



ASSTOR – Reinstwassertechnik e.K.
Bussardstr. 1

44577 Castrop-Rauxel

**Prüfung der Reduktionsleistung des
Bakterienfilter-Einsatzes „LOG6®“ (Legionellendusche)
der Firma Asstor Reinstwassertechnik e.K.**

Prüfbeginn: 27. Oktober 2012

Prüfende: 10. November 2012

1. Einführung und Fragestellung:

Gegenstand der Prüfung ist die mikrobiologische Validierung des Bakterienfilters LOG6 (Legionellendusche) des oben genannten Herstellers vor dem Hintergrund der Reduktionsleistung einer mikrobiologischen Last.

Der Filter besteht aus einem Hohlfaserkapillarmembransystem einer Trenngrenze von 0,15µm und kann mit einem Durchschnittdruck von ca. 5 bar beaufschlagt werden.

Die Keimreduktion des Filters erfolgt mechanisch über die Determinante der Partikelgröße.

2. Material und Methoden:

Der Filter wurde zur mikrobiologischen Validierung in ein Laborgestell vertikal eingespannt und entsprechend der auf dem Gehäuse markierten Durchflussrichtung mit verschiedenen Testkeimsuspensionen beaufschlagt. Der Durchflussdruck betrug ca. 1,5 bar. Die durchschnittliche Keimzahl der Testkeimsuspensionen wurde mit 10^8 KbE/mL festgestellt.

Insgesamt erfolgte der Einsatz von 500 mL der genannten Testkeimsuspension. Auf diese Weise wurde der Filter gegenüber einer absoluten Keimlast von ca. $5 \cdot 10^{10}$ KbE exponiert.

Während des Durchtretens der Keimsuspension durch den Filter wurde nach initial verworfenen 100 mL eine Fraktion von 50 ml aufgefangen (Fraktion 1). Anschließend wurde ein Volumen von ebenfalls 100 mL durchlaufen lassen und verworfen; danach wurde eine Fraktion von 50 mL aufgefangen (Fraktion 2).

Nach dem Durchlauf von weiteren 150 mL erfolgte das Auffangen der letzten 50 mL der jeweiligen Keimsuspension als Fraktion 3.

Die Gliederung der Entnahme der gesamten Filtratprobe in drei Einzelfractionen über das Durchflussvolumen ermöglicht die Identifizierung möglicher Durchbruchphänomene unter der Keimbeaufschlagung.

Der mit einer Testkeimspezies geprüfte Filter wurde zunächst mit 5 L dest. Wasser rückgespült. Anschließend erfolgte die retrograde Einspülung von 50 mL einer Formaldehydlösung ($w=3\%$ in Wasser). Nach einer Wartezeit von 3 Minuten (Wirkbereich A, B und C nach RKI-Liste 2007) wurde mit weiteren 5 L dest. Wasser retrograd gespült. Der so vorbereitete Filter stand einer Prüfung mit weiteren Testkeimen zur Verfügung.

Die initiale Keimsuspension, sowie die einzelnen Fractionen des Filtrates des jeweiligen Testkeimes wurden durch die Anlage einer dekadischen Verdünnungsreihe (Ausgangsvolumen 10 mL) bis Faktor 10^{-8} quantitativ ausgewertet. Von jeder Verdünnungsstufe (à 10 mL) wurde ein Volumen von 0,1 mL auf einen entsprechenden Nährboden aufgebracht und mittels eines Drigalski-Spatels homogen verteilt. Nach einer für den jeweiligen Testkeim adäquaten Inkubationszeit erfolgte die quantitative Auswertung der Ergebnisse derjenigen Verdünnungsstufe, die zwischen 5 und 100 Kolonien aufwies.

Die auf diese Weise erhobene Keimzahl wurde mit der zugehörigen Verdünnungsstufe (z.B. 10^6) und dem zusätzlichen Verdünnungsfaktor 10^2 (bedingt durch das Aufbringen der Keimsuspension auf den Nährboden) multipliziert. Der zusätzliche Verdünnungsfaktor 10^2 kommt durch die Tatsache zustande, dass von 10 mL Keimsuspension der jeweiligen Verdünnungsstufe ein Volumen von 0,1 mL auf den Nährboden aufgebracht wurde.

Die beschriebene Prozedur wurde für jeden eingesetzten Testkeim wiederholt.

2.2 Testkeime

Staphylococcus aureus (36°C Inkubationstemperatur; 48 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Caso-Agar

Enterococcus faecalis (36°C Inkubationstemperatur; 48 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Vollblut-Agar

Pseudomonas aeruginosa (36°C Inkubationstemperatur; 48 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Cetrimid-Agar und Vollblut-Agar (Doppelansatz)

Legionella pneumophila (36°C Inkubationstemperatur; 240 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Glycin-Vancomycin-Polyhexamid-Chloramphenicol-Agar

Escherichia coli (36°C Inkubationstemperatur; 48 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Caso-Agar

Mycobacterium terrae (36°C Inkubationstemperatur; 504 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Löwenstein-Jensen-Schrägagar

Bacillus sp. (44°C Inkubationstemperatur; 48 h Inkubationszeit)

Kulturmedium: Caso-Agar

Für jeden Testkeim wurde eine nach 2.1 beschriebene, isolierte Prüfprozedur durchgeführt.

3.1 Staphylococcus aureus:

Initiale Keimlast	$40 \cdot 10^8$ KbE/mL =	lg 9,6
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 7,6

3.2 Enterococcus faecalis:

Initiale Keimlast	$8 \cdot 10^8$ KbE/mL =	lg 8,9
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 6,9

3.3 Pseudomonas aeruginosa:

Initiale Keimlast	$95 \cdot 10^8$ KbE/mL =	lg 9,97
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 7,97

3.4 Legionella pneumophila:

Initiale Keimlast	$20 \cdot 10^7$ KbE/mL =	lg 8,3
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 6,3

3.5 Escherichia coli:

Initiale Keimlast	$7 \cdot 10^8$ KbE/mL =	lg 8,8
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 6,8

3.6 Mycobakterium terrae:

Initiale Keimlast	$5 \cdot 10^6$ KbE/mL =	lg 6,6
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 4,6

3.7 Bacillus sp. (in Form der bakt. Endosporen):

Initiale Keimlast	$1 \cdot 10^4$ KbE/mL =	lg 4,0
Fraktion 1	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 2	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Fraktion 3	$<1 \cdot 10^2$ KbE/mL =	lg 2,0
Reduktionsfaktor		lg 2,0

4. Interpretation:

Nach den Vorgaben der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) ist ein **Desinfektionsprozess** als Methode definiert, die zu einer Reduktion der Keimzahl einer Oberfläche oder eines Mediums führt. Das angestrebte Ziel ist die Unterbrechung von Infektketten. Dieses Ziel wird durch die Reduktion einer Ausgangskeimlast um einen bestimmten Reduktionsfaktor erreicht. Durch die Reduktionsleistung des Desinfektionsverfahrens wird verhindert, dass Keime in infektiösen Dosen auftreten.

Konkret ist hierzu eine Keimreduktion um mindestens Faktor 10^4 (= 4 log-Stufen) erforderlich.

Eine **Sterilisation** ist im Vergleich dazu ein Verfahren zur totalen Inaktivierung von lebensfähigen Mikroorganismen. Dies wird dadurch erreicht, dass die Wahrscheinlichkeit eines unsterilen Produktes (bei Sterilgutverpackungen) oder eines unsterilen Volumenäquivalentes (z.B. 1 mL) 1:1.000.000 beträgt. Dazu ist eine Reduktion um mindestens Faktor 10^6 (= 6 log-Stufen) erforderlich.

Die aktuellen Ergebnisse zeigen, dass unter Einsatz einer stark konzentrierten Keimlast (worst-case-Szenario) ein komplettes Rückhaltevermögen des Filters für die eingesetzten Testkeime vorliegt.

Die Reduktionsfaktoren des Filters liegen weit über log 6. Es wird deutlich, dass die Anforderung an eine Desinfektion in jedem Fall erfüllt wird und die eigentliche Reduktionsleistung des Filters deutlich höher liegt.

Die nachgewiesenen Reduktionsleistungen > log 6 zeigen, dass der untersuchte Filtrationsprozess eine Sterilfiltration ermöglicht.

Im Hinblick auf die bakteriellen Endosporen des Testkeimes Bacillus sp. wurde eine Reduktionsleistung von log 2 festgestellt. Beim Testkeim Mycobakterium terrae wurde eine Reduktionsleistung von log 4,6 festgestellt. Diese Beobachtungen sind auf Grund der niedrigeren Ausgangskeimlasten im Vergleich zu den übrigen Befunden erklärbar. Eine Sporensuspension, die deutlich stärker konzentriert ist, als die verwendete, konnte nicht erzeugt werden, da die bakteriellen Endosporen für diesen Versuch aus dem A-Horizont des Erdbodens mittels Alkoholextraktion gewonnen wurden. Da die bakteriellen Endosporen in Stäbchenform vorliegen und eine Größe von ca. $1 \cdot 3 \mu\text{m}$ aufweisen, kann bei Vergleich mit den nachgewiesenen Reduktionsleistungen des Filters gegenüber anderen Stäbchenbakterien (Pseudomonas aeruginosa, Legionella pneumophila und Escherichia coli) davon ausgegangen werden, dass die tatsächlichen Reduktionsfaktoren deutlich größer sind.

Ferner konnte nachgewiesen werden, dass auch unter Beaufschlagung einer sehr hohen mikrobiologischen Last kein Durchbrechen des Filters erfolgt.

Nebenbefundlich kam es nach Einspülung der hohen Keimlast zu einer Erhöhung des Strömungswiderstandes und folglich einer Erhöhung des für die Durchströmung erforderlichen Gegendruckes. Selbst unter dieser Druckerhöhung (Differenzdruck zwischen *Filter rein* versus *Filter nach Keimbeaufschlagung* ca. 0,8 bar) wurde wie zuvor bemerkt, kein Durchbrechen des Filters festgestellt.

In der Praxis wäre daher auch die Indikation des erforderlichen Filterwechsels über eine Differenzdruckmessung vor und nach dem Filter möglich.

Zusammenfassend betrachtet, ist die Reduktionsleistung des validierten Bakterienfilters LOG6[®] in sämtlichen Betriebszuständen ausreichend, um die Anforderungen an eine Desinfektion zu erfüllen. Darüber hinaus wird diese Anforderung sogar weit übertroffen, da die nachgewiesenen Reduktionsleistungen einer Sterilfiltration entsprechen.

Für Rückfragen stehe ich Ihnen gerne zur Verfügung unter 0551-394973 oder 0175-9150334.

Mit freundlichen Grüßen



Dr.med. Dipl.-Chem. Dipl.-Ing.(FH) Ulrich F. Schmelz
Ärztlicher Leiter
Arzt, Hygiene und Umweltmedizin; Dipl.-Lebensmittelchemiker
Leiter des akkreditierten Labors der Abt. Allg.Hygiene der Universitätsmedizin Göttingen