Entwicklung eines neuen Bioindikatorsystems zur Prüfung der Hygienewirkung von Geschirrspülverfahren unter besonderer Berücksichtigung von englumigem Spülgut

### Anna-Maria Rager, Maren Eggers, Benjamin Eilts und Astrid Klingshirn

# Kurzfassung

Die Aufbereitung von Spülgut aus hygienisch sensiblen Bereichen stellt Einrichtungen wie z. B. Kindertagesstätten und Pflegeheime vor Herausforderungen. In Einrichtungen, in denen Menschen mit noch nicht vollständig ausgebildeter oder eingeschränkter Immunabwehr untergebracht sind, ist die Gewährleistung von hygienisch einwandfreiem Spülgut zur Vermeidung der Übertragung von Krankheitserregern sicherzustellen. Der Einsatz von Haushaltsgeschirrspülern in hygienisch sensiblen Bereichen wird von Überwachungsbehörden daher kritisch betrachtet. Mittels eines neuentwickelten Bioindikatorsystems soll die hygienische Aufbereitung von v. a. englumigem Spülgut in Geschirrspülmaschinen in diesen Einrichtungen untersucht werden.

**Schlagworte:** Hygiene, Geschirrspülmaschine, Bioindikatorsystem, Keimreduktion, DIN SPEC 10534

Development of a new bioindicator system for testing the hygienic effects of dishwashing processes with special consideration of tight wash ware

### **Abstract**

The processing of wash ware from hygienically sensitive areas presents a challenge to facilities such as daycare centers and nursing homes. In facilities in which people with limited immune defenses are accommodated, the guarantee of hygienically perfect wash ware must be ensured to prevent the transmission of pathogens. The use of household dishwashers in hygienically sensitive areas is therefore viewed critically by monitoring authorities. By means of a newly developed bioindicator system, the hygienic processing of dishwashing products in dishwashers in these facilities will be investigated.

**Keywords:** hygiene, dishwasher, bioindicator system, germ reduction, DIN SPEC 10534

Entwicklung eines neuen Bioindikatorsystems zur Prüfung der Hygienewirkung von Geschirrspülverfahren unter besonderer Berücksichtigung von englumigem Spülgut

# Anna-Maria Rager, Maren Eggers, Benjamin Eilts und Astrid Klingshirn

### **Einleitung**

Vorangegangene Studien zeigen, dass zur Vermeidung von Infektionskrankheiten in Pflegeeinrichtungen für Senioren, körperlich und/oder geistig beeinträchtigten Personen, und in Kindertagesstätten, sowohl gewerbliche Frischwasser-Geschirrspülmaschinen als auch Haushalt-Geschirrspülmaschinen zum Einsatz kommen. Problematisch ist dies in Anbetracht dessen, dass meist niedrige Temperaturen mit kurzen Laufzeiten und aufwändig zu reinigendem Spülgut, z. B. in Form von Schnabeltassen aus Kunststoff, kombiniert werden.

Wird durch das Aufbereitungsverfahren keine ausreichende Hygienisierung des Spülguts erreicht, kann dies für Menschen mit eingeschränkter oder noch nicht vollständig ausgebildeter Immunabwehr schwerwiegende Konsequenzen haben. Laut Robert-Koch-Institut stellen für Menschen, die in Gemeinschaftseinrichtungen untergebracht sind, Rota- und Noroviren ein großes Problem dar, da diese relativ temperatur- und chemieresistent sind und 10 bis 100 Viruspartikel ausreichen, um eine Infektion zu verursachen. Zusätzlich können diese Viren über Lebensmittel, Aerosole und nicht ausreichend hygienisiertes Spülgut übertragen werden. Aus diesem Grund sollte eine Reinigungstemperatur von 60 °C nicht unterschritten und die Geschirrspülmaschine regelmäßig von innen gereinigt werden (Kerschgens et al. 2016).

Zur Überprüfung der Hygieneleistung in gewerblichen Ein- und Mehrtank-Geschirrspülmaschinen kommen Edelstahl-Bioindikatoren mit definiert geschliffener Oberfläche zum Einsatz, die auf dem Standard-Testkeim *Enterococcus faecium* basieren (Abb. 1). Diese Bioindikatoren werden unter anderem auch in der DIN SPEC 10534 empfohlen (DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): 27 & 36-39).

Die Problematik bei Prüfungen mit Edelstahl-Bioindikatoren ist jedoch, dass diese englumiges Spülgut aus Kunststoff, z. B. Schnabeltassen, die in Pflegeeinrichtungen und Kindertagesstätten häufig zum Einsatz kommen, unzureichend simulieren, um eine Hygienewirkung zuverlässig nachweisen zu können.



Abb. 1: Edelstahl-Bioindikatoren

Gerade in Pflegeeinrichtungen und Kindertagesstätten, in denen Menschen mit eingeschränkter oder noch nicht vollständig ausgebildeter Immunabwehr untergebracht sind, ist ein zuverlässiges und praxisnahes Prüfsystem unerlässlich.

Zusätzlich kommt hinzu, dass der verwendete Testkeim *Enterococcus faecium* laut TRBA 466<sup>1</sup> ein Bakterium der Sicherheitsstufe 2 ist und deshalb bei nicht ausreichender Inaktivierung ein gesundheitliches Risiko für Menschen in Pflegeeirichtungen und Kindertagesstätten darstellen kann (Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe 2015).

Ziel des vorliegenden Beitrags ist daher die Neuentwicklung eines Bioindikatorsystems, das englumiges Spülgut aus Kunststoff so praxisnah wie möglich imitiert. Zusätzlich zum Standard-Testkeim *Enterococcus faecium* soll der als apathogen eingestufte Alternativ-Testkeim *Micrococcus luteus*, der sich in einer vorangegangenen Studie als geeignet erwiesen hat, zum Einsatz kommen (Kerschgens et al. 2016).

### **Material und Methoden**

### Verwendete Teststämme

In der vorliegenden Studie kommt zusätzlich zum fakultativ pathogenen Standard-Testkeim *Enterococcus faecium* (DSM² 2146), der häufig auf Bioindikatorsystemen zur Prüfung der Hygienewirkung in Geschirrspül- und Waschmaschinen verwendet wird, der als apathogen eingeordnete Alternativ-Testkeim *Micrococcus luteus* (DSM 1790) zum Einsatz. Beide Teststämme werden auf Trypton Soja Agar (TSA), einem Standard-Nährmedium zur Kultivierung von Mikroorganismen, kultiviert (Abb. 2).



Abb. 2: Micrococcus luteus im Drei-Ösen-Ausstrich

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> TRBA 466: Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe, ermittelt vom Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (ABAS) und dient zur Einstufung von Prokaryoten z. B. Bakterien in Risikogruppen anhand ihres Infektionsrisikos für gesunde Beschäftigte. Es existieren die Risikogruppen 1-4.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen, eine wissenschaftliche Einrichtung der Leibnitz-Gemeinschaft.

# Verwendetes Prüfanschmutzungsmedium

Als Prüfanschmutzungsmedium wird RAMS nach DIN SPEC 10534 verwendet, bestehend aus 0,6 % Rinderalbumin, 1,0 % Mucin, 3,0 % Maisstärke und sterilem deionisiertem Wasser, das im Lebensmittelbereich häufig zum Einsatz kommt.

Albumin und Mucin werden bei einer Temperatur von 50 - 60 °C durch Rühren gelöst. Parallel hierzu wird eine Maisstärke-Lösung mit kochendem Wasser hergestellt. Nachdem beide Komponenten auf Zimmertemperatur abgekühlt sind, werden die beiden Lösungen unter sterilen Bedingungen vermischt (DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): 36).

# Zellzahl und Herstellung der Testsuspension

48 h vor der Herstellung der Testsuspension sollten ausreichend TSA-Platten mit den Testkeimen *Micrococcus luteus* (DSM 1790) und *Enterococcus faecium* (DSM 2146) im Drei-Ösen-Verfahren angelegt werden (siehe Abb. 2). Die Platten werden anschließend bei 30 °C für *Micrococcus luteus* und bei 36 °C für *Enterococcus faecium* bebrütet. Die TSA-Platten werden mit Trypton-NaCl-Lösung abgeschwemmt, bis mittels McFarland-Standards eine Zellzahl zwischen  $1x10^9 - 1x10^{10}$  KBE³/ml in der Testsuspension und eine Zellzahl zwischen  $1x10^8 - 1x10^9$  KBE/ml in der Testsuspension mit Prüfanschmutzung nachweisbar ist.

### Bioindikatoren

Das neuentwickelte Bioindikatorsystem besteht aus kugelförmigen, offenporigen Granulat-Carriers und einem Kunststofftestköcher aus Polyamid. Die Granulat-Carriers haben einen Durchmesser von 4 - 8 mm und weisen ein hohes Porenvolumen auf. Da die Granulat-Carriers chemisch und thermisch beständig sind, können sie mittels Heißdampfs sterilisiert werden. Auf die Granulat-Carriers werden die Testkeime *Micrococcus luteus* (DSM 1790) und *Enterococcus faecium* (DSM 2146) gleichmäßig im Prüfanschmutzungsmedium in einem Verhältnis von 1:10 verteilt.

Der Testköcher besteht aus zwei identischen, sechseckigen Zylindern, die jeweils 19 Bohrungen besitzen. In diese werden die offenporigen Bioindikatoren eingesetzt. Den Schließmechanismus stellt ein Bajonettverschluss dar.



Abb. 3: Testköcher (Draufsicht)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> KBE: Koloniebildende Einheit; Kennzahl für die Menge an lebenden Mikroorganismen in einer Probe wie z. B. Bakterien und Pilze.

### Ablauf der Praxistests in den Geschirrspülmaschinen

Für die Praxistests werden eine gewerbliche Frischwasser-Geschirrspülmaschine und zwei Haushalt-Geschirrspülmaschinen verwendet. Die Geschirrspülmaschinen werden vor der Beprobung hygienisiert, indem vor jedem Testdurchlauf ein Leerlauf ohne Beladung durchgeführt wird, um eine Entstehung von Fremdkontaminationen und damit eine Verfälschung der Ergebnisse zu verhindern. Vorab wird die Spülmaschine, die für die Beprobung verwendet werden soll, mit grundgereinigtem Geschirr beladen.

Für die Durchführung der Praxistests an den Spülmaschinen werden jeweils pro Spülgang zehn offenporige Bioindikatoren mit dem gewünschten Testbakterium und der gewünschten Belastung mit einer autoklavierten Pinzette in den Testköcher gefüllt, der anschließend sorgfältig verschlossen wird. Die Anordnung der offenporigen Bioindikatoren im Testköcher ist gleichbleibend. Der Testköcher wird im Oberkorb der Geschirrspülmaschine auf der linken Seite mittig platziert.

Zusätzlich zu den Versuchen mit den offenporigen Bioindikatoren werden als Referenz sowohl in der gewerblichen Frischwasser-Geschirrspülmaschine als auch in den Haushalt-Geschirrspülmaschinen Tests mit den Edelstahl-Bioindikatoren, die in der DIN SPEC 10534:2019-02 zur Prüfung der Hygieneleistung in gewerblichen Spülmaschinen empfohlen werden, gemacht (DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): 37). Die dabei verwendeten Prüfbedingungen entsprechen den Versuchen mittels des neuentwickelten Bioindikatorsystems.

Die Belastung ist auch hier eine Kombination aus RAMS und Schafblut, der Testmikroorganismus ist *Enterococcus faecium*. Pro Spülgang werden acht Bioindikatoren in die Spülmaschine eingesetzt.

### Frischwasser-Geschirrspülmaschine

Als Reinigungschemie werden in der Frischwasser-Geschirrspülmaschine ein Geschirrreiniger auf Enzymbasis und ein Geschirrreiniger mit Aktivsauerstoff verwendet. Für die Versuche zur Ermittlung der Temperaturresistenz ohne Reinigungschemie werden die Temperaturen 40, 50, 60, 65, 70 und 80 °C und eine Haltezeit von 5 min gewählt, es kommt dabei keine Reinigungschemie zum Einsatz. Für die Versuche mit Reinigungschemie werden die Temperaturen 40 und 60 °C und eine Haltezeit von 5 min gewählt.

# Haushalt-Geschirrspülmaschinen

Als Reinigungschemie wird in den Haushalt-Geschirrspülmaschinen ebenfalls der Reiniger mit Aktivsauerstoff und Geschirrspültabs verwendet. Statt einzelner Temperaturen werden zwei Programme verwendet: Ein ECO-Programm mit einer Dauer bis zu 4 h und einer Reinigungstemperatur von 50 °C sowie ein Schnell-

bzw. Quick-Power-Wash-Programm mit einer Temperatur bis 65 °C und einer Dauer von 1 h. Da die Ergebnisse der beiden Testkeime sehr ähnlich sind, werden im nachfolgenden Kapitel nur die Ergebnisse für *Enterococcus faecium* behandelt.

### Mikrobiologische Untersuchung der Bioindikatoren

Die offenporigen Bioindikatoren werden nach der Durchführung der Praxistests mit einer autoklavierten Pinzette in sterile Kunststoffröhrchen überführt, die mit 5 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung gefüllt werden. Anschließend werden die Röhrchen werden 10 min bei 400 min $^{-1}$  mithilfe eines Reagenzglas-Schüttlers bearbeitet. Nach dem Durchmischen mit einem VORTEX-Mischgerät wird für *Micrococcus luteus* im Doppelansatz 1x 100  $\mu$ l auf TSA-Platten und für *Enterococcus faecium* 1x 100  $\mu$ l auf TSA-Platten und 1x 100  $\mu$ l auf BAA $^4$ -Platten aufgebracht und ausplattiert.

Außerdem besteht die Möglichkeit, dass anstatt 2x 100 μl auf zwei Platten jeweils ein Drei-Ösen-Ausstrich angefertigt wird. Dafür wird mit einer sterilen 10 μl-Impföse Probenmaterial aus den Röhrchen aufgenommen und auf den Platten aufgebracht. Für *Micrococcus luteus* werden dafür TSA-Platten und für *Enterococcus faecium* jeweils eine TSA- und eine BAA-Platte verwendet. Die Proben werden im Anschluss bei 30 °C für *Micrococcus luteus* und bei 36 °C für *Enterococcus faecium* für 2 Tage bebrütet und anschließend ausgewertet (DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): 38).

### **Ergebnisse**

# Ergebnisse der Frischwasser-Geschirrspülmaschine ohne Reinigungschemie zur Ermittlung der Temperaturresistenz

### Ergebnisse für Micrococcus luteus

Die Ergebnisse des Alternativ-Testkeims *Micrococcus luteus* zeigen bei den Temperaturen von 40 °C bis 60 °C und einer Haltezeit von 5 min durchgängig ein Keimwachstum für alle zehn offenporige Bioindikatoren auf. Auch eine Verlängerung der Haltezeit von 5 auf 10 min führt zu keiner sichtbaren Steigerung der Effizienz in Bezug auf die mikrobielle Reduktion. Ab einer Temperatur von 65 °C lässt die Resistenz des Testmikroorganismus nach, deshalb sind diese Ergebnisse in Tab. 1 teilweise als einzelne Werte eingetragen und gelb unterlegt. Auf den offenporigen Bioindikatoren, die bei 70 °C und 80 °C bei einer Haltezeit sowohl von 5 als auch bei 10 min in der Frischwasserspülmaschine beprobt werden, sind nach Abschluss des Spülgangs keine lebensfähigen Organismen bei *Micrococcus luteus* nachweisbar.

-

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> BAA: Bile Aesculin Azide Agar, ein Selektivnährboden zur Isolierung von Enterokokken.

Tab. 1: Ergebnisse *Micrococcus luteus*, RAMS, Frischwasser-GSM, ohne Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:										
Testkeim:	М	icrococcus lute	eus					Legende:	100	
Belastung:		RAMS						+:	Probe ist po	ositiv, >330
Spülmaschine:	Fri	schwasser-G	SM					-:	Probe ist no	egativ, < 50
Reinigungschemie:		Keine								
Haltezeit:		5 Minuten	00							
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:										
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80 °C	2		100	-	- 12	14	_	-	-	1.4
70 °C	-			-	-	- 2	¥		-	
65 °C	97	-7	-	64	-	-	63	-	92	0.70
60 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

### Ergebnisse für Enterococcus faecium

Die Ergebnisse des Testorganismus *Enterococcus faecium* weisen bei Temperaturen von 40 °C bis 60 °C und einer Haltezeit von 5 min wie bereits bei *Micrococcus luteus* keine ausreichende Hygienisierung auf (Tab. 2). Ab einer Temperatur von 65 °C lässt auch die Resistenz von *Enterococcus faecium* nach, deshalb sind diese Ergebnisse in Tab. 2 teilweise als einzelne Werte eingetragen und gelb unterlegt. Auf den offenporigen Bioindikatoren, die bei 70 °C und 80 °C bei einer Haltezeit von 5 min in der Frischwasser-Geschirrspülmaschine beprobt werden, sind nach Abschluss des Spülgangs nur wenige lebensfähige Testorganismen bei *Enterococcus faecium* nachweisbar.

Tab. 2: Ergebnisse *Enterococcus faecium*, RAMS, Frischwasser-GSM, ohne Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:											
Testkeim:	Ent	erococcus faec	cium					Legende:			
Belastung:		RAMS						+:	Probe ist p	ositiv, >33	
Spülmaschine:	Fri	ischwasser- G	SM					-:	Probe ist negativ, < 50		
Reinigungschemie:	1	Keine								100	
Haltezeit:		5 Minuten									
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Reinigungstemperatur:											
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
80 °C	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	
70 °C		-	-				2	-		2	
65 °C	50	-	-	100			81	-	71	120	
60 °C	+	+	:+:	+	+	+	+	+	+	+	
40 °C	+	+	141	+	+	+	+	+	+	+	

# Ergebnisse Frischwasser-Geschirrspülmaschine mit Reinigungschemie Ergebnisse für *Micrococcus luteus*

Bei allen Produkten sind in jeder Probe koloniebildende Einheiten nachweisbar. Keines der verwendeten Produkte kann den Testmikroorganismus *Micrococcus luteus* ausreichend chemothermisch inaktivieren. Es zeigen sich keine gravierenden Unterschiede zwischen den verwendeten Reinigungsprodukten in Bezug auf die keimreduzierende Wirkung (Tab. 3, Tab. 4).

Tab. 3: Ergebnisse *Micrococcus luteus*, RAMS, Frischwasser-GSM, Aktivsauerstoffhaltige Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:		111								
Testkeim:		Microcoou	sus luteus					Legend	le:	9
Belastung:		RA	MS					+:	Probe ist p	ositiv,>330
Spülmaschine:		Frischwas	sser-GSM					-:	Probe ist n	egativ, < 50
Reinigungschemie:		Aktivsaue	rstofhaltig					- 100	ANALOS SALESON	
Haltezeit:		5 Min	uten	-						
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:					1		-			.,
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tab. 4: Ergebnisse *Micrococcus luteus*, RAMS, Frischwasser-GSM, Enzymhaltige Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:										
Testkeim:		Microcook	ous luteus					Legend	e:	
Belastung:		RA	MS	60				+:	Probe ist p	ositiv,>330
Spülmaschine:		Frischwas	sser-GSM	- 13				-:	Probe ist n	egativ, < 50
Reinigungschemie:		Enzyn	haltig						N. C. Waller Co. Committee	
Haltezeit:		5 Min	uten							
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:								1.5		
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

# Ergebnisse für Enterococcus faecium

Die durchgehend positiven Ergebnisse bei beiden Reinigungsprodukten zeigen, dass keines der verwendeten Produkte eine sichtbare keimreduzierende Wirkung auf den Testmikroorganismus *Enterococcus faecium* hat (Tab. 5, Tab. 6).

Tab. 5: Ergebnisse *Enterococcus faecium*, RAMS, Frischwasser-GSM, Aktivsauerstoffhaltige Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:								Legend	e:	
Testkeim:		Enteropopo	us faecium	3				+:	Probe ist p	ositiv,>330
Belastung:		RA	MS					-:	Probe ist n	egativ, < 50
Spülmaschine:		Frischwas	ser-GSM							
Reinigungschemie:		Aktivsauer	stoffhaltig							
Haltezeit:		5 Min	uten							
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:		, , , , , , ,						J.		
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tab. 6: Ergebnisse *Enterococcus faecium*, RAMS, Frischwasser-GSM, Enzymhaltige Reinigungschemie, Haltezeit 5 min

Allgemeine Informationen:								Legend	e:	
Testkeim:	3	Enteropopo	ius faecium					+:	Probe ist p	ositiv,>330
Belastung:		RA	MS	- 1				-:	Probe ist n	egativ, < 50
Spülmaschine:		Frischwa	sser-GSM							
Reinigungschemie:		Enzyn	haltig	- 1						
Haltezeit:		5 Min	nuten							
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:			e ve							
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	÷	+	+	+
60°C	+	+	+	+	**************************************	+	+	+	+	+

# Ergebnisse der Haushalt-Geschirrspülmaschine mit Reinigungschemie

# Ergebnisse für Enterococcus faecium

Während die Resultate bei der Verwendung des Schnell-Programms/ QuickPower-Wash-Programms mit einer Dauer von 1 h und der Reinigungstemperatur 65 °C bei beiden Reinigungsprodukten zu einer ausreichenden Keimreduktion führt, sind die Ergebnisse bei der Verwendung des ECO-Programms mit einer Dauer von knapp 4 h und einer Reinigungstemperatur von 50 °C unterschiedlich. Bei Versuchen mit dem aktivsauerstoffhaltigen Reinigungsprodukt kann in Kombination mit dem ECO-Programm keine ausreichende Keimreduktion nachgewiesen werden. Bei Versuchen mit den Haushalt-Geschirrspülmaschinentabs ist eine ausreichende keimreduzierende Wirkung jedoch vorhanden (Tab. 7, Tab. 8).

Tab. 7: Ergebnisse *Enterococcus faecium*, RAMS, Haushalt-GSM, Aktivsauerstoffhaltige Reinigungschemie, ECO-Programm mit einer Dauer von 4 h und einer Temperatur von 50 °C, Schnell-Programm/ QuickPowerWash-Programm mit einer Dauer von 1 h und einer Temperatur von 65 °C

Allgemeine Informationen:										
Testkeim:		Enterococo	us faecium					Legende:		
Belastung:		R.A	MS					+:	Probe ist p	ositiv, >330
Spülmaschine:		Haush	alt-GSM					5 <del>- 5</del>	Probe ist r	negativ, < 50
Reinigungschemie:		Aktivsaue	rstoffhaltig							Action to the
Haltezeit:										
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:								Ţ		
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schnell, 65 °C/ QuickPowerWash	-	*	- 4	-	- 1		-	-		
ECO, 50 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tab. 8: Ergebnisse *Enterococcus faecium*, RAMS, Haushalt-GSM, Haushalt-Geschirrspülmaschinentab, ECO-Programm mit einer Dauer von 4 h und einer Temperatur von 50 °C, Schnell-Programm/ QuickPowerWash-Programm mit einer Dauer von 1 h und einer Temperatur von 65 °C

Allgemeine Informationen:										
Testkeim:		Enterococc	us faecium					Legende:		
Belastung:	0	RA	MS					+:	Probe ist p	oositiv, >330
Spülmaschine:		Haush	alt-GSM					-:	Probe ist r	negativ, < 50
Reinigungschemie:		· T.	ab							
Haltezeit:										
offenporige Bioindikatoren:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reinigungstemperatur:	93		122		, III				e 1111 o	
Transportkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schnell, 65°C/ QuickPowerWash	-		-	-				22		-
ECO, 50°C	-	-		-		-	2	-	-	123

### Ergebnisse der Edelstahl-Bioindikatoren

Da die Ergebnisse bei jedem der Edelstahl-Bioindikatoren auch hier sehr einheitlich sind, werden in der nachfolgenden Tab. 9 nur die Ergebnisse von vier der acht verwendeten Edelstahl-Bioindikatoren gezeigt. Da die Ergebnisse der verwendeten Reinigungsprodukte keine Abweichungen aufweisen, werden stellvertretend die Ergebnisse für die aktivsauerstoffhaltige Reinigungschemie gezeigt.

Die Prüfungen mittels Edelstahl-Bioindikatoren weisen bei allen Versuchen eine ausreichende keimreduzierende Wirkung nach. Jedoch ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse im Vergleich zu den Ergebnissen der offenporigen Bioindikatoren fraglich, vor allem, wenn sich Material und Form des Spülguts stark von den Edelstahl-Bioindikatoren unterscheidet.

Tab. 9: Ergebnisse-Bioindikatoren Edelstahl-Bioindikatoren gemäß DIN SPEC 10534:2019-02, Enterococcus faecium, Haushalt-GSM, Aktivsauerstoffhaltige Reinigungschemie, ECO-Programm mit einer Dauer von 4 h und einer Temperatur von 50 °C, Schnell-Programm/ QuickPowerWash-Programm mit einer Dauer von 1 h und einer Temperatur von 65 °C

Allgemeine Informationen:				
Testkeim:		Enterococc	us faecium	10.
Belastung:		Schafsblu	it/ RAMS	
Spülmaschine:		Hausha	It-GSM	
Reinigungschemie:		Aktivsauer	rstoffhaltig	
Edelstahl-Bioindikatoren:	1	2	3	4
Reinigungstemperatur:				
Transportkontrolle	+	+	+	+
Schnell, 65°C/ QuickPowerWash	3 <del>-</del> 3	-	-	-
ECO, 50°C	82	-	-	_

#### **Diskussion**

Das neuentwickelte Bioindikatorsystem imitiert englumiges Spülgut in Material, Form und Anschmutzung ausreichend, um die Hygieneleistung auf dieser Art von Spülgut zu überprüfen und stellt dadurch eine zuverlässige und aussagekräftige Alternative zu den in der DIN SPEC 10534 empfohlenen Edelstahl-Bioindikatoren dar (DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): 37).

Zusätzlich bestätigen die Ergebnisse die Aussage der vorangegangenen Studie von Kerschgens et al., dass das apathogene Bakterium *Micrococcus luteus* ein geeigneter Alternativ-Testmikroorganismus zum bereits etablierten fakultativ pathogenen Bakterium *Enterococcus faecium* darstellt (Kerschgens et al. 2019).

Die Ergebnisse bestätigen zudem, dass eine Temperaturerhöhung und eine Verlängerung der Haltezeit einen großen Einfluss auf die keimreduzierende Wirkung von Geschirrspülverfahren aufweisen. Jedoch kann auch nachgewiesen werden, dass eine Verlängerung der Haltezeit bei gleichbleibender Temperatur erst ab einer Temperatur von 65 °C zu einer verbesserten Hygieneleistung führen kann. Sowohl der Standard-Testkeim *Enterococcus faecium* als auch der Alternativ-Testkeim *Micrococcus luteus* sind bis zu einer Temperatur von mindestens 60 °C und einer Haltezeit von 5 min resistent. Ab einer Temperatur von 65 °C lässt die Resistenz der beiden Testkeime sichtlich nach, was darauf hinweist, dass 65 °C je nach Schutzwirkung von Belastung und Spülgut eine kritische Temperatur darstellen kann.

Die verwendete Reinigungschemie verändert die Resistenz der beiden Testkeime in Bezug auf die verwendete Temperatur nicht maßgeblich. Die Aussage der vorangegangenen Studie von Kerschgens et al., dass *Micrococcus luteus* aufgrund einer ähnlichen Temperatur- und Reinigungschemieresistenz wie *Enterococcus faecium* ein geeigneter Alternativ-Testkeim darstellt, wird bestätigt (Kerschgens et al. 2016).

Anhand der Ergebnisse kann darauf geschlossen werden, dass eine ausreichende Hygienisierung von englumigem Spülgut in hygienisch kritischen Bereichen erst ab einer Temperatur von mindestens 65 °C und einer Haltezeit von 5 min gegeben ist. Bei längeren Haltezeiten, wie sie beispielsweise in Haushalt-Geschirrspülmaschinen zum Einsatz kommen, reicht eine Temperatur von 65 °C aus.

Da der Fokus auf Versuchen mit Bakterien liegt, kann die Inaktivierung von Viren durch Geschirrspülmaschinen hier nicht untersucht werden. Dies kann jedoch die Aufgabe zukünftiger Forschung sein. Aktuell laufen erste Untersuchungen mit Bioindikatoren basierend auf einem murinen Parvovirus. Es handelt sich dabei um ein unbehülltes Virus, das hauptsächlich die Zellen von Mäusen befällt und deshalb für den Menschen weitestgehend ungefährlich ist. Auf der Basis dieses Virus kann die Inaktivierung von unbehüllten Viren wie beispielsweise Rota- und Noroviren in Geschirrspülmaschinen überprüft werden.

### Schlussfolgerung

Abschließend weisen die vorliegenden Ergebnisse nach, dass das neuentwickelte Bioindikatorsystem im Vergleich zu den Edelstahl-Bioindikatoren nach DIN SPEC 19534 anspruchsvollere und praxisorientiertere Prüfbedingungen darstellt, die für die Prüfung der Hygieneleistung von Geschirrspülmaschinen in hygienisch kritischen Bereichen unerlässlich sind. Außerdem kann bestätigt werden, dass der Alternativ-Testkeim *Micrococcus luteus*, der in Sicherheitsstufe 1 eingeordnet wird, eine Alternative zum Standard-Testkeim *Enterococcus faecium* aus Sicherheitsstufe 2 darstellt.

Da Noro- und Rotaviren, aber auch möglicherweise das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2, über unzureichend hygienisiertes Spülgut übertragen werden können und für immunsupprimierte Menschen ein erhöhtes Risiko für einen schweren Krankheitsverlauf besteht, ist die Gewährleistung der viruziden Wirksamkeit von Geschirrspülmaschinen in Pflegeeinrichtungen unerlässlich. Aus diesem Grund soll das neuentwickelte Bioindikatorsystem auf Basis eines murinen Parvovirus, das für Menschen weitestgehend apathogen ist, auch Prüfungen im Bereich der Viruzide ermöglichen.

Der neuentwickelte Bioindikator stellt einen wichtigen Schritt zu einer neuen Generation von sicheren, zuverlässigen und praxisorientierten Prüfsystemen für Geschirrspülmaschinen in hygienisch kritischen Bereichen dar und sollte aus diesem Grund auch weiterhin das Thema zukünftiger Forschungsarbeiten sein.

### Literatur

Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (2010): Technische Regeln für Technische Arbeitsstoffe 466 – Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen. https://www.baua.de > Angebote > Regelwerk > TRBA > pdf > TRBA-466 (zuletzt abgerufen am 18.02.2020).

DIN SPEC 10534:2019-02 (2019): Lebensmittelhygiene – Gewerbliches maschinelles Spülen – Hygieneanforderungen, Prüfung, Beuth-Verlag, Berlin, 2019.

Exner M, Schmithausen R, Schreiber C, Bierbaum G, Parcina M, Engelhart S, Kistemann T, Sib E, Walger P, Schwartz T (2018): Zum Vorkommen und der vorläufigen hygienisch-medizinischen Bewertung von Antibiotika-resistenten Bakterien mit humanmedizinischer Bedeutung in Gewässern, Abwässern, Badewässern sowie zu möglichen Konsequenzen für die Trinkwasserversorgung. Hygiene & Medizin, 43(5), 46-54.

Kerschgens S, Artelt J, Brychcy K, v. Esmarch-Rummler B, Stamminger R (2016): Hygienic Performance of Commercial Dishwashers with Water-Change System – An Experimental Study. Tenside Surfactants Detergents, 53(6), 553-559.

### Autoren

Anna Maria Rager<sup>1</sup>, PD Dr. Maren Eggers<sup>2</sup>, Prof. Dr. Benjamin Eilts<sup>1</sup>, Prof. Dr. Astrid Klingshirn<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Life Science, Anton-Günther-Str.51 72488 Sigmaringen
- <sup>2</sup> Labor Prof. Dr. G. Enders MVZ GbR, Rosenbergstraße 85 70193 Stuttgart

Kontakt: AnnaMaria.Rager@web.de



© AM Rager

### Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### **Zitation**

Rager AM et al. (2020): Entwicklung eines neuen Bioindikatorsystems zur Prüfung der Hygienewirkung von Geschirrspülverfahren unter besonderer Berücksichtigung von englumigem Spülgut. Hauswirtschaft und Wissenschaft 68 (2020) ISSN online 2626-0913. DOI 10.23782/HUW\_10\_2020.