

Die Bedeutung von Referenzsubstanzen in der Desinfektionsmitteltestung

Vortrag von Kira-Marie Roesch



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

Warum sind Referenzsubstanzen so wichtig?

Beginnen wir mit einer einfachen Frage:

- Würden Sie einem Testergebnis vertrauen, wenn Sie nicht wissen, ob es vergleichbar mit einem anderen Labor ist?

In der Desinfektionsmitteltestung ermöglichen Referenzsubstanzen genau das,

- Vergleichbarkeit zwischen Produkten,
- Reproduzierbarkeit zwischen Laboren,
- sowie Verlässlichkeit für Anwender und Behörden.

Sie sind definierte, standardisierte Wirkstoffe, die helfen, die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels objektiv einzuordnen.

Warum sind Referenzsubstanzen so wichtig?

- CEN TC 216 – WG 1 Standardmethoden

Bereiche	Phase/ Stufe	Wirksamkeitsbereiche						
		Bakterizid	Leveruzid	Fungizid	Tuberkulozid	Mykobakterizid	Viruzid	Sporizid
Hygienische Händewaschung	2/1	EN 13727	EN 13624	...	EN 14348	EN 14348	EN 14476	...
	2/2	EN 1499
Hygienische Händedesinfektion	2/1	EN 13727	EN 13624	...	EN 14348	EN 14348	EN 14476	...
	2/2	EN 1500	EN 17430	...
Chirurgische Händewaschung und Desinfektion	2/1	EN 13727	EN 13624
	2/2	EN 12791
Flächendesinfektion ohne Mechanik	2/1	EN 13727	EN 13624	EN 13624	EN 14348	EN 14348	EN 14476	...
	2/2	EN 17387	EN 17387	EN 17387	EN 16777	...
mit Mechanik	2/2	EN 16615	EN 16615	EN 16615	EN 16615	EN 16615	WI 00216xxxx	EN 17846 (C. diff)
Instrumentendesinfektion	2/1	EN 13727	EN 13624	EN 13624	EN 14348	EN 14348	EN 14476	EN 17126
	2/2	EN 14561	EN 14562	EN 14562	EN 14563	EN 14563	EN 17111	WI 00216xxxx
Chemisch-Thermische Wäschedesinfektion	2/1	EN 13727	EN 13624	...	EN 14348	EN 14348	EN 14476	EN 17126
	2/2	EN 16616	EN 16616	EN 16616	EN 16616	EN 16616
Wasserdesinfektion gegen Legionellen	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

Tabelle 1:
Standard-
methoden zur
Beurteilung der
Desinfektions-
mittelprodukte

Legende:
 Gelb: keine Norm vorhanden,
 ... : nicht geplant
 Helles Grün: Norm in Entwicklung
 Grün: Norm etabliert
 Dunkles Grün: Etablierte Norm mit
 Referenzsubstanzen

BISHERIGE SITUATION: Formaldehyd als Referenzsubstanz

Lange Tradition von Formaldehyd in der Desinfektionsmitteltestung:

- Preiswert
 - Zuverlässig über umfassenden Wirkbereich
 - Geringer Wirksamkeitseinfluss durch organischer Belastung
 - Geringer Wirksamkeitseinfluss durch pH-Wert
 - Chemische Stabilität über lange Zeit
 - Geringe Korrosivität
- ➔ **Bewährtes Desinfektionsmittel seit über 100 Jahren**

BISHERIGE SITUATION:

Formaldehyd als Referenz – ein Auslaufmodell

- Toxikologische Bewertung: krebserregend
- Arbeitsschutz: Innenraumgrenzwerte
- Ungeeignete Kinetik: lange Einwirkzeiten
- Limitierte Zulassung

→ **Dringender Bedarf nach neuen und sicheren Referenzsubstanzen!**

Was macht eine Substanz zur Referenzsubstanz?

Anforderungen für die Implementierung von Referenzsubstanzen:

- Relevanz für Produkte und Testdesign
- Langfristige und gute Verfügbarkeit für Laboratorien
- Stabilität der Referenzsubstanz
- Möglichkeit eines analytischen Nachweises
- Profil der Inaktivierungskinetik
- Akzeptable Varianz der Ig-Reduktion
- Einfache Suppression (Neutralisation)
- Geringe Zytotoxizität
- Sicher für den Anwender (Laborpersonal)

CEN TC216 WG1 Ringversuch 2023-24 - Zielsetzung

Ziel des Projektes:

- Ersatz für Formaldehyd
- Definition neuer Grenzwerte für Referenzsubstanzen in der Viruzidietestung
- Verbesserung der Vergleichbarkeit von Ergebnissen innerhalb und zwischen Laboratorien
- Aussagen zur Stabilität der Testviren

- Einhaltung statistischer Anforderungen an Ringversuchsdaten für ein robustes Daten Set:
 - mind. 8 teilnehmende Labore
 - Repeatability (Vergleichbarkeit innerhalb eines Labors) < 0.5
 - Reproducibility (Vergleichbarkeit zwischen Laboren) < 1.0

CEN TC216 WG1 Ringversuch 2023-24 - Studiendesign

- Methode: Quantitativer Suspensionsversuch nach EN 14476:2019
- Teilnehmer: 17 internationale Laboratorien
- Testviren:
 - a) Modified Vaccinia virus Ankara (MVA)
 - b) Adenovirus 5 (AV5),
 - b) Murine Norovirus (MNV),
 - d) Murine Parvovirus, Minute Virus of Mice (MVM),
 - e) Poliovirus Type 1 (Polio),
 - f) Bovine Enterovirus type 1 (ECBO).
- Testprodukte:
 - Glutaraldehyd 50% von Sigma Aldrich bei 20° C
 - Lerasept special 5% von Stockmeier GmbH bei 10° C
- Belastung: Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)
- Spezifische Konzentrations-Zeit Relationen für jedes Testvirus

CEN TC216 WG1 Ringversuch 2023-24 - Hauptergebnisse

Tabelle 2: Statistische Parameter der Ig-Reduktion für alle Testviren mit der jeweiligen Referenzsubstanz und den neuen festgelegten Grenzwerten für die Viruzdiagnostik .

Virus	Labore	Testbedingungen	Ig-Reduktion + CI	Repeatability	Reproducibility	Reduktionsbereich
MVA	12	GDA - 50 ppm - 5 min	1.40 ± 0.23	0.40	0.52	1,0 lg to 3,0 lg
AV5	8	GDA - 50 ppm - 30 min	1.99 ± 0.66	0.47	1.01	0,5 lg to 2,5 lg
MNV	10	GDA - 100 ppm - 30 min	2.09 ± 0.15	0.23	0.31	1,0 lg to 3,0 lg
MVM	8	GDA - 500 ppm - 30 min	1.68 ± 0.40	0.34	0.63	0,7 lg to 2,7 lg
Polio	10	GDA - 500 ppm - 30 min	2.77 ± 0.29	0.21	0.49	1,7 lg to 3,7 lg
ECBO	8	PAA - 25 ppm - 30 min	0.57 ± 0.46	0.41	0.75	< 1,6 lg
ECBO	8	PAA - 100 ppm - 30 min	3.43 ± 0.46	0.38	0.75	> 2,6 lg

GDA = Glutaraldehyde,
PAA = Peressigsäure,
CI = Confidence interval

Modified Vaccinia virus Ankara (MVA), Adenovirus 5 (AV5), Murine Norovirus (MNV), Murine Parvovirus, Minute Virus of Mice (MVM), Poliovirus Type 1 (Polio), Bovine Enterovirus type 1 (ECBO).

➤ Reproduzierbare Ergebnisse für alle 6 Testviren

BEDEUTUNG FÜR DIE PRAXIS

Weitreichende Auswirkungen auf die Qualitätssicherung in der Desinfektionsmittelprüfung:

➤ Verbesserte Testvalidität:

- Erstmalige Etablierung viruzider Referenzsubstanzen auf solider statistischer Basis
- Vergleichbarkeit zwischen Laboren und Produkten durch einheitliche Ig-Reduktionsbereiche
- Erhöhung der Zuverlässigkeit von Viruzidietests

➤ Arbeitssicherheit:

- Reduzierung der Exposition gegenüber dem krebserregenden Formaldehyd in Laboren
- Vertrauen in Wirksamkeitsangaben und Orientierung bei der Produktwahl

➤ Normenrevision:

- Überarbeitung europäischer Standards wie z.B.: FprEN 14476:2024 und EN 17914:2024 mit neuen Grenzwerten

AUSBLICK

- Es ist zu erwarten, dass neue Referenzsubstanzen folgen
 - Ethanol
 - Propan-2-ol
 - Quartäre Ammoniumverbindung

- Ebenfalls für weitere Mikroorganismenklassen

- Nutzung der neuen Referenzsubstanzen in der Viruzidie mit der Rechtfertigung einer Eckwertüberprüfung als Absicherung eines vorliegenden Gutachtens
 - Möglichkeit für die begrenzte Viruzidie

FAZIT

- wichtiger Fortschritt in der Standardisierung und Qualitätssicherung durch Ringversuche
 - Publiziert in GMS Hygiene and Infection Control:
Roesch, K.-M. et al. (2024, in press). Enhancing the validity of virucidal activity testing of chemical disinfectants by establishing new reference substances according to EN 14476:2019. GMS Hygiene and Infection Control.
- **Für Hersteller, Behörden, Labore und Anwender bedeutet dies:
mehr Sicherheit, Vergleichbarkeit und wissenschaftliche Exzellenz.**

Herzlicher DANK geht an:

Allen Mitgliedern der
Task Force Reference substances und
Mitautoren der Publikation:

- Leitung: Claudia Hildebrandt
- Birgit Hunsinger
- Florian Brill
- Ingeborg Schwebke
- Jürgen Gebel
- Katrin Steinhauer
- Maren Eggers
- Martin Exner
- Marvin Rausch
- Michele Cavalleri
- Nico Mutters
- Sophie Loeffert


Allen teilnehmenden Laboratorien:

- BluTest Laboratories Ltd (Glasgow, United Kingdom)
- bactologicum GmbH (Itzehoe, Germany)
- CIRLAM Laboratory (Ieper, Belgium)
- Dr. Brill + Partner GmbH (Bremen, Germany)
- Eurofins Biolab Srl (Vimodrone, Italy)
- Henkel AG & Co KGaA (Düsseldorf, Germany)
- HygCen Austria GmbH (Bischofshofen, Austria)
- HygCen Germany GmbH (Schwerin, Germany)
- Institut de Recherche Microbiologique (Croissy Beaubourg, France)
- IKI - Institut für Krankenhaushygiene und Infektionskontrolle GmbH (Gießen, Germany)
- LABOKLIN - Labor für Klinische Diagnostik GmbH & Co. KG (Bad Kissingen, Germany)
- Laboratoires Anios (Lezennes, France)
- Labor Prof. Dr. G. Enders MVZ GbR (Stuttgart, Germany)
- Mérieux NutriSciences (Resana, Italy)
- MSL Solution Providers (Walmersley Bury, Great Britain)
- Robert Koch Institut (Berlin, Germany)
- TECOLAB Sdn. Bhd. (Kuala Lumpur, Malaysia)

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Kira-Marie Roesch
Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit Universitätskliniken Bonn
Abteilung Desinfektionsmittel-Testung
Venusberg-Campus 1
53127 Bonn

Kira-Marie.Roesch@ukbonn.de

A photograph of laboratory glassware including a beaker, two Erlenmeyer flasks, and a small vial, all containing a blue liquid. A pipette is shown dispensing the liquid into the beaker. The background is a blurred laboratory setting.

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