0,1 %—2 min							
Quecksilberoxycyanat	0,5 %—2 min							
Äthylalkohol, Isopropylalkohol	80 %— $\frac{1}{2}$ min 60 %— 2 min b. Tbc 5 min	80 %— 5 min						
n-Propylalkohol	80 %— $\frac{1}{2}$ min 60 %— 1 min b. Tbc 5 min	70 %— 5 min						

* Zbl. Bakt. I. Orig. 173, 307—317 (1958)

** Die angegebenen Konzentrationen gelten für eine Einwirkungszeit von 4 bis 6 Stunden und sichern den in den „Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel“ festgelegten Desinfektionserfolg bei einmaliger Anwendung.

3075

Ministerialblatt für das Land Nordrhein-Westfalen, Jahrgang 1959

Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren

J. Gebel, H.-P. Werner, A. Kirsch-Altena, K. Bansemir

Im Auftrag und in Zusammenarbeit mit den Mitgliedern der Desinfektionsmittel-Kommission der DGHM:
M. Borneff-Lipp, M. Bülte, B. Christiansen, H. J. Eggers, M. Exner, K. O. Gundermann, P. Heeg, V. Hingst, U. Höffler, A. Kramer, H. Martiny, V. Mersch-Sundermann, G. Schrader, R. Schubert, I. Schwebke, H.-G. Sonntag, J. Steinmann, O. Thraenhart, C. Wendt

Stand: 1. September 2001

mhp
mhp Verlag GmbH

VAH
Verband für Angewandte Hygiene e.V.



2015

ANFORDERUNGEN UND METHODEN zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren

Herausgegeben von
der Desinfektionsmittel-Kommission im VAH

Stand: 1. April 2015

mhp

Prüfung von Desinfektionsmitteln (DM)



Prinzip der Testung in 2-Stufen:

- Phase 2, Stufe 1 = quantitative Suspensionsversuche
- Phase 2, Stufe 2 = praxisnahe Versuche



Wirkspektren:

- Bakterizidie/Levurozidie
- Tuberkulozidie/ Mykobakterizidie
- Fungizidie
- Sporizidie
- Viruzidie (bv, bv+, v)

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	(DSM 799)
<i>Enterococcus faecium</i> *	ATCC 6057	(DSM 2146)
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 10541	(DSM 3320)
<i>Escherichia coli</i> K12 **	NCTC 10538	(DSM 11250)
<i>Proteus mirabilis</i> **	ATCC 14153	(DSM 788)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	(DSM 939)
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	(DSM 1386)
<i>Mycobacterium terrae</i>	ATCC 15755	(DSM 43227)
<i>Mycobacterium avium</i>	ATCC 15769	(DSM 44157)
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (früher <i>A. niger</i>)	ATCC 16404	(DSM 1988)
<i>Clostridium difficile</i>	NCTC 13366	(DSM 27147)

*: bei Verfahren >40° C / **: wenn resistenter als *P. aeruginosa*



Standard test methods to be used to substantiate claims for disinfectant products - March 2004

Type and/or Purpose of product	Phase / Step	Activity claims						
		Bactericidal	Fungicidal	Yeasticidal	Mycobactericidal	Tuberculocidal	Virucidal	Sporicidal
Hygienic hand wash	2 / 1	EN 12054	**	WI 216039 (stopped)	**	**	prEN 14476 (2004)	**
	2 / 2	EN 1499	**		**	**	**	**
Hygienic hand rub	2 / 1	EN 12054	**	WI 216039 (stopped)	**	**	prEN 14476 (2004)	**
	2 / 2	EN 1500	**		**	**	**	**
Surgical hand rub and surgical hand wash	2 / 1	EN 12054	**	WI 216039 (stopped)	**	**	**	**
	2 / 2	prEN 12791	**		**	**	**	**
Surface disinfection, clean and dirty conditions	2 / 1	prEN 13713 (erazed)	*	WI 216023 (erazed)	EN 14348	EN 14348	prEN 14476 (2004)	WI 216036 (erazed)
	2 / 2	WI 216019 (erazed)	*	*	*	*	WI 216037 (erazed)	*
Instrument disinfection, clean and dirty conditions	2 / 1	prEN 14348	prEN 13624	prEN 13624	prEN 14348	prEN 14348	prEN 14476 (2004)	WI 216032
	2 / 2	prEN 14561	prEN 14562	prEN 14562	prEN 14563	prEN 14563	WI 216037 (erazed)	WI 216036
Water treatment against Legionella	2 / 1	prEN 13623 Jan. 1996 (only L. pneumophila)						
	2 / 2							
Chemical-thermal linen disinfection	2 / 1							
	2 / 2	*		*	*	*	*	

* No work items are yet approved but relevant standards may become available in the future

** No intention to develop a test

Standard test methods to be used to substantiate claims for disinfectant products - Mai 2024



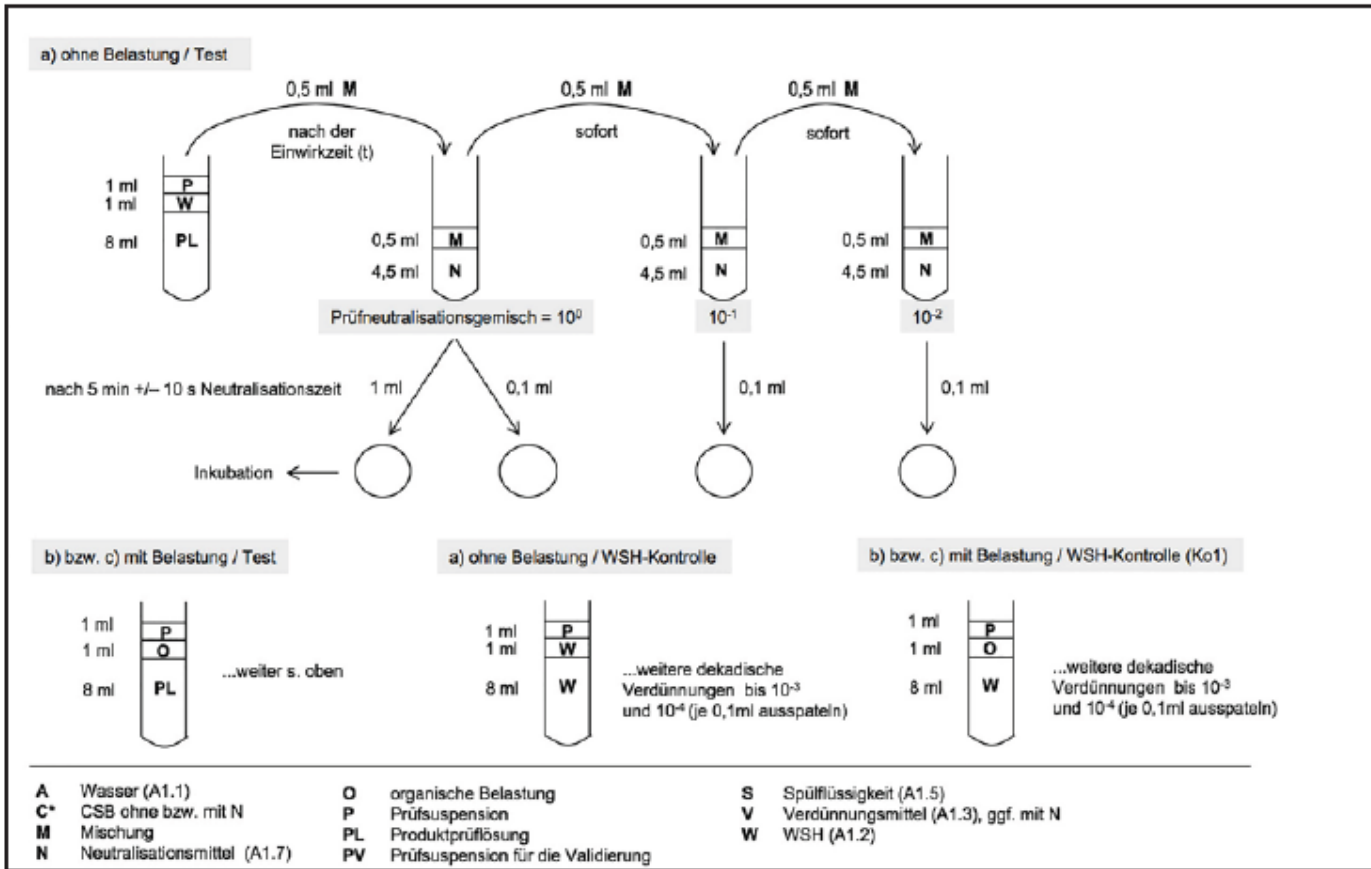
Type and/or Purpose of product	Phase / Step	Activity claims						
		Bactericidal	Yeasticidal	Fungicidal	Tuberculocidal	Mycobactericidal	Virucidal	Sporicidal
Hygienic hand wash	2 / 1	EN 13727	EN 13624	***	EN 14348	EN 14348	EN 14476 A1/A2	***
	2 / 2	EN 1499	***	***	***	***	**	***
Hygienic hand rub	2 / 1	EN 13727	EN 13624	***	EN 14348	EN 14348	EN 14476 A1/A2	***
	2 / 2	EN 1500	***	***	***	***	EN 17430	***
Surgical hand rub and surgical hand wash	2 / 1	EN 13727	EN 13624	***	***	***	***	***
	2 / 2	EN 12791	***	***	***	***	***	***
Surface disinfection without mechanical action with mechanical action	2 / 1	EN 13727	EN 13624	EN 13624	EN 14348	EN 14348	EN 14476 A1/A2	EN 17126
	2 / 2	EN 17387	EN 17387	EN 17387	**	**	EN 16777	**
	2 / 2	EN 16615	EN 16615	EN 16615 rev	EN 16615 rev	EN 16615 rev	WIxxx (April 2023)	EN 17846 C.diff.
Instrument disinfection	2 / 1	EN 13727	EN 13624	EN 13624	EN 14348	EN 14348	EN 14476 A1/A2	EN 17126
	2 / 2	EN 14561	EN 14562	EN 14562	EN 14563	EN 14563	EN 17111	WI00216069 (Nov 2015)
Chemical-thermal linen disinfection	2 / 1	EN 13727	EN 13624	EN 13624	EN 14348	EN 14348	EN 14476 A1/A2	EN 17126
	2 / 2	EN 16616	EN 16616	EN 16616	EN 16616	EN 16616	**	***
Water treatment against Legionella	2 / 1	EN 13623						
	2 / 2	***						
Airborne disinfection	2 / 1	***	***	***	***	***	***	***
	2 / 2	EN 17272	EN 17272	EN 17272	EN 17272	EN 17272	EN 17272	EN 17272

* Work item approved ** No work items are yet approved but relevant standards may become available in the future *** No intention to develop a test

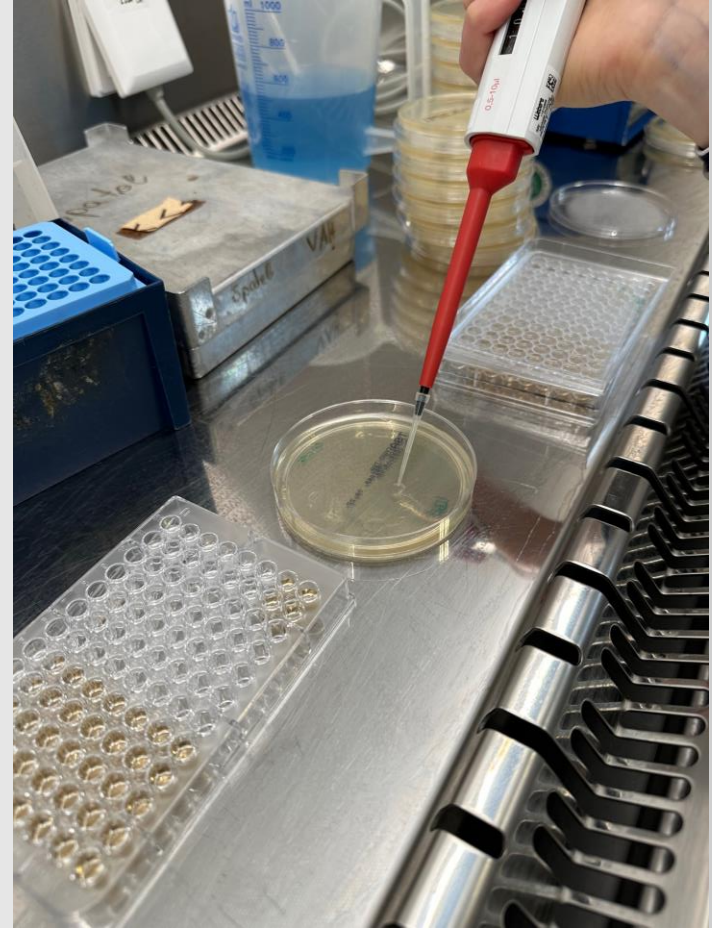
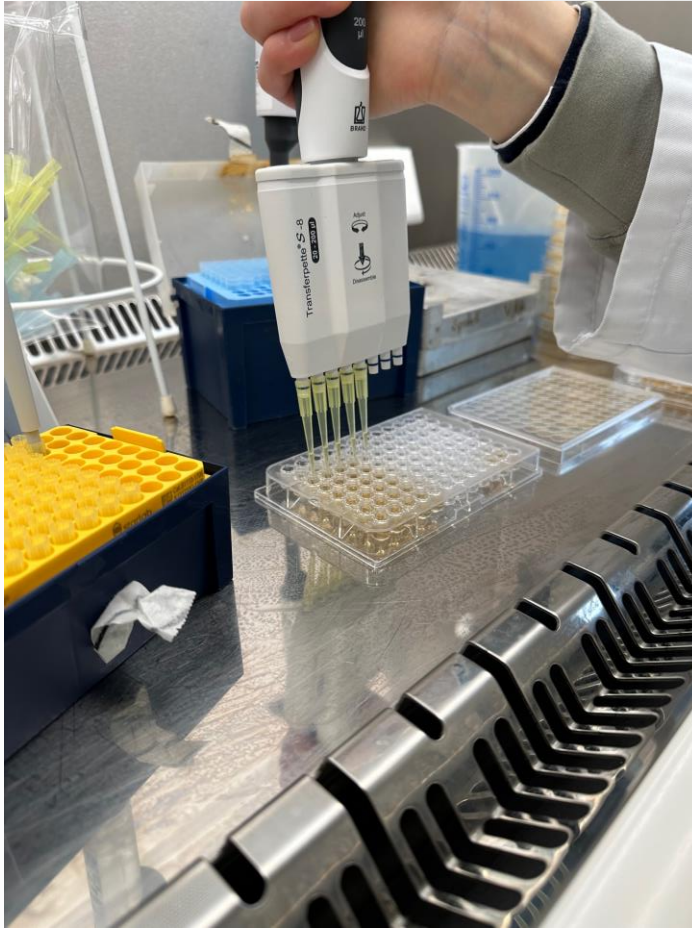
- VAH Methode 9: Quantitativer Suspensionsversuch (P2, S1)

Schema D3.1 zu Methode 9

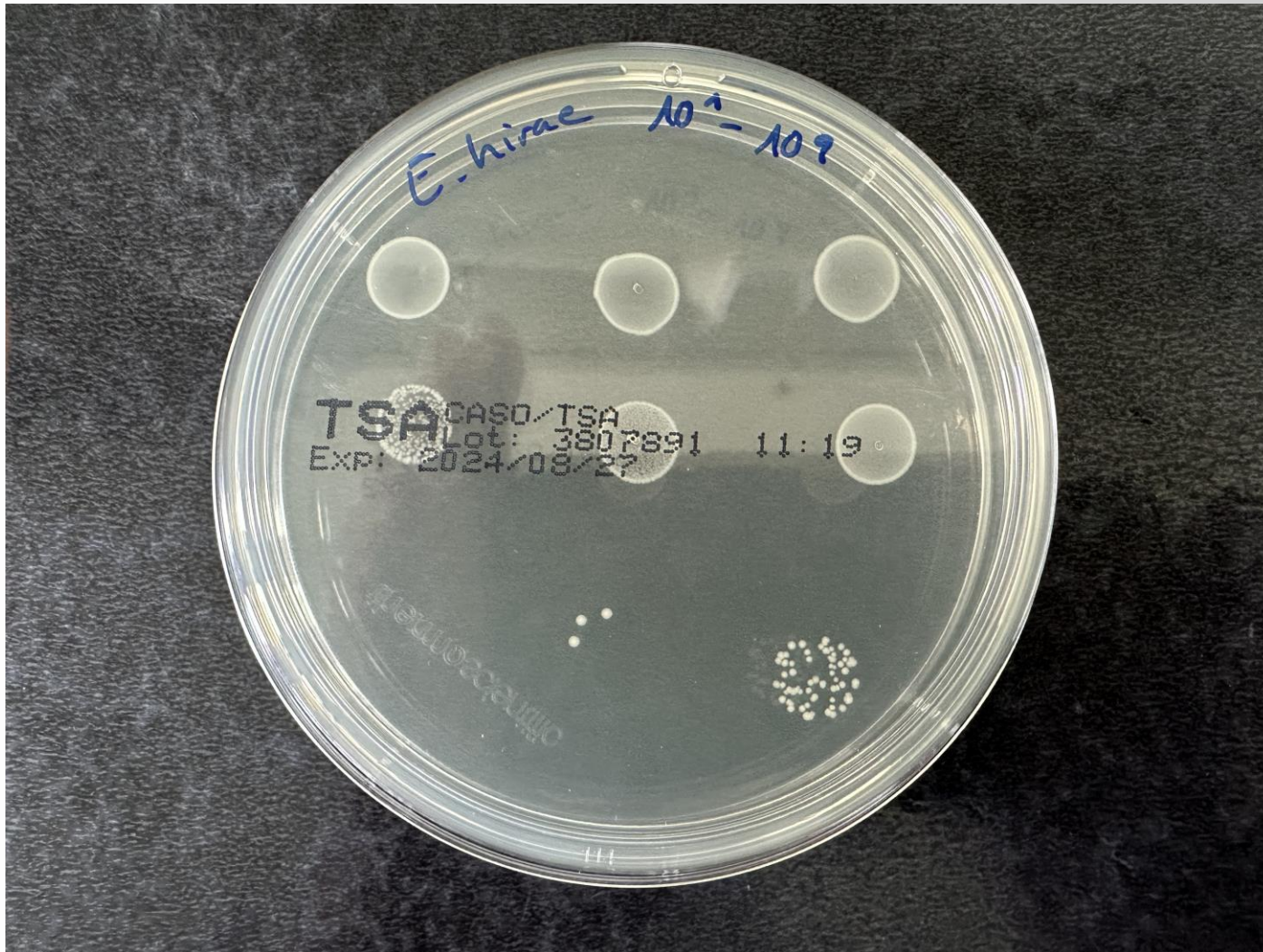
Quantitativer Suspensionsversuch – Verdünnungs-Neutralisations-Verfahren inkl. WSH-Kontrolle (Ko1)



Mikromethode 2-1



Mikromethode 2-1

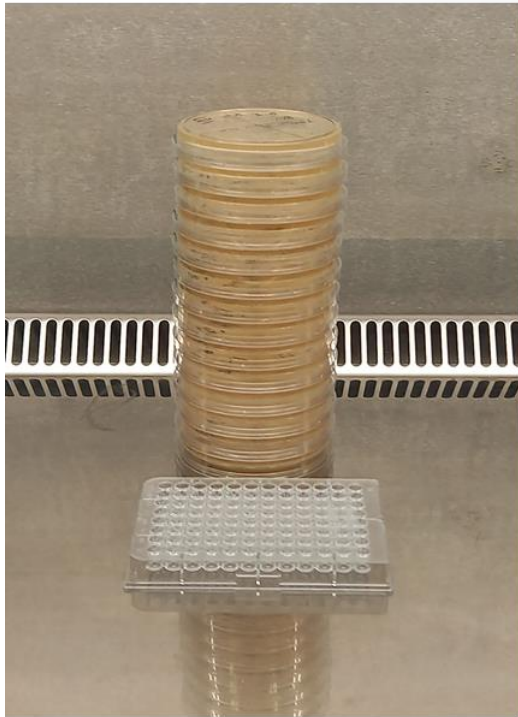


Mikromethode 2-1

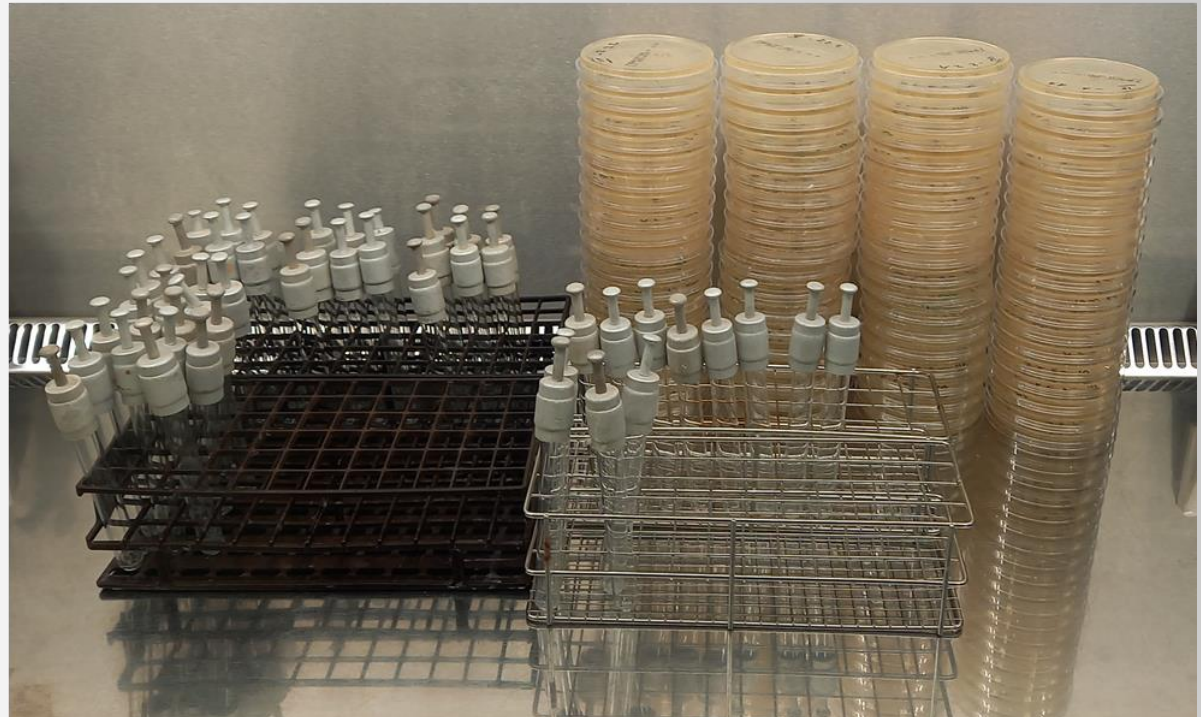
Materialverbrauch:

einfacher Testansatz
3 Konzentrationen / 3 Zeiten
+ Kontrollen

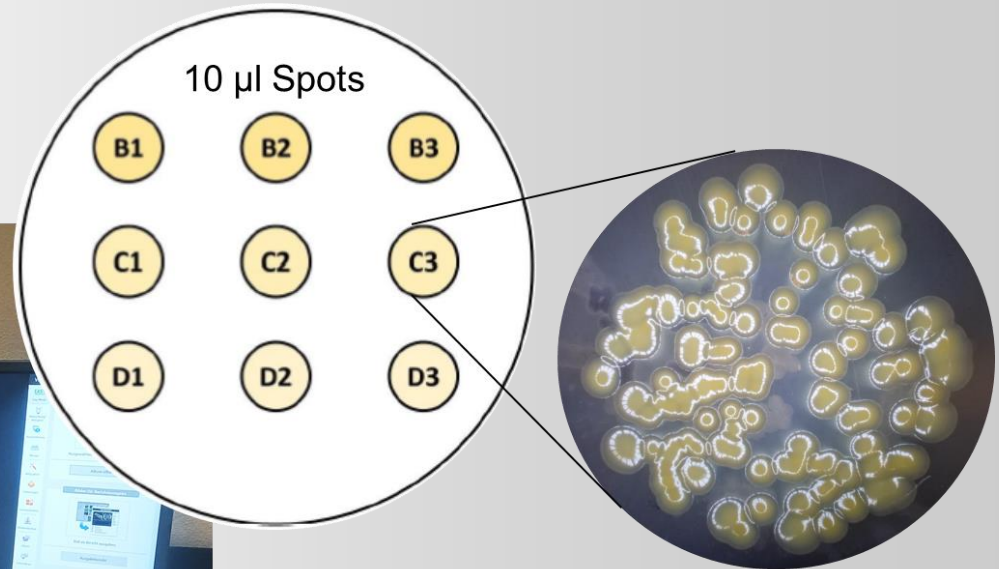
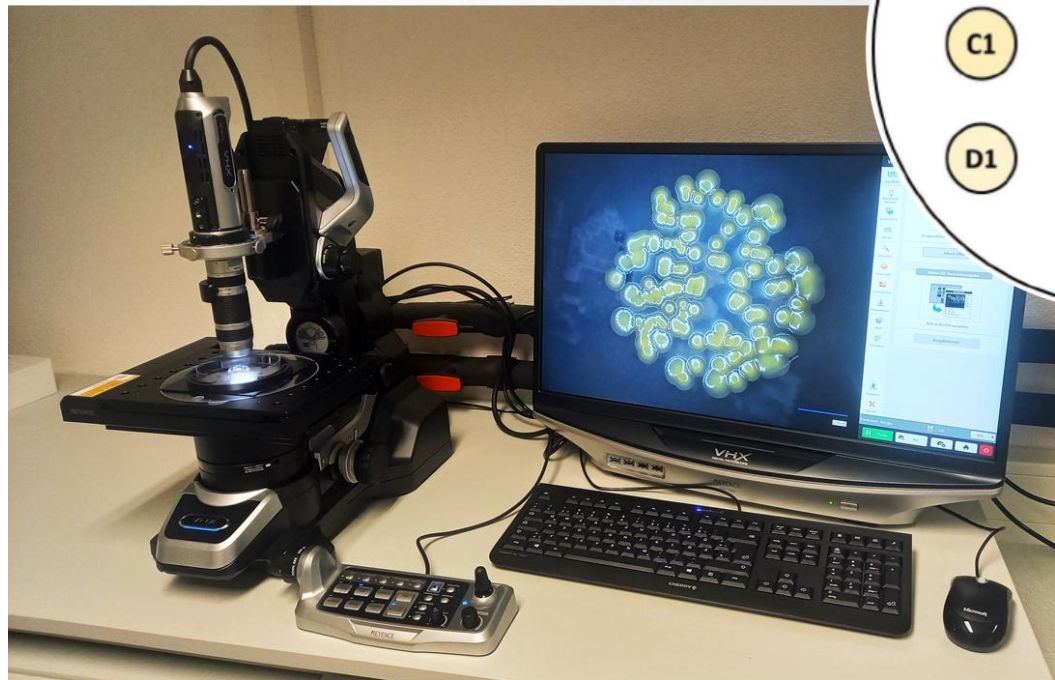
VAH 9m



VAH 9



Mikromethode 2-1



Evaluation of a microscale quantitative suspension test to determine the bactericidal and yeasticidal activity of glutaral – one step to improve sustainability in disinfectant testing

Evaluation einer Mikromethode eines quantitativen Suspensionsversuchs zur Bestimmung der bakteriziden und levuroziden Wirkung von Glutaral – ein Schritt zur Verbesserung der Nachhaltigkeit in der Desinfektionsmittel-Testung

Jürgen Gebel^{1,2}
Marvin Rausch^{1,2}
Katja Bientreu^{1,2}
Felix Droop¹
Maren Eggers^{2,3}
Lea Gebel¹
Stefanie Gemein⁴
Britt Hornei^{2,5}
Carola Ilschner^{1,2}
Anja Jacobshagen^{2,6}
Günter Kampf⁷
Cihan Papan¹
Kira Roesch^{1,2}
Luisa Schmitz¹
Miranda Suchomel^{2,8}
Lutz Vossebein^{2,9}
Nico T. Mutters¹
Martin Exner^{1,2}

Vergleich VAH-9 und Mikromethode

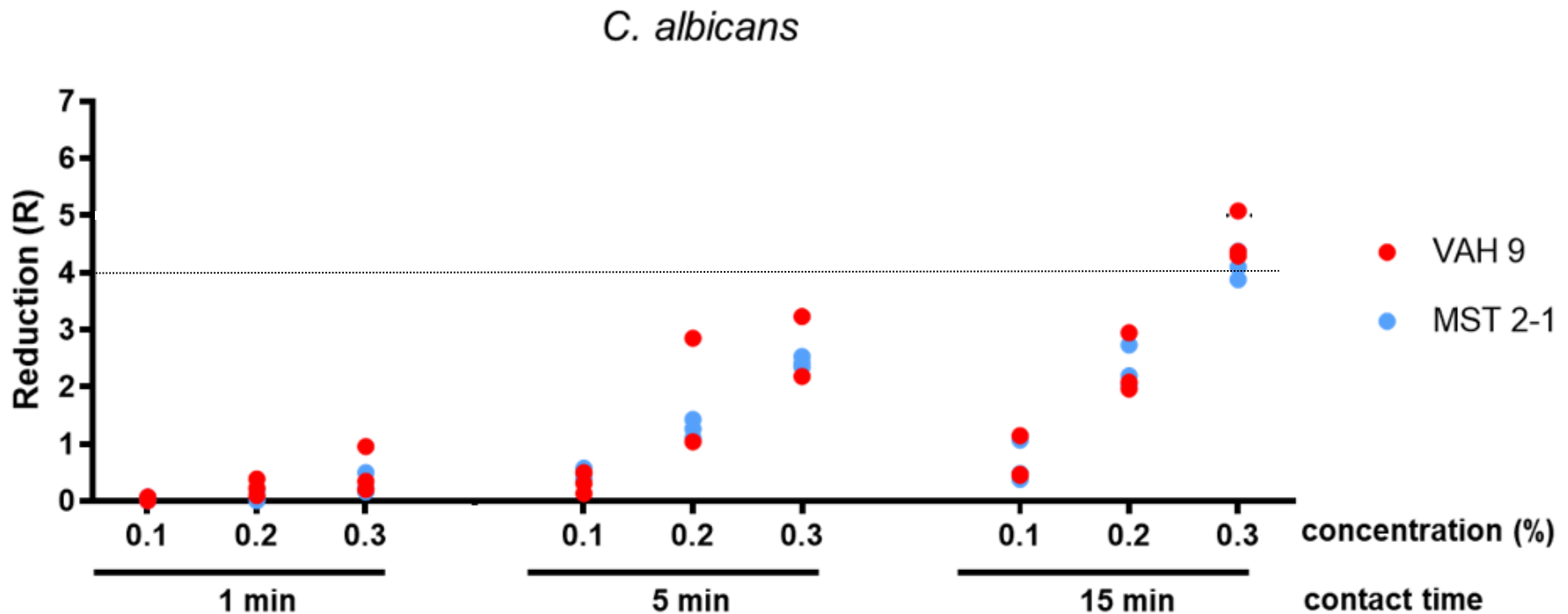


Figure 5: Reduction factors for glutaral concentrations 0.1%, 0.2% and 0.3% at the contact times 1 min, 5 min, and 15 min against *C. albicans*. Means from three independent biological replicates according microscale method (MST 2-1) and VAH method (VAH 9).

Zunahme von *Candida auris* in Deutschland im Jahr 2023

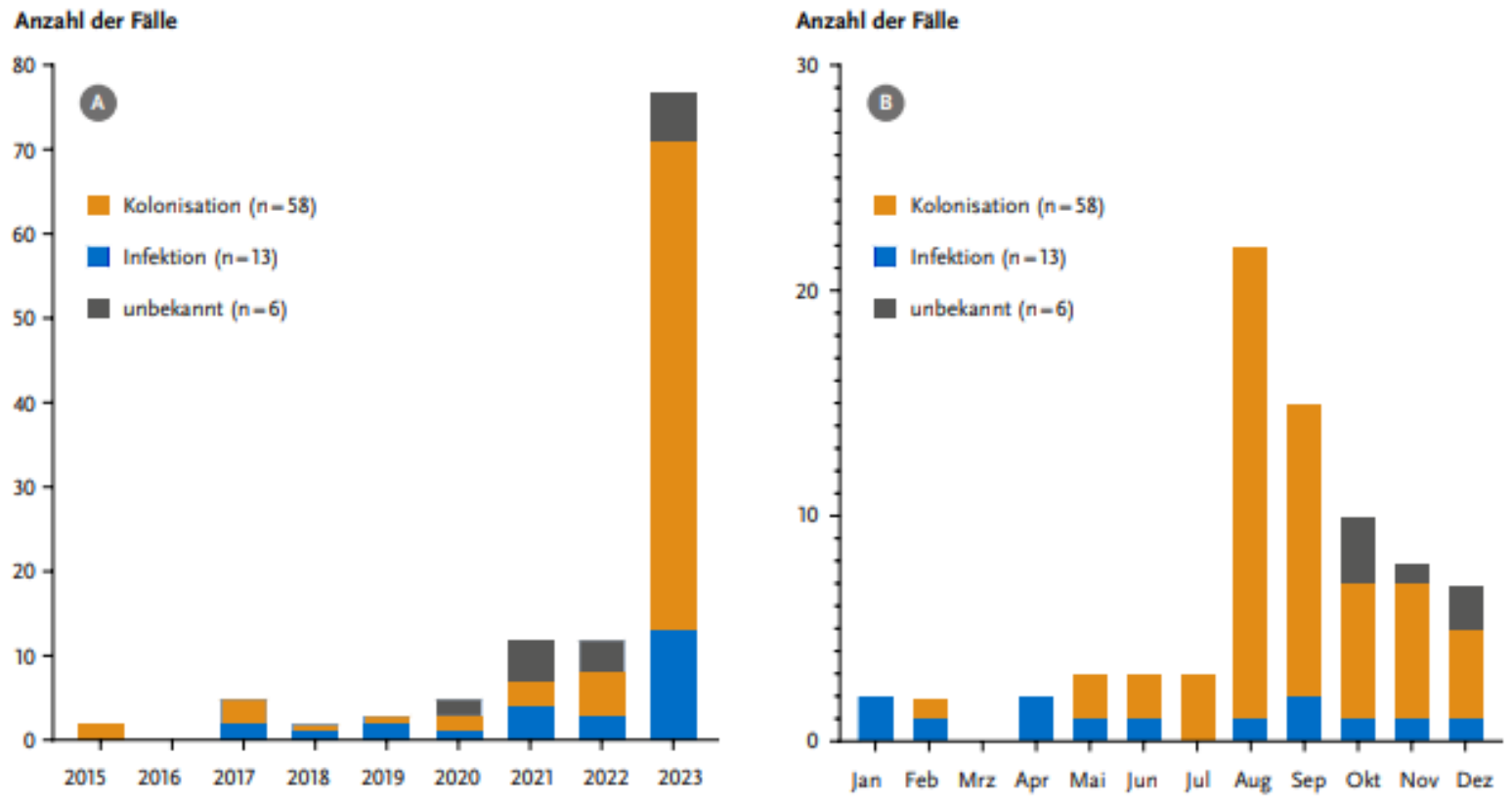


Abb. 1 | A) Anzahl der am NRZMyk eingegangenen *C. auris*-Primärisolate (n=77) im Zeitraum 2015–2023. Unterteilung nach Kolonisation, Infektion und unbekannt. B) Anzahl der am NRZMyk eingegangenen *C. auris*-Primärisolate im Verlauf des Jahres 2023. Unterteilung nach Kolonisation, Infektion und unbekannt. C) Anzahl der am NRZMyk eingegangenen *C. auris*-Primärisolate im Zeitraum 2023. Unterteilung nach Kladen. D) Anzahl der am NRZMyk registrierten *C. auris*-Fälle im Zeitraum 2023. Unterteilung nach Ausbruchgeschehen und Einzelnachweisen ohne detektierte Sekundärfälle.

NRZMyk = Nationales Referenzzentrum für invasive Pilzinfektionen

WHO fungal priority pathogens list

Kritische Priorität

- *Cryptococcus neoformans*
- *Candida auris*
- *Aspergillus fumigatus*
- *Candida albicans*

Hohe Priorität

- *Nakaseomyces glabrata* (*Candida glabrata*)
- *Histoplasma spp.*
- *Eumycetoma causative agents*
- *Mucorales*
- *Fusarium spp.*
- *Candida tropicalis*
- *Candida parapsilosis*

Mittlere Priorität

- *Scedosporium spp.*
- *Lomentospora prolificans*
- *Coccidioides spp.*
- *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*)
- *Cryptococcus gattii*
- *Talaromyces marneffeii*
- *Pneumocystis jirovecii*
- *Paracoccidioides spp.*

<https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>

Internationale Empfehlungen für *Candida auris*

Die CDC empfehlen „hospital grade“ Desinfektionsmittel bzw. Desinfektionsmittel, die in der Liste P der EPA als wirksam gegen *C. auris* ausgewiesen wurden.

Alternativ könnten nach CDC auch Mittel mit nachgewiesener Wirksamkeit gegen *C.-difficile*-Sporen verwendet werden (Liste K) <https://www.epa.gov/pesticide-registration/guidance-efficacy-evaluation-products-claims-against-drug-resistant-candida>.

Die ECDC empfehlen in ihrem Rapid Risk Assessment aus 2022 die Verwendung chlorhaltiger Produkte sowie Wasserstoffperoxid oder Produkte mit „dokumentierter fungizider Wirksamkeit“ und rät von der Verwendung von Produkten auf QAV-Basis ab <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-candida-auris-Feb2022.pdf> .

Demgegenüber bescheinigen Müller et al. die Eignung von *C. albicans* als Surrogatorganismus für die Auslobung der Levurozidie gemäß EN 13624 und EN 16615 einschließlich *C. auris* anhand von entsprechenden Tests mit auf dem Markt verfügbaren alkoholhaltigen und dem QAV-haltigen Produkten. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195670120302577>.

Vergleich *Candida albicans* und *Candida auris*

IPA	15 sec				30 sec				60 sec			
	MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9	
0,3g/l albumine	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD
<i>Candida albicans</i> DSM 1386												
25%	0,09	0,34	0,02	0,11	0,34	0,04	-0,04	0,01	0,43	0,03	-0,01	0,08
50%	0,55	0,07	1,32	0,39	0,81	0,07	3,11	0,48	2,07	0,15	4,51	0,57
80%	3,63	0,79	5,04	0,13	4,34	0,04	4,98	0,06	4,43	0,03	5,00	0,13
<i>Candida auris</i> DSM 21092												
25%	0,07	0,14	-0,05	0,21	0,63	0,16	-0,03	0,11	0,62	0,26	0,00	0,03
50%	2,07	0,96	3,91	1,78	3,78	0,92	4,41	1,07	3,94	0,90	5,01	0,13
80%	4,07	1,07	5,05	0,18	4,63	0,16	5,03	0,20	4,34	0,66	5,01	0,13

Barquat (DDAC)	1 min				5 min				15 min			
	MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9	
0,3g/l albumine	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD
<i>Candida albicans</i> DSM 1386												
0,005%	0,00	0,10	0,16		0,32	0,06	0,47		0,73	0,03	0,77	
0,025%	0,23	0,27	0,22		0,76	0,23	0,94		2,18	0,18	3,70	
0,10%	1,88	0,86	3,47		3,99	0,63	4,18		4,47	0,01	5,13	
<i>Candida auris</i> DSM 21092												
0,005%	-0,01	0,12	1,02		1,08	0,84	2,43		1,04	0,80	2,63	
0,025%	1,97	0,28	1,94		4,38	0,36	3,06		4,49	0,02	4,59	
0,10%	3,74	0,92	3,55		4,58	0,03	3,78		4,49	0,02	5,13	

Vergleich *Candida albicans* und *Candida auris*

GA	1 min				5 min				15 min			
	MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9	
	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD
0,3g/l albumine												
<i>Candida albicans</i> DSM 1386												
0,10%	0,04	0,04	-0,07	0,16	0,47	0,10	0,31	0,18	0,64	0,37	0,69	0,40
0,20%	0,08	0,10	0,23	0,15	1,26	0,16	1,65	1,04	2,32	0,37	2,33	0,54
0,30%	0,29	0,18	0,50	0,40	2,43	0,09	2,53	0,60	4,11	0,25	4,58	0,44
<i>Candida auris</i> DSM 21092												
0,10%	0,36	0,43	0,41		3,63	1,57	4,20		4,60	0,00	5,54	
0,20%	1,57	0,79	2,91		4,68	0,07	5,54		4,60	0,00	5,54	
0,30%	2,61	0,40	4,48		4,68	0,07	5,54		4,60	0,00	5,54	

PES 5/25 EB	1 min				5 min				15 min			
	MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9		MST-2-1		VAH 9	
	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD	Ig R	SD
0,3g/l albumine												
<i>Candida albicans</i> DSM 1386												
0,10%	0,30	0,4	-0,15	0,20	0,58	0,11	0,45	0,40	1,47	0,49	1,25	0,68
0,25%	0,97	0,1	0,66	0,48	3,61	0,85	2,87	0,62	4,42	0,16	4,94	0,13
0,75%	4,44	0,1	3,59	0,66	4,42	0,09	5,03	0,25	4,42	0,16	4,76	0,64
<i>Candida auris</i> DSM 21092												
0,10%	0,00	0,18	0,21	0,27	0,43	0,43	0,33	0,09	0,72	0,09	0,33	0,09
0,25%	0,01	0,12	0,21	0,27	0,52	0,31	0,33	0,09	0,93	0,19	0,59	0,27
0,75%	0,70	0,06	0,79	0,44	3,12	1,42	2,99	2,67	4,64	0,09	4,94	0,78

Conclusion

Für Produkte auf Basis von Alkohol, Aldehyden und QAV kann aufgrund der orientierenden Untersuchungen davon ausgegangen werden, dass *C. albicans* als Surrogat *C. auris* abdeckt.

Für Produkte auf Basis von Perverbindungen sollte überprüft werden, ob *C. albicans* der limitierende Testorganismus ist.
In diesen Fällen könnte eine Anwendung mit fungizider Konzentration und Einwirkzeit sicherer sein.

Desinfektionsmittel-Liste des VAH

Liste chemischer Verfahren für die prophylaktische Desinfektion sowie für die hygienische Händewaschung, die von der Desinfektionsmittel-Kommission im Verbund für Angewandte Hygiene (VAH) e.V. in Zusammenarbeit mit DGfHM, DGKH, GfV, GHUP und BVÖGD auf der Basis der **Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren** geprüft und als wirksam befunden wurden

Stand: 1. September 2023

20 JAHRE VAH

Gemeinsam für mehr Sicherheit im Infektionsschutz



mhp_medien



**VAH. Einfach. Sicher sein.
Der Standard für die
Desinfektion.**

VAH Desinfektionsmittel-Liste

Die VAH-Liste der Desinfektionsmittel.



Gepprüft und gelistet.

Die Desinfektionsmittel-Liste des VAH ist die Standardreferenz für die Desinfektion im Routinebetrieb bei medizinischen und nicht-medizinischen Einrichtungen.

Anwender finden darin Produkte zur chemischen Desinfektion. Diese wurden von akkreditierten Laboratorien und unabhängigen Gutachtern überprüft.



Für Anwender.

Anwenderinnen und Anwender können das Online-Portal der VAH-Liste kostenfrei nutzen und sich direkt hier registrieren. Das Verzeichnis der geprüften Desinfektionsmittel und Verfahren des VAH kann als Buch und E-Book über den Buchhandel oder Verlag beziehen.



Für Hersteller.

Für Hersteller (Anbieter und Vertriebler) von Desinfektionsmitteln ist die VAH-Liste der direkte und unmittelbare Zugang zur Zielgruppe. Sie können nach einer Überprüfung in die VAH-Liste aufgenommen werden.

Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!

www.vah-online.de

