

Anforderungen an die Präzision und Reproduzierbarkeit von Testverfahren bei der Wirksamkeitsbeurteilung chemischer Desinfektionsverfahren

Dr. Marvin Rausch

Problematik der Reproduzierbarkeit und Variabilität von Testergebnissen in mikrobiologischen Tests

Interlaboratory study for the evaluation of three microtiter plate-based biofilm quantification methods

Jontana Allkja^{1,2}, Frits van Charante³, Juliana Aizawa⁴, Inés Reigada⁵, Clara Guarch-Pérez⁶, Jesus Augusto Vazquez-Rodriguez⁷, Paul Cos⁴, Tom Coenye^{3,8}, Adyary Fallarero⁵, Sebastian A. J. Zaat⁶, Antonio Felici⁷, Livia Ferrari⁷, Nuno F. Azevedo¹, Albert E. Parker^{2,9} & Darla M. Goeres^{2,10}

Journal of Microbiological Methods 102 (2014) 55–64



Ruggedness and reproducibility of the MBEC biofilm disinfectant efficacy test



A.E. Parker^{a,b,*}, D.K. Walker^a, D.M. Goeres^a, N. Allan^c, M.E. Olson^c, A. Omar^c

^a Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozeman, MT 59715, USA
^b Department of Mathematical Sciences, Montana State University, Bozeman, MT 59715, USA
^c Innovotech Inc., Edmonton AB T6N 1H1, Canada



Review

Development, standardization, and validation of a biofilm efficacy test: The single tube method



Darla M. Goeres^{a,1,2}, Diane K. Walker^{a,3,4}, Kelli Buckingham-Meyer^{a,3}, Lindsey Lorenz^{a,3,5}, Jennifer Summers^{a,6}, Blaine Fritz^{a,6,7}, Danielle Goveia^{a,6}, Grace Dickerman^{a,4}, Johanna Schultz^{a,4}, Albert E. Parker^{a,b,*,2,8}

^a Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozeman, MT 59717, United States of America
^b Department of Mathematical Sciences, Montana State University, Bozeman, MT 59717, United States of America

Möglichkeiten inhärente statistische Variabilität mikrobiologischer Tests bei der Wirksamkeitsbeurteilung eines Desinfektionsmittels zu reduzieren



2 Prüfberichte aus unabhängigen, akkreditierten Laboratorien

KRINKO-Empfehlung: 2 Prüfberichte aus unabhängigen, akkreditierten Laboratorien



Deutsche Veterinär-
medizinische
Gesellschaft e.V.

1 Prüfbericht sowie eine unabhängige Eckwertüberprüfung in einem zweiten Labor

OECD

OECD-Methode
Flächendesinfektion

3 unabhängige Prüfdurchgänge in 1-3 unabhängigen Prüflaboratorien



Prüfung von 3 Chargen in 3 unabhängigen Versuchen



→ Allgemeine Tendenz zur Schaffung einer soliden reproduzierbaren Datenbasis zur Wirksamkeitsbeurteilung

Wissenschaftliche Begründung der Forderungen?

VAH-Ringversuch 2023-01: Bewertung der bakteriziden Wirksamkeit von Glutaraldehyd gegen *Staphylococcus aureus* mit dem quantitativen Suspensionsversuch nach DIN EN 13727:2015.

Teilnehmer: 31 Prüflaboratorien – davon 28 akkreditiert und 3 nicht-akkreditiert

Gewählte Glutaraldehydkonzentrationen:

| | |
|-----------------------|---------------|
| „unwirksam“ | 0,01% - 5 min |
| „intermediär wirksam“ | 0,05% - 5 min |
| „wirksam“ | 0,10% - 5 min |

→ **Wirksamkeitsurteilung gemäß Vortests im VAH-Referenzlabor**

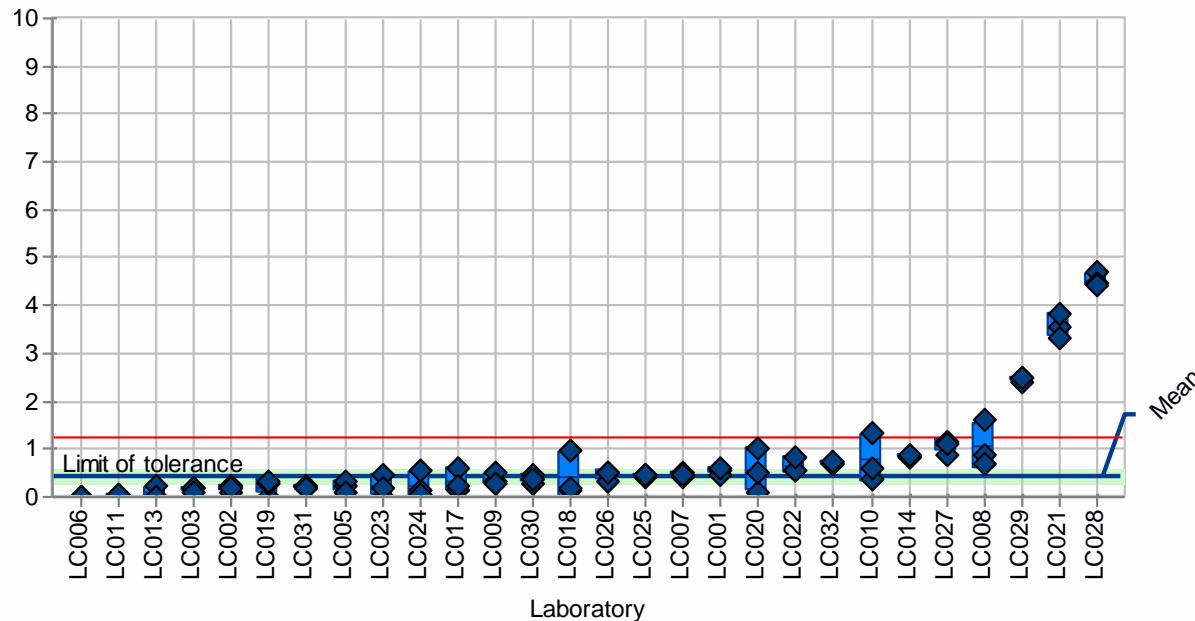
VAH-Ringversuch 2023-01: Bewertung der bakteriziden Wirksamkeit von Glutaraldehyd gegen *Staphylococcus aureus* mit dem quantitativen Suspensionsversuch nach DIN EN 13727:2015.

| Quantitativer Suspensionsversuch (EN 13727:2015) Reduktion von <i>Staphylococcus aureus</i> - geringe Belastung | | | |
|---|---------------|---------------|--------------|
| Produkt | Glutaraldehyd | | |
| Konzentration / Zeitrelation | 0,01% - 5 min | 0,05% - 5 min | 0,1% - 5 min |
| Anzahl Teilnehmer | 28 | 31 | 28 |
| Anzahl für Teilnehmer mit quantitativen Werten | 28 | 31 | 28 |
| Mean lg Reduktion ± 95% CI* | 0,42 ± 0,15 | 4,27 ± 0,32 | 5,31 ± 0,09 |
| Reproducibility SD | 0,42 | 0,93 | 0,26 |
| Repeatability SD | 0,13 | 0,34 | 0,11 |
| *CI: Konfidenzintervall; Repeatability SD: Standardabweichung der Wiederholbarkeit; Reproducibility SD: Standardabweichung der Reproduzierbarkeit | | | |

Rausch M, Droop F, Exner M, Gebel J, Ilshner C, Roesch K, Selhorst T, Mutters NT. Anforderungen an die Präzision und Reproduzierbarkeit von Testverfahren bei der Wirksamkeitsbeurteilung chemischer Desinfektionsverfahren. HygMed 2024; 49(4): D10 – D16.

„unwirksame“ Konzentration: 0,01% GA – 5 min

Reduktion von *Staphylococcus aureus* nach EN 13727:2015
 [Glutaraldehyd; 0,01% – 5 min] sortiert nach Labormittelwerten

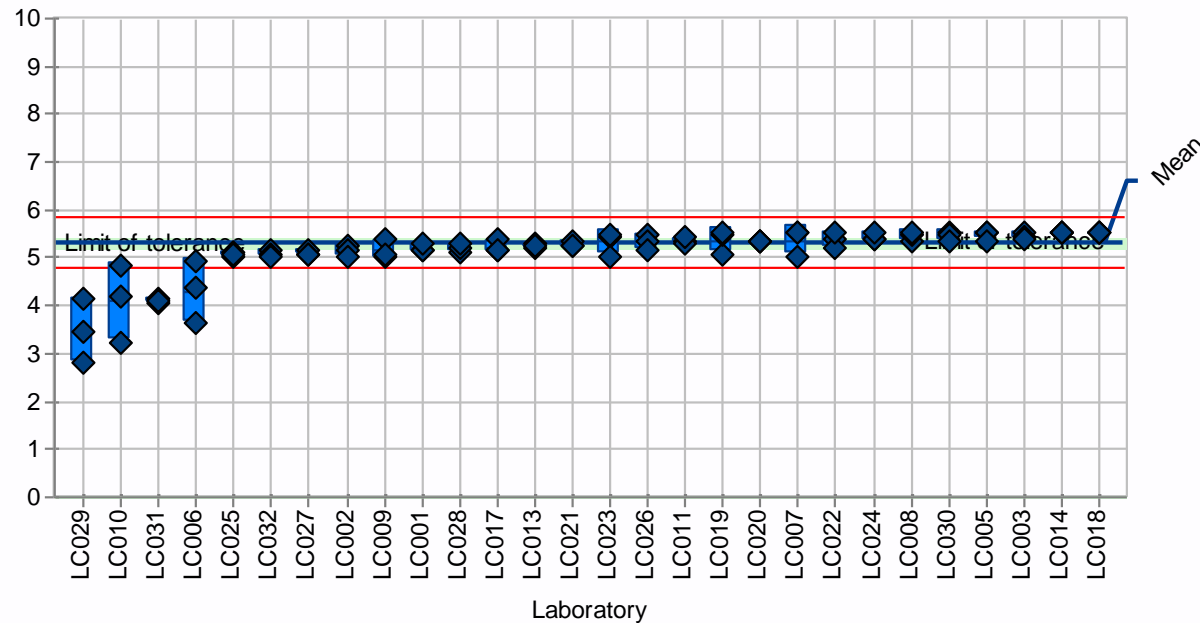


0/28 (0%) wirksam ($\lg-R \geq 5$)
28/28 (100%) unwirksam ($\lg-R \leq 5$)

→ Varianzanalyse (ANOVA): signifikanter Einfluss des Labors (p-Wert < 0,001)

„wirksame“ Konzentration: 0,1% GA – 5 min

Reduktion von *Staphylococcus aureus* nach EN 13727:2015
 [Glutaraldehyd; 0,1% – 5 min] sortiert nach Labormittelwerten

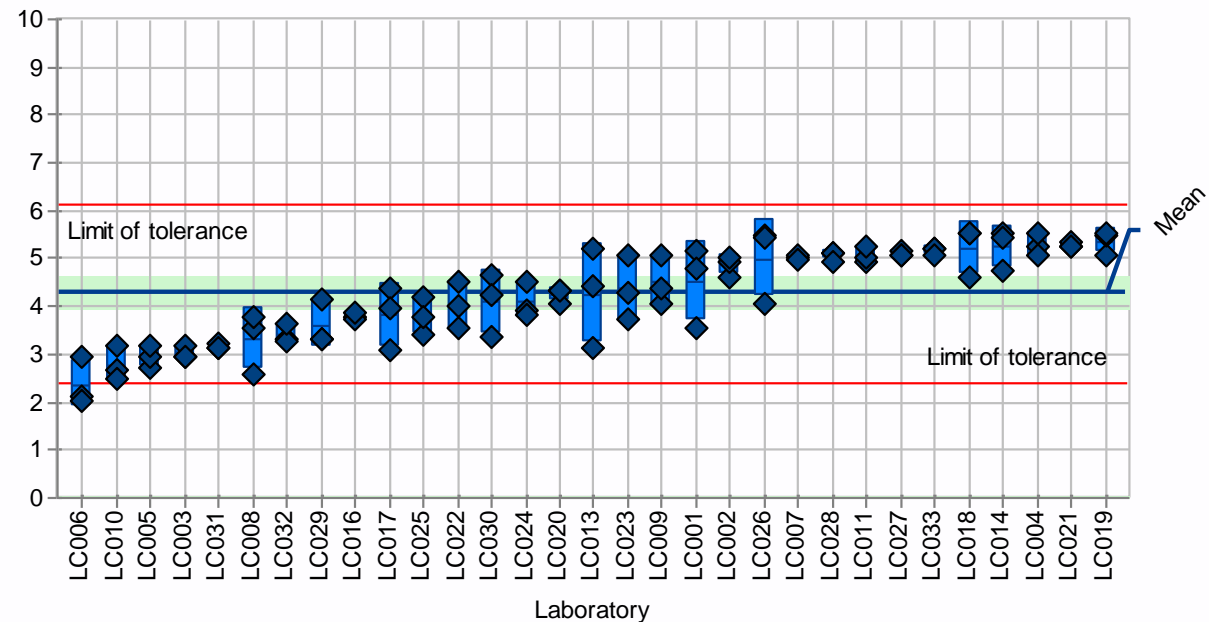


24/28 (85,7%) wirksam (lg-R ≥ 5)
4/28 (14,3%) unwirksam (lg-R ≤ 5)

→ Varianzanalyse (ANOVA): signifikanter Einfluss des Labors (p-Wert < 0,001)

„intermediäre“ Konzentration: 0,05% GA – 5 min

Reduktion von *Staphylococcus aureus* nach EN 13727:2015
 [Glutaraldehyd; 0,05% – 5 min] sortiert nach Labormittelwerten



10/31 (32,3%) wirksam ($\lg-R \geq 5$)
21/31 (67,7%) unwirksam ($\lg-R \leq 5$)

→ **Varianzanalyse (ANOVA): signifikanter Einfluss des Labors (p-Wert < 0,001)**

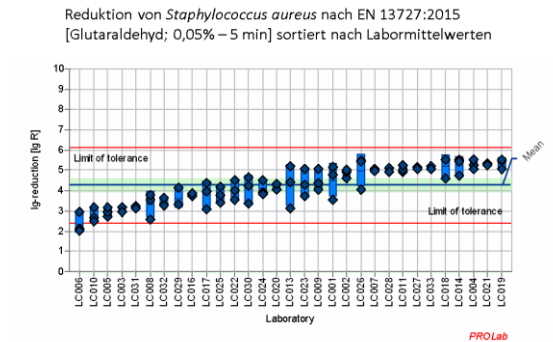
„intermediäre“ Konzentration: 0,05% GA – 5 min

→ Relevant durch Biozidgesetzgebung der EU → Anwenderschutz

10/31 (32,3%) wirksam ($\lg-R \geq 5$)

21/31 (67,7%) unwirksam ($\lg-R \leq 5$)

- Durch die Anzahl der Labore ergibt sich eine Anzahl an paarweisen Vergleichen von 465
- 45,2% (210) kommen zu einem ungleichen und 54,8% (255) zu einem gleichen Ergebnis.



„intermediäre“ Konzentration: 0,05% GA – 5 min

Vierfeldertafel der Simulation (N=10000) für den „intermediär wirksamen“ Bereich.

| Entscheidung | ein Labor | zwei Labore |
|--------------|-----------|-------------|
| wirksam | 3232 | 1026 |
| unwirksam | 6768 | 8974 |

Ein Labor: 32,3% der Fälle als „falsch-wirksam“

Zwei Labore: 10,3% der Fälle als „falsch-wirksam“

→ Chance um 76% gesenkt



© mhp Verlag 2024

Anforderungen an die Präzision und Reproduzierbarkeit von Testverfahren bei der Wirksamkeitsbeurteilung chemischer Desinfektionsverfahren

Marvin Rausch¹, Felix Droop¹, Martin Exner², Jürgen Gebel¹, Carola Ilchner¹, Kira Roesch¹, Thomas Selhorst³, Nico T. Mutters¹

¹Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit des Universitätsklinikums Bonn;

²Universität Bonn; ³Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Weitere Publikation in Vorbereitung

1. VAH 2023-01 Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich (Phase 2, Stufe 1);
Testorganismus: *Staphylococcus aureus*
2. Datensatz VAH 2020-01 EN 13624 - Quantitativer Suspensionsversuch (Phase 2, Stufe 1)
Testorganismus: *Candida albicans*
3. Datensatz VAH 2022-01 EN17387 Quantitativer Versuch auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Einwirkung (Phase 2, Stufe 2)
Testorganismus: *Enterococcus hirae*
4. Datensatz VAH 2019-02 Quantitativer Keimträgerversuch zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für Instrumente im humanmedizinischen Bereich (Phase 2, Stufe 2)
Testorganismus: *Mycobacterium terrae*

Schlussfolgerung:

- » Hohe Varianz der Ergebnisse zwischen Laboratorien im intermediären Bereich
- » Signifikante Erhöhung der Aussagekraft der Wirksamkeitsaburteilung durch ein zweites Prüflabor
- » **Die Studie liefert wissenschaftliche Belege für die Forderung nach 2 Prüfberichten aus zwei unabhängigen, akkreditierten Prüflaboratorien**

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!