

## Mangelhaft aufbereitete wiederverwendbare Tuchspendersysteme zur Flächendesinfektion können eine Infektionsquelle darstellen

Deutschsprachige Version von: Kampf et al.: Poorly processed reusable surface disinfection tissue dispensers may be a source of infection. BMC Infectious Diseases 2014, 14:37.



# Forschungsartikel: Mangelhaft aufbereitete wiederverwendbare Tuchspendersysteme zur Flächen-desinfektion können eine Infektionsquelle darstellen

Günter Kampf<sup>1,2\*</sup>, Stina Degenhardt<sup>3</sup>, Sibylle Lackner<sup>3</sup>, Katrin Jesse<sup>3</sup>, Heike von Baum<sup>4</sup> und Christiane Ostermeyer<sup>3</sup>

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** In vielen Ländern nutzen Krankenhäuser wiederverwendbare Tuchspendersysteme zur Flächen-desinfektion, da sie einen schnellen Zugang zu vorge-tränkten Tüchern für die gezielte Flächendesinfektion bieten. Desinfektionslösungen auf Basis bestimmter Wirkstoffe können jedoch kontaminieren und Ausbrüche verursachen. Wir ermittelten die Häufigkeit kontami-nierter Flächendesinfektionslösungen in wiederverwend-baren Spendern und die Fähigkeit der Isolate, sich in verschiedenen Formulierungen zu vermehren.

**Methode:** Es wurden zufallsbasiert wiederverwend-bare Tuchspender mit verschiedenen Flächendesinfekti-onsmitteln in Gesundheitseinrichtungen gesammelt und die Anwendungslösungen auf bakterielle Kontamination untersucht. In Suspensionsversuchen wurde die Wirk-samkeit von zwei Flächendesinfektionsmitteln gegenüber isolierten Bakterien direkt aus einer kontaminierten Lö-sung oder nach fünfmaliger Passagierung ohne Selekti-onsdruck in dreifacher Ausfertigung ermittelt. Frisch zubereitete Anwendungslösungen wurden kontaminiert, um die Überlebensfähigkeit der Isolate festzustellen.

**Ergebnisse:** In 15 Gesundheitseinrichtungen wurden 66 Spender gesammelt, die Anwendungslösungen mit oberflächenaktiven Wirkstoffen enthielten. 28 Spender von neun Einrichtungen waren kontaminiert mit rund  $10^7$  Zellen pro ml. Am häufigsten traten *Achromobacter species 3* (9 Einrichtungen), *Achromobacter xylosoxidans* oder *Serratia marcescens* (jeweils 1 Einrichtung) auf. In keinem der Krankenhäuser waren die Spender korrekt aufbereitet worden. Die Isolate erlangten ihre Empfind-lichkeit gegenüber den Desinfektionsmitteln nach fünf-

maliger Passagierung ohne Selektionsdruck wieder, waren jedoch in der Lage, sich in verschiedenen Präpara-ten unterschiedlicher Hersteller bei Raumtemperatur in-nerhalb von 7 Tagen zu vermehren.

**Fazit:** Die unsachgemäße Aufbereitung von Spendern für Flächendesinfektionstücher trug dazu bei, dass An-wendungslösungen, die auf oberflächenaktiven Wirkstof-fen basieren, häufig und stark kontaminierten. Aus diesem Grund sollte der Aufbereitung solcher Tuchspen-der in der klinischen Praxis ein höherer Stellenwert bei-gemessen werden.

**Schlüsselwörter:** Flächendesinfektion, wiederver-wendbare Spender, oberflächenaktive biozide Inhalts-stoffe, bakterielle Kontamination, *Achromobacter spp.*, Adaptation, Biofilm.

\* Korrespondenz: guenter.kampf@bode-chemie.de

1 BODE SCIENCE CENTER, Bode Chemie GmbH, Melanchthonstr. 27, 22525 Hamburg, Deutschland

2 Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Walther-Rathenau-Str. 49a, 17475 Greifswald, Deutschland

Eine vollständige Liste mit Autoreninformationen befindet sich am Ende des Beitrags.

## Hintergrund

Das zunehmende Auftreten multiresistenter Gram-negativer Bakterien in Zusammenhang mit nosokomialen Infektionen hat dazu beigetragen, das Bewusstsein für die Verhütung einer Übertragung [1], beispielsweise durch Händedesinfektion oder gezielte Flächendesinfektion [2], zu erhöhen. Insbesondere Flächen in der unmittelbaren Patientenumgebung und solche mit häufigem Händekontakt sollten regelmäßig mit einem Flächendesinfektionsmittel abgewischt werden, das auf quartären Ammoniumverbindungen (QAV), Amininen, Glucoprotamin oder Amphotensiden (alle zusammengefasst unter „oberflächenaktiven Wirkstoffen“), Aldehyden, Alkoholen oder sauerstoffaktiven Verbindungen [3] basieren kann. Mit dem Ziel, die gezielte Flächendesinfektion in Bereichen mit häufigem Händekontakt oder in Risikobereichen wie Intensivstationen zu erleichtern, wurden in den letzten Jahren Spender für Flächendesinfektionstücher immer beliebter [4]. Sie werden auch als eine von vielen Maßnahmen zur Bekämpfung von Ausbrüchen empfohlen, zu Beispiel bei *Serratia marcescens* auf neonatologischen Stationen [5]. Die Hersteller der Spender geben normalerweise Empfehlungen zur Aufbereitung, bevor der Spender wieder mit Anwendungslösung und Tuchrolle befüllt wird. Jedoch ist nicht bekannt, in welchem Umfang diese Empfehlungen in der klinischen Praxis eingehalten werden. Im Rahmen eines Ausbruches *Serratia spp.* auf einer neonatologischen Station wurden wir darüber informiert, dass rund  $10^7$  Zellen pro ml von „Pseudomonas-Spezies“ in einem einzelnen Spender gefunden wurden. Dieser Spender enthielt eine Desinfektionslösung, die auf der QAV Benzalkoniumchlorid (BAC) basierte (Exner M.; persönliche Mitteilung). Aus diesem Grund ermittelten wir die Häufigkeit kontaminierter Flächendesinfektionslösungen in wiederverwendbaren Spendern und die Fähigkeit der Isolate, sich in verschiedenen Formulierungen zu vermehren und Biofilme zu bilden.

## Methode

### Ermittlung der Kontaminationsrate von Spendern in Gesundheitseinrichtungen

70 Spender bzw. Anwendungslösungen aus Spendern wurden zufallsbasiert zusammen mit weitergehenden Informationen in verschiedenen Gesundheitseinrichtungen gesammelt. Zu den weitergehenden Informationen gehörten das Datum der letzten Befüllung, Art und Datum der letzten Routineaufbereitung sowie Angaben zur Art der Desinfektionsmitteldosierung (manuelle Dosierung oder mit einem dezentralen Dosiergerät). Der Fokus lag auf Flächendesinfektionslösungen, die nur auf oberflächenaktiven Wirkstoffen wie zum Beispiel quartären Ammoniumverbindungen (QAV), Amininen oder Glucoprotamin basierten. Auch andere Präparate wurden gesammelt, die Alkohole oder Aldehyde in Kombination mit QAV enthielten. Es wurden vorzugsweise 0,5 %ige Anwendungslösungen einbezogen, die als wirksam innerhalb 1 Stunde gelten und für Risikobereiche (z.B. Intensivstationen und OP) [6] sowie Flächen mit häufigem Händekontakt empfohlen werden. Jede Anwendungslösung wurde mittels Verdünnungsreihe in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon, der ein Neutralisationsgemisch (0,1 % Histidin, 0,1 % Cystein, 0,3 % Lecithin, 3 % Tween 80) enthielt, auf bakterielle Kontamination untersucht. Das Neutralisationsgemisch war validiert und für alle getesteten Produkte wirksam. Volumina von 1 ml wurden auf Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar ausgespatelt und für 72 Stunden bebrütet. Die Kolonien wurden gezählt, um die Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) pro ml zu ermitteln. Sobald eine starke Kontamination der Lösung festgestellt wurde, wurde die jeweilige Spezies anhand MALDI Massenspektrometrie (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland) identifiziert. Eine Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) der *Achromobacter species 3*-Isolate wurde mit dem Xba I als Restriktionsenzym [7] durchgeführt.

## Überlebensfähigkeit der Isolate in Anwendungslösungen über einen Zeitraum von 28 Tagen

Um herauszufinden, ob die Isolate sich in verschiedenen Arten von Desinfektionsmittellösungen vermehren können, wurden 3 Spender pro Produkt kontaminiert. Dazu wurden Volumina von 25 ml der Bakteriensuspension mit einer Zellanzahl von ca.  $10^7$  Zellen pro ml verwendet. Nach drei Tagen wurden die Tuchrollen eingesetzt (X-Wipes; Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland) sowie Anwendungslösungen (0,5 %) mit vier Flächendesinfektionsmitteln hinzugefügt (Mikrobac forte und Kohrsolin FF, Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland; Terralin protect, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland; Incidin plus, Ecolab Deutschland GmbH, Düsseldorf, Deutschland). Drei verschiedene Kontaminanten wurden verwendet: adaptierte *Achromobacter species 3* direkt aus einer kontaminierten Anwendungslösung, dasselbe Isolat, allerdings fünfmalig auf Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar passagiert, um eine Deadaptation herbeizuführen, sowie die eng verwandte Spezies *Achromobacter xylosoxidans* (ATCC 27061). Der Spender wurde mit 2,5 l der Desinfektionsmittellösung befüllt. Anschließend wurden alle mit Anwendungslösung und Tuchrolle befüllten Spender über 28 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Am 7., 14., 21. und 28. Tag fand eine Probenentnahme statt. Nach einer Verdünnungsreihe in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon, die ein Neutralisationsgemisch enthielt (0,1 % Histidin, 0,1 % Cystein, 0,3 % Lecithin, 3 % Tween 80), wurde die Anzahl der Kolonie-bildenden Einheiten (KBE) ermittelt.

## Adaptation der Isolate an das Flächendesinfektionsmittel

Um herauszufinden, ob die Isolate, die in den Flächendesinfektionsmittel-Lösungen gefunden wurden, sich an die Formulierung angepasst hatten, wurde die bakterizide Wirkung von Mikrobac forte und Incidin plus (1 % 30 min, 0,5% 1 Stunde, 0,25% vier Stunden) gegenüber den in den Lösungen gefundenen Spezies mit demselben Stamm direkt aus der kontaminierten Lösung ohne Passagierung und nach fünfmaliger Passagierung (auf Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar bei 37 °C und ohne Selektionsdruck) gemäß EN 13727 [8] unter hoher Belastung in Dreifachbestimmung bestimmt. Die entsprechenden ATCC-Stämme wurden ebenfalls getestet. Ein Anstieg der Empfindlichkeit der Isolate von Passage 0 zu Passage 5 galt als Beweis für eine Adaptation.

## Bildung von Biofilm in der Anwendungslösung über einen Zeitraum von 23 Tagen

Die Biofilmbildung wurde in dreifacher Ausfertigung mit einem *Achromobacter species 3*- und einem *Serratia marcescens*-Stamm wie bei O'Toole et al. beschrieben [9] gemessen. Bei beiden Stämmen wurde sowohl das adaptierte (Passage 0) als auch das deadaptierte Zellstadium (Passage 5) verwendet. Es wurde eine Mikrotiterplatte aus Polypropylen (Thermo Fisher Scientific, Langenselbold, Deutschland) genutzt, da die meisten wiederverwendbaren Spender für Flächendesinfektionstücher aus diesem Material gefertigt sind. Die Flüssigkeit zur Kontaminierung wurde für beide Spezies aus Lösungen mit Desinfektionsmitteln auf Basis von oberflächenaktiven Wirkstoffen (Mikrobac forte, Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland; Terralin protect, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland; Incidin plus, Ecolab Deutschland GmbH, Düsseldorf, Deutschland), steriler physiologischer Kochsalzlösung (Negativkontrolle) und Trypton-Soja-Bouillon (TSB; Positivkontrolle) zubereitet, sodass eine Zellkonzentration von rund  $10^7$  KBE/ml vorlag. Die Mikrotiterplatten wurden mit 300 µl Kontaminierungsflüssigkeit pro Vertiefung befüllt und für drei Tage unter eine Sterilbank gestellt. Anschließend wurde in jede Vertiefung 300 µl Desinfektionsmittellösung (0,5 %), physiologische Kochsalzlösung oder Trypton-Soja-Bouillon gefüllt. Die Mikrotiterplatten wurden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Bildung von Biofilm wurde nach 2, 3, 4, 5 und 24 Stunden sowie nach 2, 8, 10 und 23 Tagen quantitativ bestimmt. Zu jedem Zeitpunkt wurden die Platten ausgeschüttet, vorsichtig in ein Wasserbad getaucht, mit 300 µl 2 %igem Kristallviolett für 15 Minuten eingefärbt, wieder ins Wasserbad getaucht und abschließend mit 300 µl 30 %iger Essigsäure befüllt, um das Kristallviolett zu lösen. Nach 15 Minuten bei Raumtemperatur wurde die Absorption bei 550 nm gegen 30 %ige Essigsäure in Wasser gemessen. Die Absorption in der Negativkontrolle galt als Basiswert. Die  $OD_{550\text{ nm}}$ -Werte für die unspezifische Hintergrundfärbung jeder Desinfektionsmittellösung bzw. jedes TSB-Mediums wurde von den Rohwerten jeder Desinfektionsmittellösung bzw. des TSB-Mediums abgezogen. Die Biofilmbildung in der Desinfektionsmittellösung und der Positivkontrolle wurde aus dem Verhältnis zwischen ihrem mittleren  $OD_{550\text{ nm}}$ -Wert und dem mittleren  $OD_{550\text{ nm}}$ -Wert der Negativkontrolle berechnet und als relative Veränderung beschrieben.

## Ergebnisse

Die Spender bzw. die Anwendungslösungen aus Spendern wurden in 15 Gesundheitseinrichtungen (13 Krankenhäusern, 2 Arztpraxen) in 4 unterschiedlichen Regionen Deutschlands gesammelt. 66 der Lösungen enthielten Flächendesinfektionsmittel, das auf oberflächenaktiven Wirkstoffen basieren – 51 enthielten eine Konzentration von 0,5 %, 11 eine Konzentration von 0,25 %. Bei 4 Spendern war die Desinfektionsmittelkonzentration nicht bekannt. 4 Spender enthielten auch Aldehyde (0,5 %ige Lösung) bzw. Alkohol (gebrauchsfertige Lösung). Die mittlere Zeitspanne zwischen der letzten Befüllung und der Sammlung der Spender betrug 17,7 Tage (Minimum: drei Tage; Maximum: 58 Tage). In keiner der Gesundheitseinrichtungen wurden die Spender gemäß den Herstellerangaben aufbereitet. In 28 Anwendungslösungen mit oberflächenaktiven Wirkstoffen (42,4 %) wurde eine hohe Kontamination mit  $10^6$  bis  $10^7$  Zellen pro ml festgestellt, wohingegen die Desinfektionsmittel mit zusätzlichem Aldehyd bzw. Alkohol keine relevante Kontamination aufwiesen. Sobald eine Kontamination nachgewiesen wurde, wurde die entsprechende Gesundheitseinrichtung sofort informiert, sodass andere Spender umgehend entfernt werden konnten. In allen 9 Gesundheitseinrichtungen, aus denen kontaminierte Anwendungslösungen stammten, wurde *Achromobacter species 3* nachgewiesen, in einem Fall wurde darüber hinaus *Serratia marcescens* isoliert. *Achromobacter xylosoxidans* wurde in 1 Spender gefunden. Für die PFGE standen 8 Isolate von *Achromobacter species 3* zur Verfügung; es handelte sich hierbei um 7 unterschiedliche Stämme, 2 Isolate aus einem Krankenhaus waren genotypisch identisch.

Mit einer mittleren  $\log_{10}$ -Reduktion zwischen 0,00 und 0,09 erreichte Incidin plus bei beiden Konzentrationen keine ausreichende bakterizide Wirksamkeit gegenüber den 2 Spenderisolaten (Passage 0; siehe Tabelle 1). Bei Mikrobac forte wurden bei einem Spenderisolat ähnliche Ergebnisse festgestellt (mittlere Reduktion zwischen 0,00 und 0,08  $\log_{10}$ -Stufen), es war jedoch viel wirksamer gegenüber einem anderen Isolat (mittlere Reduktion zwischen 2,39 und 6,04  $\log_{10}$ -Stufen). Nach fünfmaliger Passagierung der Isolate stieg die Wirksamkeit in den meisten Fällen an. Gegenüber den ATCC-Stämmen waren beide Desinfektionsmittel in hohem Maße wirksam.

*Achromobacter species 3* war in der Lage, sich bei Raumtemperatur in 3 unterschiedlichen Flächendesinfektionsmitteln, die auf oberflächenaktiven Wirkstoffen basierten (bei allen 0,5 %ige Konzentration; siehe Tabelle 2), zu vermehren. Eine Vermehrung wurde innerhalb 1 Woche bis zu 4 Wochen festgestellt. Die Zellanzahl stieg dabei auf bis zu  $10^7$  Zellen pro ml an, unabhängig davon, ob adaptierte oder passagierte Zellen verwendet wurden. Bei Flächendesinfektionsmitteln mit zusätzlichem Aldehyd (0,5 %ige Lösung; Tabelle 2) oder Alkohol (gebrauchsfertig, Daten nicht gezeigt) wurde bei *Achromobacter species 3* keine Vermehrung beobachtet. Bei *Achromobacter xylosoxidans* ATCC 27061 hingegen wurde über einen Zeitraum von 4 Wochen in keiner der Desinfektionsmittellösungen, die auf oberflächenaktiven Wirkstoffen basierten, eine Vermehrung festgestellt.

Bereits nach wenigen Stunden bildeten sich in den Mikrotiterplatten aus Polypropylen bei allen mit *Achromobacter species 3* oder *Serratia marcescens* kontaminierten Flächendesinfektionsmittel-Lösungen ein Biofilm. Nach 23 Tagen bildete *Achromobacter species 3* sowohl im adaptierten als auch deadaptierten Zellstadium in allen Desinfektionsmittellösungen fünfmal mehr Biofilm (Abbildung 1). Ähnliche Ergebnisse wurden bei *Serratia marcescens* beobachtet (Abbildung 2). Lediglich in der Positivkontrolle waren beide Isolate in der Lage, große Mengen an Biofilm (bis zu 145 Mal so viel) zu bilden, wobei eine starke Biofilmbildung eher bei den deadaptierten Zellen zu erkennen war. Zwischen den drei Flächendesinfektionsmittel-Lösungen wurde kein bedeutender Unterschied festgestellt.



**Tabelle 1:**

Mittlere  $\log_{10}$ -Reduktion zweier Flächendesinfektionsmittel gegenüber unpassagierten und passagierten Isolaten aus kontaminierten Anwendungslösungen

Bakterielle Spezies (Herkunft)	Flächendesinfektionsmittel, Konzentration (Einwirkzeit)			Passage 0	Passage 5
<i>Achromobacter species 3</i> (Spenderisolat)	Mikrobac forte	1%	(0,5 h)	$\geq 6,04$	$\geq 6,80$
	Mikrobac forte	0,5%	(1 h)	$4,61 \pm 0,17$	$\geq 6,76$
	Mikrobac forte	0,25%	(4 h)	$2,39 \pm 0,13$	$4,43 \pm 0,09$
<i>Serratia marcescens</i> (Spenderisolat)	Mikrobac forte	1%	(0,5 h)	$0,08 \pm 0,04^*$	$6,82 \pm 0,62$
	Mikrobac forte	0,5%	(1 h)	$0,08 \pm 0,06^*$	$2,38 \pm 0,03$
	Mikrobac forte	0,25%	(4 h)	$0,00 \pm 0,02^*$	$< 1,68$
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (ATCC 27061)	Mikrobac forte	1%	(0,5 h)	$\geq 7,35$	n. d.
	Mikrobac forte	0,5%	(1 h)	$6,29 \pm 1,02$	n. d.
	Mikrobac forte	0,25%	(4 h)	$6,28 \pm 0,16$	n. d.
<i>Achromobacter species 3</i> (Spenderisolat)	Incidin plus	1%	(0,5 h)	$0,03 \pm 0,06$	$4,59 \pm 0,06$
	Incidin plus	0,5%	(1 h)	$0,06 \pm 0,04$	$2,37 \pm 0,01$
	Incidin plus	0,25%	(4 h)	$0,09 \pm 0,06$	$< 2,27$
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (Spenderisolat)	Incidin plus	1%	(0,5 h)	$0,05 \pm 0,03$	$\geq 7,02$
	Incidin plus	0,5%	(1 h)	$0,02 \pm 0,01$	$5,42 \pm 0,13$
	Incidin plus	0,25%	(4 h)	$0,00 \pm 0,04$	$4,58 \pm 0,07$
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (ATCC 27061)	Incidin plus	1%	(0,5 h)	$\geq 7,18$	n. d.
	Incidin plus	0,5%	(1 h)	$\geq 7,18$	n. d.
	Incidin plus	0,25%	(4 h)	$\geq 7,19$	n. d.

n. d. = nicht durchgeführt

*Achromobacter species 3*, *Achromobacter xylosoxidans* und *Serratia marcescens* isoliert aus Passage 0 und 5; n = 3; unter hoher Belastung; \*Aufgrund der Co-Kontamination mit *Achromobacter species 3* wurde Passage 1 genutzt.

**Tabelle 2:**

Anzahl der KBE pro ml der Spenderisolate bei Raumtemperatur, die in frisch angesetzte Flächendesinfektionsmittel-Lösung eingebracht wurden

Produkt in einer Verdünnung, die innerhalb von 60 Minuten wirksam ist	Wirkstoff(e) des unverdünnten Produktes; Konzentration (w/w)	Zelltypen	Spender	KBE/ml					
				7. Tag	14. Tag	21. Tag	28. Tag		
Mikrobac forte (0,5 %)	Benzyl-C12-18-alkyldimethylammoniumchlorid (19,9 %) N-(3-Aminopropyl)-N-dodecylpropan-1,3-diamin (5 %)	Adaptierte Zellen	1	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			3	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
		Deadaptierte Zellen	1	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			3	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
		ATCC 27061	1	0	0	0	0		
			2	0	0	0	0		
			3	0	0	0	0		
Kohrsolin FF (0,5 %)	Glutaral (5 %) Benzyl-C12-18-alkyldimethylammoniumchlorid (3 %), Didecyldimethylammoniumchlorid (3 %)	Adaptierte Zellen	1	0	0	0	0		
			2	0	0	0	0		
			3	0	0	0	0		
		Deadaptierte Zellen	1	0	0	0	0		
			2	0	0	0	0		
			3	0	0	0	0		
		Terralin protect (0,5 %)	Quaternäre Ammoniumverbindung, Benzyl-C12-16-alkyl-dimethylchlorid (22 %), 2-Phenoxyethanol (17 %), Aminoalkylglycin (0,9 %)	Adaptierte Zellen	1	60	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.
					2	45	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.
					3	35	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.
Deadaptierte Zellen	1			10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
	2			10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
	3			10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
ATCC 27061	1			0	0	0	0		
	2			0	0	0	0		
	3			0	0	0	0		
Incidin plus (0,5 %)	Glucoprotamin (26 %)	Adaptierte Zellen	1	10 <sup>3</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			3	10 <sup>3</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
		Deadaptierte Zellen	1	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
			3	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	n. d.	n. d.		
		ATCC 27061	1	0	0	0	0		
			2	0	0	0	0		
			3	0	0	0	0		

n. d. = nicht durchgeführt

*Achromobacter species 3* (Passage 0 als adaptierte Zellen und Passage 5 als deadaptierte Zellen) oder *Alcaligenes xylosoxidans* ATCC 27061 nach bis zu 28 Tagen in einer frisch angesetzten Desinfektionsmittellösung (2,5 l) zusammen mit Tüchern in einem neuen Spender, der vor Befüllung mit 25 ml Inokulum (ca. 10<sup>7</sup> KBE pro ml) kontaminiert wurde.

Die Häufigkeit der bakteriellen Kontamination, die in den Lösungen mit Flächendesinfektionsmitteln auf Basis von oberflächenaktiven Wirkstoffen gefunden wurde, war mit einer Gesamtrate von 42 % überraschend hoch. Soweit wir wissen, wurde keiner der eingesammelten kontaminierten Spender in den teilnehmenden Gesundheitseinrichtungen als Quelle für nosokomiale Infektionen identifiziert bzw. stand mit solchen in Zusammenhang, wobei wir nicht ausschließen können, dass einzelne Übertragungen aufgetreten sein könnten, aber nicht bemerkt oder gemeldet worden sind. In den meisten Fällen wurde *Achromobacter species 3* nachgewiesen, aber auch *Serratia marcescens* und *Achromobacter xylosoxidans* wurden isoliert. *Achromobacter spp.* lösen bekanntermaßen nur sehr selten nosokomiale Infektionen wie Sepsis, Pneumonie oder Peritonitis aus [10]. Insbesondere schwer kranke Patienten, zum Beispiel auf der neonatologischen Station oder solche mit Immunsuppression, sind gefährdet [11]. Der Hauptgrund für eine Kontamination des Flächendesinfektionsmittels scheint in der unsachgemäßen Aufbereitung der wiederverwendbaren Tuchspender zu liegen. In einem Krankenhaus wurden die Spender nur mit Leitungswasser gespült. In einem weiteren Krankenhaus wurde das letzte Tuch dazu genutzt, den Spender innen kurz auszuwischen. Deshalb ist es unabdingbar, dass eine wirksame Aufbereitung nicht nur von den Herstellern empfohlen, sondern auch vom Personal in den Gesundheitseinrichtungen korrekt durchgeführt wird.

Die mangelhafte Aufbereitung hat vermutlich dazu beigetragen, dass sich die bakteriellen Zellen an die Anwendungslösungen adaptieren – wie bei *Achromobacter species 3* gezeigt wurde – und Biofilm bilden konnten. Die Entwicklung einer Toleranz bei Verwendung von BAC wurde bereits beschrieben [12]. Diese Toleranz kann jedoch wieder verloren gehen [12]. Bei unseren *Achromobacter species 3*- und *Serratia marcescens*-Isolaten konnten wir das gleiche Muster feststellen, was darauf hinweist, dass die herabgesetzte Empfindlichkeit wahrscheinlich auf eine vorübergehende Adaptation an BAC oder Glucoprotamin zurückzuführen ist. Eine Adaptation an BAC hat potenziell schädliche Auswirkungen. Sie kann in der Phase nach der Adaptation als Antwort auf den antimikrobiellen Druck die Biofilmbildung von Zellen, die gegenüber BAC nicht resistent sind, erheblich erhöhen [13]. Ursprünglich resistente Isolate waren während der Adaptation vermutlich einem geringeren Zellstress ausgesetzt, und die Biofilmbildung erhöhte sich deshalb nur gering [13]. Isolate, die gegenüber BAC resistent sind, sind häufig auch resistent gegenüber verschiedenen Arten von Antibiotika (14, 15) oder anderen Tensidarten wie zum Beispiel Benzethoniumchlorid oder

Alkyldiaminoethylglycin [16]. Unter der Annahme, dass die meisten Isolate in der klinischen Praxis ursprünglich nicht resistent sind, sollte man von einer ziemlich hohen Biofilmbildung bei Gram-negativen Isolaten ausgehen, die in Anwendungslösungen mit BAC überleben oder sich sogar vermehren. Dieser Aspekt macht eine gründliche Reinigung der Spender noch wichtiger, und zwar nicht nur bei Spendern die über einen Zeitraum von 28 Tagen in Gebrauch sind, sondern auch bei denen, die jeden Tag mit einer frisch angesetzten Desinfektionsmittellösung eingesetzt werden [17].

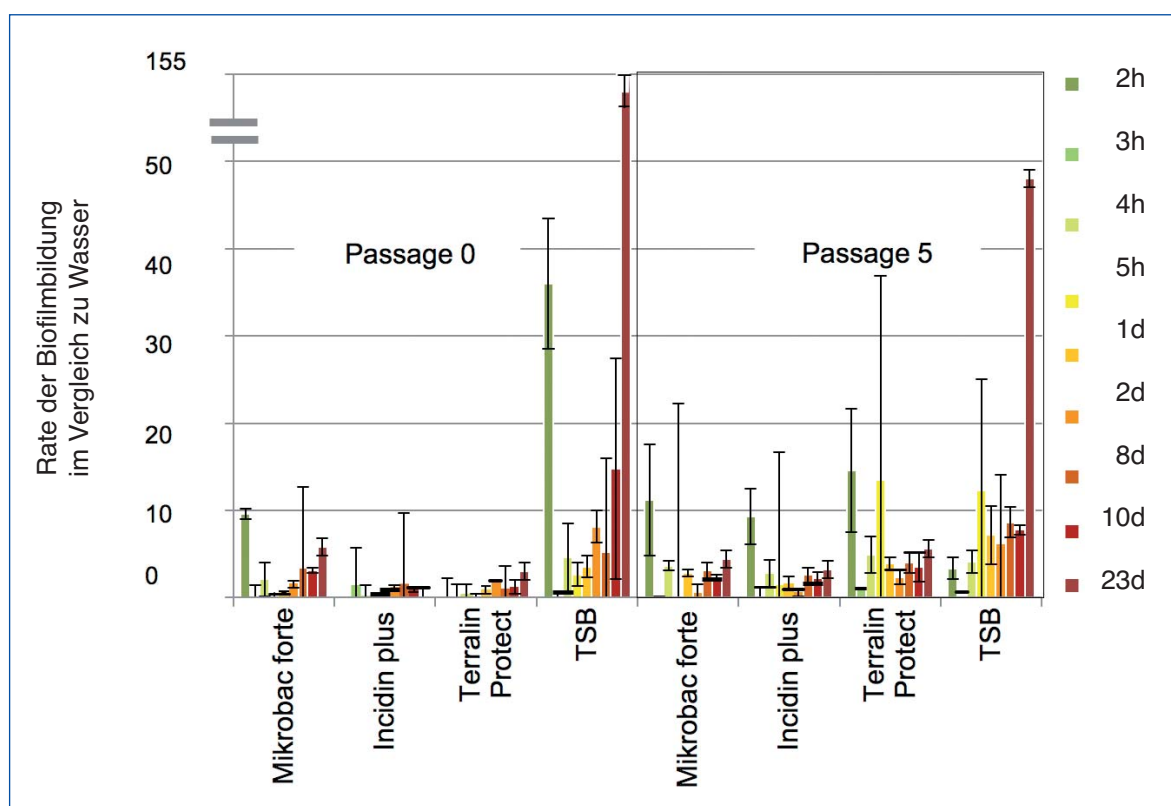
Wir stellten fest, dass sich *Achromobacter species 3* bei Raumtemperatur vermehrte, was nicht die optimale Wachstumstemperatur dieser Spezies ist [18]. Dieses Wachstum konnte nur in Anwendungslösungen (0,5 %) nachgewiesen werden, aber nicht in Wasser. Dies lässt darauf schließen, dass diese Lösungen eine „günstige Umgebung“ für eine bakterielle Vermehrung bieten. Es ist bekannt, dass verschiedene Gram-negative Spezies unterschiedlich empfindlich gegenüber BAC sind [19]. Lösungen mit bestimmten Wirkstoffen können kontaminiert werden und damit zu einer Übertragung von Erregern beitragen, was im schlimmsten Fall in einem Ausbruch enden kann [20, 21]. Die meisten Ausbrüche standen im Zusammenhang mit Lösungen, die auf Benzalkoniumchlorid (BAC) basieren, der in der Flächendesinfektion am häufigsten genutzten QAV. Trat eine Kontamination bei BAC auf, wurde entweder eine Gram-negative bakterielle Spezies (z.B. Pseudomonaden, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia* oder *Enterobacter aerogenes*) oder in 2 Fällen mykobakterielle Spezies nachgewiesen [20]. Bei Formulierungen mit BAC oder in einem auf QAV basierenden Desinfektionsmittel wurde bereits eine Vermehrung von *Serratia marcescens* auf bis zu  $10^7$  Zellen pro ml beschrieben [22, 23]. Der Grund hierfür ist bisher nicht vollständig erforscht, einige Mechanismen wurden jedoch aufgeklärt. Die wiederholte Exposition von *Serratia marcescens* gegenüber einem QAV hat bewiesenermaßen das Auftreten von Mutanten herbeigeführt, die nicht nur gegenüber mehreren Arten von Bioziden, sondern auch gegenüber strukturell und funktionell vielfältigen Antibiotika resistent waren [24]. Eine Exposition der Mutanten gegenüber der QAV führte zu einer Überexpression einer Effluxpumpe, SdeAB [24]. Ähnliche Beobachtungen wurden mit Glucoprotamin gemacht. Pancer et al. führten aus, dass die Wirksamkeit von Glucoprotamin reduziert wird, wenn Mikroorganismen in Biofilm vorhanden sind [25]. Im Vergleich zu Formulierungen basierend auf Natriumdichlorisocyanurat oder Kaliumperoxidsulfat wies das auf Glucoprotamin basierende Desinfektionsmittel



die geringste Wirksamkeit gegenüber biofilmbildenden Bakterien auf [25]. Es wurde beschrieben, dass *Alcaligenes xylosoxidans* Triclosan als Kohlenstoffquelle nutzen kann und somit im Laufe der Zeit zu einer Reduzierung der Triclosankonzentration führt [26]. Bei unseren Beispielen aus den Krankenhäusern konnten wir jedoch keine reduzierten Konzentrationen von BAC feststellen, was darauf hinweist, dass BAC nicht in einem relevanten Maße verstoffwechselt wird [27, 28].

Es wird deutlich, dass die derzeitige klinische Praxis der Spenderaufbereitung mit ihrem „alles schnell, schnell“-Ansatz keine sicheren Flächendesinfektionsmittel-Lösungen mit Produkten, die auf oberflächenaktiven Wirkstoffen basieren, über eine Nutzungsdauer von 28 Tagen gewährleisten kann. In einigen Fällen nicht mal über 3 Tage. Erste Daten weisen darauf hin, dass die Aufbereitung kontaminierter Spender aus der klinischen Praxis nicht so einfach ist wie viele Anwender annehmen, wenn eine Rekontamination der Desinfektionsmittellösung über einen Zeitraum von 28 Tagen verhindert werden soll [29]. Diese Erkenntnis weckt ernste Zweifel an den Herstellerempfehlungen zur Spenderaufbereitung, wenn diese nicht durch fundierte wissenschaftliche Nachweise ge-

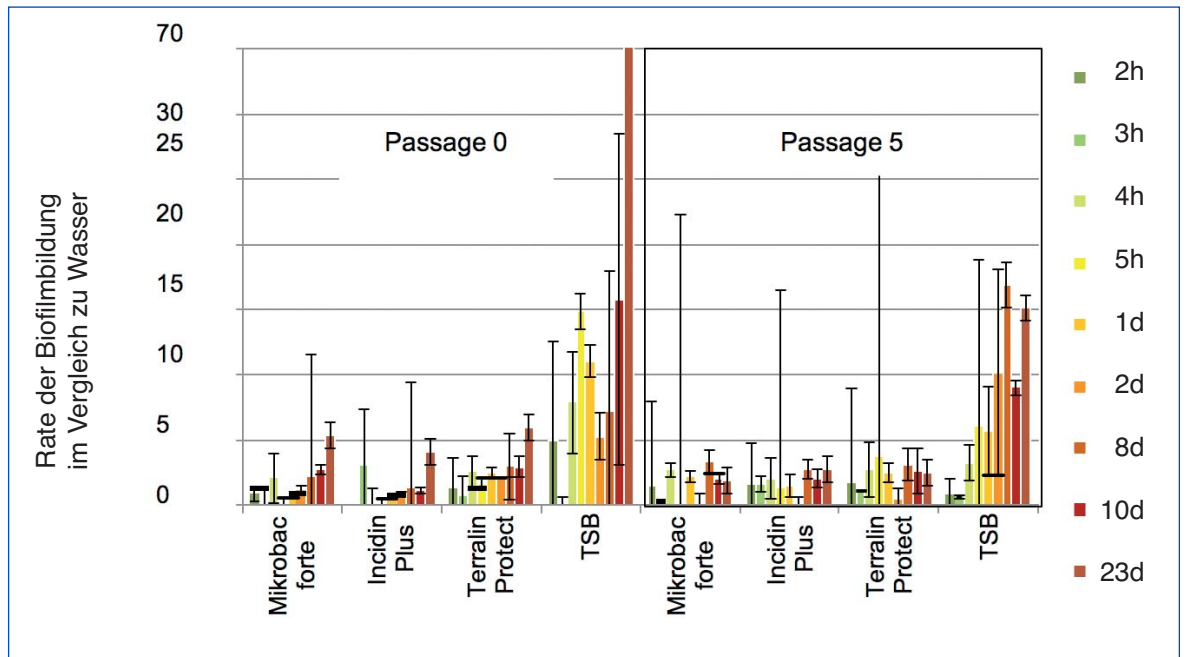
stützt werden. Aus diesem Grunde sollten evidenzbasierte Empfehlungen zur Spenderaufbereitung so schnell wie möglich verfügbar gemacht werden. Es existieren bereits einige Beispiele, wie etwa für wirksame maschinelle (professionelle Reinigungs-Desinfektionsgeräte; mindestens 5 Minuten bei 55 °C bis 60 °C) und manuelle Prozesse (gründliches Ausspülen mit heißem Wasser, Trocknung, gründliche Desinfektion mit einem alkoholischen Flächendesinfektionsmittel, Trocknung) [29]. Diese Empfehlungen sollten durch sehr gute Personalschulungen und einem obligatorischen HACCP-ähnlichen Qualitätssicherungssystem [4] begleitet werden, da mögliche Fehler der Anwender direkte Auswirkungen haben können. Falls sich die klinische Praxis diesbezüglich nicht ändert, muss uns klar sein, dass es vermehrt zu Ausbrüchen kommen kann, bei denen kontaminierte Flächendesinfektionsmittel-Lösungen, die auf BAC oder Glucoprotamin basieren, die Punktquelle sind. Ein weiterer Grund zur Besorgnis kann *Achromobacter xylosoxidans* sein, da es scheinbar als Reservoir für horizontalen Gentransfer dient, der häufig mit der Ausbreitung von Antibiotikaresistenz im Zusammenhang steht [30]. Mangelhaft aufbereitete Spender ermöglichen es diesem Erreger, im klinischen Umfeld zu überleben.



**Abbildung 1** Bildung von Biofilm durch *Achromobacter species 3* in Flächendesinfektionsmittel-Lösungen in Mikrotiterplatten aus Polypropylen. Zellen wurden als Passage 0 (adaptiert) und Passage 5 (deadaptiert) genutzt; Lösungen wurden mit einer 0,5 %igen Konzentration zubereitet; TSB diente als Positivkontrolle; Mittelwert und Standardabweichung aus drei Experimenten..

## Schlussfolgerung

Auf oberflächenaktiven Wirkstoffen basierende Desinfektionsmittellösungen in mangelhaft aufbereiteten Tuchspendern sind häufig mit biofilmbildenden Gram-negativen Bakterien kontaminiert. Eine wirksame Aufbereitung der Tuchspender ist unerlässlich, um diese als mögliche Quelle für eine Übertragung von Erregern und wiederholten Infektionen auszuschließen, insbesondere wenn Desinfektionsmittel verwendet werden, die auf QAV, Aminin oder Glucoprotamin basieren.



**Abbildung 2** Bildung von Biofilm durch *Serratia marcescens* in Flächendesinfektionsmittel-Lösungen in Mikrotiterplatten aus Polypropylen. Zellen wurden als Passage 0 (adaptiert) und Passage 5 (deadaptiert) genutzt; Lösungen wurden mit einer 0,5 %igen Konzentration zubereitet; TSB diente als Positivkontrolle; Mittelwert und Standardabweichung aus drei Experimenten.

## Referenzen

1. Walsh TR, Toleman MA: The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J Antimicrob Chemother* 2012, 67(1):1–3.
2. Anonym: Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedelung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsblatt* 2012, 55(10):1311–1354.
3. Desinfektionsmittel-Kommission im VAH: Flächendesinfektion/Surface disinfection. In *Desinfektionsmittel-Liste des VAH*. Wiesbaden: mhp-Verlag; 2008:52–87.
4. Desinfektionsmittel-Kommission im VAH: Desinfektionsmittel-Kommission im VAH unter Mitwirkung der "4+4 Arbeitsgruppe". Empfehlung zur Kontrolle kritischer Punkte bei der Anwendung von Tuchspendersystemen im Vortränksystem für die Flächendesinfektion. *Hygiene + Medizin* 2012, 37(11):468–470.
5. Voelz A, Müller A, Gillen J, Le C, Dresbach T, Engelhart S, Exner M, Bates CJ, Simon A: Outbreaks of *Serratia marcescens* in neonatal and pediatric intensive care units: clinical aspects, risk factors and management. *Int J Hyg Environ Health* 2010, 213(2):79–87.
6. Desinfektionsmittel-Kommission im VAH: Flächendesinfektion/Surface disinfection. In *Desinfektionsmittel-Liste des VAH*. Wiesbaden: mhp-Verlag; 2012:51–92.
7. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995, 33(9):2233–2239.
8. EN 13727:2007: Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area. Test method and requirements (phase 2, step 1). Brussels: CEN - Comité Européen de Normalisation; 2007.
9. O'Toole GA: Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp* 2011, 47:e2437.
10. Gahrn-Hansen B, Alstrup P, Dessau R, Fuursted K, Knudsen A, Olsen H, Oxhøj H, Petersen AR, Siboni A, Siboni K: Outbreak of infection with *Achromobacter xylosoxidans* from contaminated intravascular pressure transducers. *J Hosp Infect* 1988, 12(1):1–6.
11. Lee JC, Fialkow PJ: Benzalkonium chloride-source of hospital infection with gram-negative bacteria. *JAMA* 1961, 177:708–710.
12. Jones MV, Herd TM, Christie HJ: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to amphoteric and quaternary ammonium biocides. *Microbios* 1989, 58(234):49–61.
13. Pagedar A, Singh J, Batish VK: Adaptation to benzalkonium chloride and ciprofloxacin affects biofilm formation potential, efflux pump and haemolysin activity of *Escherichia coli* of dairy origin. *J Dairy Res* 2012, 79(4):383–389.
14. Fox JG, Beaucage CM, Folta CA, Thornton GW: Nosocomial transmission of *Serratia marcescens* in a veterinary hospital due to contamination by benzalkonium chloride. *J Clin Microbiol* 1981, 14(2):157–160.
15. Kucken D, Feucht H, Kaulfers P: Association of *qacE* and *qacE-Delta1* with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000, 183(1):95–98.
16. Nagai I, Ogase H: Absence of role for plasmids in resistance to multiple disinfectants in three strains of bacteria. *J Hosp Infect* 1990, 15(2):149–155.
17. Anonym: Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt* 2004, 47(1):51–61.
18. Tsuji A, Kaneko Y, Takahashi K, Ogawa M, Goto S: The effects of temperature and pH on the growth of eight enteric and nine glucose non-fermenting species of gram-negative rods. *Microbiol Immunol* 1982, 26(1):15–24.
19. Majtan V, Majtanova L: Antibacterial efficacy of disinfectants against some gramnegative bacteria. *Cent Eur J Public Health* 2002, 10(3):104–106.
20. Weber DJ, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE: Outbreaks associated with contaminated antiseptics and disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother* 2007, 51(12):4217–4224.
21. Malizia WF, Gangarosa EJ, Goley AF: Benzalkonium chloride as a source of infection. *N Engl J Med* 1960, 263:800–802.
22. Nakashima AK, Highsmith AK, Martone WJ: Survival of *Serratia marcescens* in benzalkonium chloride and in multiple-dose medication vials: relationship to epidemic septic arthritis. *J Clin Microbiol* 1987, 25(6):1019–1021.
23. Ehrenkranz NJ, Bolyard EA, Wiener M, Cleary TJ: Antibiotic-sensitive *Serratia marcescens* infections complicating cardiopulmonary operations: contaminated disinfectant as a reservoir. *Lancet* 1980, 2(8207):1289–1292.
24. Maseda H, Hashida Y, Konaka R, Shirai A, Kourai H: Mutational upregulation of a resistance-nodulation-cell division-type multidrug efflux pump, *SdeAB*, upon exposure to a biocide, cetylpyridinium chloride, and antibiotic resistance in *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009, 53(12):5230–5235.
25. Pancer KW, Laudy AE, Mikulak E, Gliniewicz A, Staniszewska M, Stypulkowska-Misiurewicz H: [Bioactive effectiveness of selected disinfective agents on Gram-negative bacilli isolated from hospital environment]. *Przegl Epidemiol* 2004, 58(4):655–662.
26. Meade MJ, Waddell RL, Callahan TM: Soil bacteria *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *denitrificans* inactivate triclosan in liquid and solid substrates. *Fed Eur Microbiol Soc Microbiol Lett* 2001, 204:45–48.
27. Frank MJ, Schaffner W: Contaminated aqueous benzalkonium chloride. An unnecessary hospital infection hazard. *JAMA* 1976, 236(21):2418–2419.
28. Adair FW, Geftic SG, Gelzer J: Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds. I. Growth in benzalkonium chloride solution. *Appl Microbiol* 1969, 18(3):299–302.
29. Kampf G, Ostermeyer C: Effective processing of reusable dispensers for surface disinfection tissues - the devil is in the details. *Antimicrob Resist Infect Control* 2013, 2(Suppl. 1):375.
30. Traglia GM, Almuzara M, Merquier AK, Adams C, Galanternik L, Vay C, Centron D, Ramirez MS: *Achromobacter xylosoxidans*: an emerging pathogen carrying different elements involved in horizontal genetic transfer. *Curr Microbiol* 2012, 65(6):673–678.

doi:10.1186/1471-2334-14-37

Den Artikel wie folgt zitieren: Kampf et al.: Poorly processed reusable surface disinfection tissue dispensers may be a source of infection. *BMC Infectious Diseases* 2014, 14:37.

## Abkürzungen

ATCC: American type culture collection; BAC: Benzalkoniumchlorid; KBE: Koloniebildende Einheit; EN: Europäische Norm; OD: Optische Dichte; QAV: Quaternäre Ammoniumverbindung; TSA: Trypton-Soja-Agar; TSB: Trypton-Soja-Bouillon.

## Interessenkonflikt

Die Autoren GK, SD, SL, KJ und CO sind Angestellte der Firma BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland.

## Mitwirkung der Autoren

GK und CO waren am Studiendesign beteiligt; bis auf die Biofilm-Experimente führten SD und SL alle Experimente und deren Analysen durch; KJ führte die Biofilm-Experimente und deren Analysen durch und fertigte die Abbildungen an; GK führte die Literaturrecherche durch; HB organisierte und überwachte die PFGE-Experimente; GK analysierte die Daten und schrieb das Manuskript, welches alle Autoren lasen und freigaben.

## Danksagung

Die Studie wurde vom BODE SCIENCE CENTER, Bode Chemie GmbH, Hamburg, finanziert. Der Geldgeber war am Studiendesign, an der Analyse und Interpretation der Daten, am Schreiben des Manuskriptes sowie an der Entscheidung beteiligt, das Manuskript zur Veröffentlichung einzureichen. Wir danken Prof. Dr. Paul-Michael Kaulfers, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, für die Bestimmung der Spezies mittels MALDI.

Teile der Studie wurden als Vortrag beim 2. ICPIK-Kongress in Genf, Schweiz, präsentiert. Quelle: Antimicrobial Resistance and Infection Control 2013, 2(Suppl. 1):067.

## Autorendetails

1. BODE SCIENCE CENTER, Bode Chemie GmbH, Melanchthonstr. 27, 22525 Hamburg, Deutschland.
2. Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Walther-Rathenau-Str. 49a, 17475 Greifswald, Deutschland.
3. Mikrobiologie, BODE Chemie GmbH, Melanchthonstr. 27, 22525 Hamburg, Deutschland.
4. Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universitätsklinikum Ulm, Albert-Einstein-Allee 23, 89091 Ulm.

Erhalten am: 23. August 2013

Angenommen am: 18. Januar 2014

Veröffentlicht am: 21. Januar 2014

Qualität durch Expertenwissen und jahrzehntelange Anwenderexpertise: Auf Basis unserer wissenschaftlichen Kompetenz, eigenen Forschungsprojekten und einem internationalen Netzwerk entwickeln wir optimierte, wirtschaftlich attraktive Präventionsmaßnahmen. **Wir forschen für den Infektionsschutz.**

