MEHRWERT
DURCH WISSEN.

DR. SCHMELZ
KOMPETENZZENTRUM
technische Hygiene & angewandte Mikrobiologie

KLINIK- UND PRAXISHYGIENE
AUFBEREITUNG VON DENTALEINHEITEN
GEFÄHRDUNGSBEURTEILUNGEN
HYGIENEKONZEPTE

RAUMLUFTANLAGEN
FACHGUTACHTEN NACH VDI 6022
SCHIMMELBEHANDLUNGEN
ANLAGENOPTIMIERUNGEN

TRINKWASSERANLAGEN
FACHGUTACHTEN NACH VDI 6023
ANLAGENDESINFEKTIONEN
SANIERUNGSKONZEPTE
INSTANDSETZUNGEN
WARTUNGEN NACH VDI 806-5

BADEBECKENANLAGEN
HYGIENEKONZEPTE
AUFBEREITUNGEN

SCHULUNGEN
PROBENNAHMESCHULUNG
HYGIENEUNTERWEISUNGEN

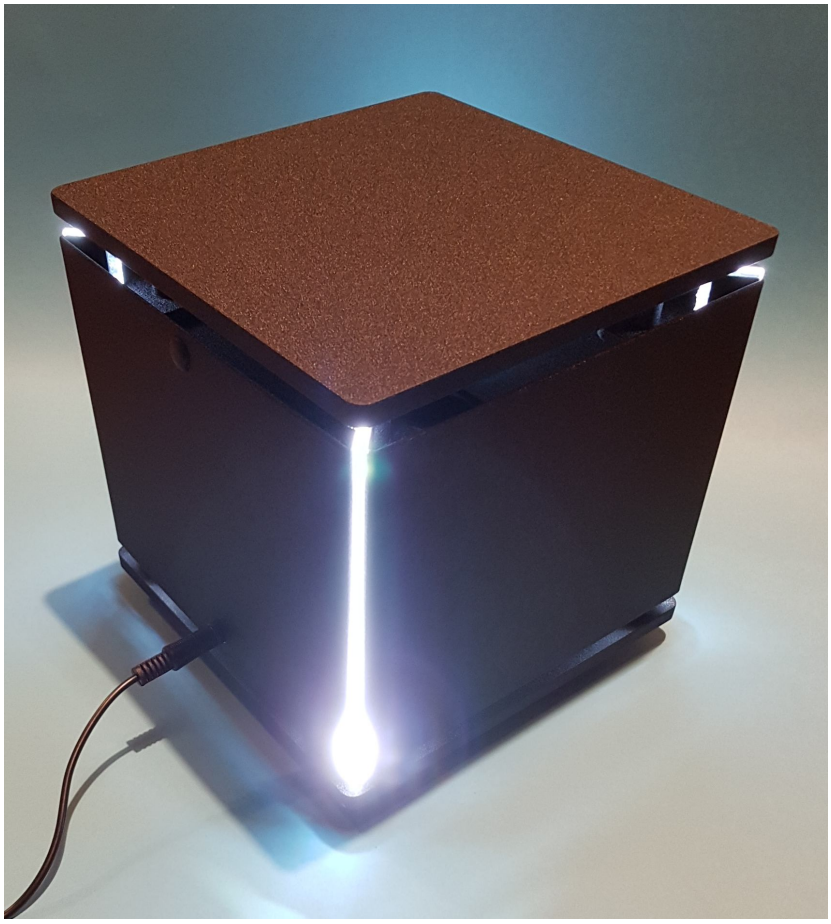
Dr. Schmelz GmbH, Buchenweg 20, 34323 Malsfeld

STEURER Trocknungs- und Aufbewahrungssysteme GmbH
Staudenstrasse 34
6844 Altach | Vorarlberg | Österreich

Part of **WINTERSTEIGER** Group
WINTERSTEIGER AG
4910 Ried im Innkreis | Oberösterreich | Österreich

Fachgutachten

Desinfektions-Wirksamkeit (Wirkdynamik) des Verfahrens „STEREX“ mit dem Produkt „CUBUSAN“ gegenüber Enterococcus faecium nach den Empfehlungen der „Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie“ (DGHM) unter Berücksichtigung der Vorgaben der EN 14476



Durchführung der Untersuchungen:
10.12.2020 bis 28.12.2020
Datum des Gutachtens: 28.12.2020 – Umwelthygiene Marburg & Dr. Schmelz GmbH

1 Einführung:

Gegenstand der Untersuchung ist die Prüfung der keiminaktivierenden Wirkung eines Plasmagenerators (Gerät: CUBUSAN, Plasma-Verfahren: STEREX, STEURER Trocknungs- und Aufbewahrungssysteme GmbH, A – 6844 Altach, Österreich) mit dem Ziel der mikrobiologischen Raumluftoptimierung und der Unterbrechung aerogener Übertragungswege.

Sofern eine Person an Atemwegsinfektionen leidet (ggf. inapparenter Verlauf oder Infektionsausscheider vor Auftreten klinischer Symptome), kann diese Person die verursachenden Mikroorganismen in die Raumluft freisetzen. Dies kann Beginn einer aerogenen Infektionskette sein, d.h. andere Personen im Raum können durch das Einatmen der kontaminierten Raumluft infiziert werden.
Diverse Infektionen können aerogen übertragen werden. Dazu zählen neben bestimmten Bakterien (z.B. Pneumokokken, Haemophilus influenzae), verschiedene virale Erreger, wie Masernviren (hier liegt aber in der Regel ein immunes Kollektiv vor, sofern die Durchimpfungsrate ausreichend ist), sowie Rhinoviren, Influenzaviren und auch das neue Virus SARS-CoV-2.
Gerade das SARS-CoV-2- Virus erzwingt in Form einer Pandemie im Jahr 2020 besondere Beachtung der mikrobiologischen Raumluftbeschaffenheit.

Es werden seit Beginn der SARS-CoV-2-Pandemie im März 2020 verschiedene Formen der Prävention empfohlen und umgesetzt. Prävention ist die Umsetzung der Risikoreduktion.

Die wichtigsten Maßnahmen neben der Kontaktreduktion sind:

- Abstand halten, um den Aerosolradius um eine Person zu begrenzen
- Atemmasken, um eine Aerosolfreisetzung und eine Inhalation von Aerosolen zu reduzieren
- Alltagshygiene (z.B. ausreichendes Händewaschen), um Schmierinfektionen zu reduzieren (im Hinblick auf SARS-CoV-2- ist die Übertragung über Schmierinfektion sehr unwahrscheinlich, dennoch ist die Alltagshygiene in Maßen sinnvoll)
- Lüften und Luftwechsel von Räumen, um eingebrachte Aerosole zu verdünnen.

Die Maßnahmen können bildlich wie Hürden in der Infektionskette verstanden werden, welche der Übertragung eines Erregers entgegen gestellt werden. Jede dieser Hürden reduziert das Risiko von Infektionsübertragungen, aber nur die Summe zuzüglich notwendiger Ergänzungen ist wirksam.

Es zeigt sich aber, dass trotz der genannten Maßnahmen die Übertragungen weiterhin erfolgen und nicht alle Maßnahmen in allen Bereichen umsetzbar sind.
Daher ist es sinnvoll, eine stabile Konstante in der Luftaufbereitung zu schaffen, um die oben genannten Maßnahmen zu ergänzen, bzw. zu ersetzen, falls einzelne Maßnahmen nicht umsetzbar sind. Dies kann durch eine mikrobiologische Raumluftoptimierung als Raumluftdesinfektion erreicht werden.

Viele dieser Maßnahmen basieren auf der Filtration. Hierzu sind große Volumenströme und entsprechend umfangreiche Geräte (Geräuschentwicklung / Energieverbrauch) notwendig. Zusätzlich kann eine UV-C-Bestrahlung und / oder eine Aktivkohlefiltration installiert sein. Diese Geräte erfordern neben dem problematischen Betrieb im Unterrichtsraum eine Umsetzung des gesamten Raumvolumens durch das Gerät in einer bestimmten Geschwindigkeit, da nur durch die Filtration oder Bestrahlung der Luft die Keime eliminiert werden.
Weiterhin sind die Geräte zu warten und zu pflegen.

Die bisher verwendeten Geräte auf dem Boden der Filtration / Bestrahlung der Luft allerdings limitieren aus den vorgenannten Gründen den Einsatz in Unterrichtsräumen.

Daher überzeugt die Filtration der Raumluft nicht als sicheres, probates, langfristig umsetzbares Verfahren im Bereich von mittelgroßen Räumen, in welchen bislang keine raumlufttechnische Anlage installiert ist.

Das Verfahren der Desinfektion mit atmosphärischen Niedertemperaturplasmen kann im Vergleich zur Filtration allerdings ein vor Ort umsetzbarer Ansatz der Raumluftoptimierung sein und die Lüftungsmaßnahmen als Verfahren der Verhältnisprävention sinnvoll ergänzen.

Seit den 1980er Jahren werden atmosphärische Niedertemperaturplasmen in verschiedener Weise zum Zwecke der Keimreduktion genutzt:

- Plasmageneratoren werden als Medizinprodukt zur Wunddesinfektion eingesetzt, sofern chronische Wunden mit Superinfektion durch antibiotikaresistente Bakterien vorliegen. In diesen Fällen ist die Antibiotikatherapie auf dem Boden von sekundären bakteriellen Resistenzen nicht mehr ausreichend wirksam, sodass eine solche Infektion auch durch eine maximale Antibiotikatherapie nicht mehr ausreichend behandelt werden kann. Hier kann das Phänomen der antimikrobiellen Wirksamkeit der Niedertemperatur-Plasmen beobachtet werden, während Gewebe des menschlichen Körpers nicht angegriffen werden (da die Plasmareaktionsprodukte, welche die antimikrobielle Wirkung verursachen, von höheren, eukaryontischen Geweben sofort katalytisch abgebaut werden und daher keine nachteilige Wirkung auf Gewebe höherer Organismen (Pflanzen, Tiere, Menschen) besteht).
- Weiterhin werden Plasmageneratoren in der Lebensmittelindustrie zur rückstandsfreien Desinfektion von Getränkeflaschen nach der Spülung vor der Befüllung mit dem Produkt verwendet.

Bislang ergab sich nur in seltenen Fällen die Notwendigkeit einer Raumluftoptimierung. Die SARS-CoV-2-Pandemie 2020 erzwingt nun neue Herausforderungen; eine davon ist eben die mikrobiologische Raumluftbeschaffenheit, welche durch keimreduzierende Maßnahmen (Verdünnung durch Lüften, Inaktivierung der Erreger durch z.B. Niedertemperaturplasma-Produkte) optimiert werden muss.

„Plasma“ ist im Sinne der Physik ist ein Zustand eines elektrisch leitfähigen Gases, das soweit leitfähig ist, dass ein geringer Stromfluß möglich wird. Es werden zwei Elektroden positioniert, die mit einer Gleichspannung positiv und negativ polarisiert sind. Zwischen den Elektroden befindet sich das betreffende Gas.
Durch einen Zündimpuls zerfallen einzelne Gasmoleküle in positiv und negativ geladene Atome (Ionen, bzw. ionisiertes Gas), dadurch wird das Gas leitfähig (das Gas wirkt dann als Ionenleiter, d.h. es liegt ein Leiter zweiter Ordnung vor; entsprechend des Namens „Ionen“ wandern diese im elektrischen Feld und bedingen unter anderem den Stromfluß durch das Gas).
Ist dies erfolgt, wird durch einen Inverter der Stromfluss durch das Gas auf ein geringes Maß im µA – Bereich begrenzt, gleichzeitig wird die Spannung reduziert. Der Stromfluss wird soweit reduziert, dass eine Leitfähigkeit gerade noch gegeben ist, d.h. der Zustand des Plasmas wird zwischen den Elektrodenplatten aufrecht erhalten.

Der Stromfluß durch das leitfähige Gas erzeugt chemisch – physikalische Wirkungen auf das Gas, bzw. die Bestandteile des Gasgemischs (Luft).
Das verwendete Plasma des STREREX-Verfahrens ist – wie vorher bereits beschrieben – ein atmosphärisches Niedertemperaturplasma einer Potentialdifferenz von maximal 1,75 kV. Dadurch wird als chemisch-physikalische Wirkung erreicht, dass ein Anteil des Luftsauerstoffs zu Sauerstoffradikalen zerfällt, welche mit weiteren Luftsauerstoffmolekülen und Wasserdampf sog. Hydroxylradikale erzeugen.

Die Hydroxylradikale sind das desinfektionsaktive Produkt des physikalischen Plasmas.
Daher muss nicht das gesamte Raumluftvolumen in einer bestimmten Zeit durch den Plasmagenerator gelangen, um eine Keimabtötung zu erreichen. Vielmehr emittiert der Plasmagenerator aktive Produkte in die Raumluft, die aus Sauerstoff und Wassermolekülen entstehen, sich in der Raumluft verteilen und dort befindliche Mikroorganismen zerstören.
Es wird im Hinblick auf Hydroxylradikale eine hohe antimikrobielle Wirksamkeit beobachtet. Gleichzeitg sind die Hydroxylradikale für höhere Organismen und den Menschen in keiner Weise nachteilig, sondern zerfallen durch Kontakt mit Zellen höherer Organismen katalytisch zu Wasser. Bevor eine Wirkung auf höhere Organismen möglich wäre, sind die Hydroxylradikale bereits zerfallen. Daher werden – wie zuvor bereits ausgeführt – Plasmageneratoren zur Behandlung bakteriell oder viral infizierter Wunden eingesetzt.

Durch die Begrenzung der Potentialdifferenz der geladenen Platten in der Plasmazelle auf ca. 1,75kV wird erreicht, dass hauptsächlich Hydroxylradikale gebildet werden und die Ozonbildung möglichst gering ist. Der für die Untersuchung verwendete Plasmagenerator „CUBUSAN“ erzeugt < 30µg Ozon pro Stunde, was als sehr gering zu bewerten ist. Im Vergleich dazu wird bereits in elektrischen Maschinen mit Bogenüberschlägen (z.B. Kohlenbürsten am Kommutator eines Elektromotors oder Transfertrommel eines Kopierers) eine deutlich höhere Ozonbildung beobachtet. Damit eine Anreicherung von Ozon bei Betrieb des Geräts vermieden wird, sollte die minmale Raumgröße 30m³ nicht unterschreiten.

Gleichzeitig wird durch die Begrenzung der Potentialdifferenz auch erreicht, dass keine Stickoxide als Nebenprodukt des Plasmas entstehen.

In der Tat können durch elektrochemische Reaktionen unterschiedliche Produkte aus dem Gasgemisch der Luft erzeugt werden. Bis ca. 1,75kV hauptsächlich Hydroxylradikale, zwischen 2 und 3,5kV hauptsächlich Ozon und bei höheren Potentialdifferenzen als 3,5kV zunehmend Stickoxide.

Dadurch, dass das Elektrodenpotential auf 1,75kV begrenzt ist, wird – wie bereits beschrieben – die Ozonbildung praktisch nicht beobachtet. Die Bildung von Stickoxiden ist überhaupt nicht möglich.
Zusätzlich sind die Elektroden aus komplexen Legierungen gefertigt, weiterhin sind die Oberflächen der Elektroden spezifisch behandelt. Durch die Legierung von Halbleitern, wie Bor, Germanium und Silicium wird das Grenzpotential der Oberflächen weiterhin beeinflusst. Daher kann durch eine Spannungsbegrenzung auf der einen Seite und eine entsprechende Materialzusammensetzung und Oberflächenstruktur der Elektroden auf der anderen Seite sichergestellt werden, dass die Ozonbildung vernachlässigbar gering ist und die Stickoxidbildung vollständig ausgeschlossen ist.

Das Gerät „CUBUSAN“ mit „STEREX“-Plasmazelle soll im Bereich von Innenräumen als Maßnahme der Verhältnisprävention zur Ergänzung der bisher etablierten Maßnahmen (Abstand, Alltagshygiene, Lüften) geprüft werden.

Konkret wird dazu der Plasmagenerator in einem Prüfraum über die Zeit betrieben; in festgelegten Zeitabständen (15min Intervall) wird die Luftkeimzahl bestimmt.

Zuvor wird in den Raum ein Testkeimaerosol eingebracht. Das Aerosol wird mit einem handelsüblichen Aerosolgenerator aus dem Bereich der Medizintechnik (ParyBoy ®) erzeugt.

Die Luftkeimzahlen im Raum werden zunächst über die Zeit ohne Aktivierung des Plasmagenerators bestimmt. Anschließend wird der Raum erneut mit Keimaerosol geflutet und die Prüfung mit aktiviertem Plasmagenerator wiederholt.

Der Verlauf der Keimzahl pro m³ beider Versuchsreihen über die Zeit wird miteinander verglichen.

Maße des Testraums (mit einer Abweichung +/- 10% angegeben):

L = 3,20 m
B = 2,40 m
H = 2,50 m
V = 27,20m³ → durchschnittliches Hüllvolumen 30m³

2. Methodik:

2.1 Material

- Grundausstattung eines mikrobiologischen Labors:
  - Luftkeimsammelgerät
    - Sammelkopf mit Aufnahme des Nährbodens
    - Gaszähler
    - Vakuumpumpe in Form einer Membranpumpe
  - Pipetten, steril
  - Pinzetten, steril
  - Impfösen
  - Drigalski-Spatel, steril
  - Reagenzgläser für Verdünnungsreihe, steril
  - Reagenzglasständer
  - Homogenisator (z.B. Vortex ®)
  - Laborbrenner
  - Brutschrank 36°C
  - Lupenarbeitsplatz mit Beleuchtung für Auswertung
  - Sterilisator
  - Kamera und Farbhintergründe (Tonkarton)

- Columbia-Vollblut-Nährboden in Petrischalen
- Kochsalzlösung 0,9% steril
- „CUBUSAN“ Plasmagenerator als Prüfling
- PariBoy® Aerosolgenerator: PariBoy classic mit Pari LC Sprint Vernebler
- Testkeim Enterococcus faecium, Desinfektionsprüfkeim nach DGHM-Empfehlung und DIN 10510, sowie DIN 10512

2.2 Methodik:

Probenahme:

Der Raum (vollgekachelter Raum mit Stahlbetondecke, Dimensionen nach Punkt 1, ohne raumlufttechnische Anlage, Temperatur 20°C, rel. Luftfeuchtigkeit 45%) wird unter Anwendung des PariBoy ® Aerosolgenerators mit dem Aerosol des Testkeims Enterococcus faecium beaufschlagt.
Hierzu wird eine Keimsuspension von Enterococcus faecium durch den Aerosolgenerator in ein Aerosol einer Partikelgröße < 10µm überführt. Das Aerosol wird deckennah erzeugt und verteilt sich durch die Brown´sche Molekularbewegung homogen im gesamten Raum. Die Aerosolbeaufschlagung ist nach circa 10 Minuten

beendet. Im Anschluss daran wird eine Zeit von 20 Minuten abgewartet, bis die Verteilung des Aerosols im Raum abgeschlossen ist.
Die Keimsuspension von Enterococcus faecium wird durch Abschwemmen einer Reinkultur und anschließendes Homogenisieren im Vortex ® Homogenisator über 5 Minuten gewonnen.
Vor der Verwendung der Suspension für den hier dargestellten Versuch wird die Idendität des Testkeims durch Drei-Ösen-Ausstrich bestimmt (dieser weist nach, ob eine Reinkultur vorliegt; nur diese kann verwendet werden, da explizit die Inaktivierung des Testkeim Enterococcus faecium untersucht wird). Weiterhin wird die Keimzahldichte der Suspension durch Anlage einer dekadischen Verdünnungsreihe (in Zehnerpotenzen) bestimmt.

Anschließend wird die Keimzahl der Raumluft mittels aktivem Impingement bestimmt.

Die Keimzahlbestimmung erfolgt initial zu Beginn der Betrachtungszeit (Nr. 1), sowie nach 15 Minuten (Nr. 2), nach 30 Minuten (Nr. 3), nach 45 Minuten (Nr. 4), und schließlich nach 60 Minuten (Nr. 5).
Der Versuch wird viermal wiederholt (insgesamt 5 Serien).

Nach der vorgenannten Untersuchung wird der Plasmagenerator in den Raum verbracht. Die Luftkeimzahl wird in gleicher Weise bestimmt.
Auch dieser Versuch wird viermal wiederholt (insgesamt 5 Serien).

Aus den Ergebnissen der drei Versuchsdurchgänge werden jeweils die arithmetischen Mittelwerte berechnet. Die berechneten Mittelwerte werden für die Ermittlung der Keimreduktionsleistung über die Zeit verwendet.

Die Luftkeimzahlbestimmung wird als aktives Impingement direkt auf den Nährboden durchgeführt. Dazu wird ein spezieller Keimsammler verwendet. Dieser besteht aus einer nach innen gerichteten Düse, durch welche die Luft bei Anlegen eines Vakuums hindurch gesogen wird. Dabei wird die Luft durch eine Lochmatrix gleichmäßig verteilt.

Unter der Lochmatrix ist der Nährboden eingelegt. Die Luft wird auf diese Weise gleichförmig rechtwinklig auf den Nährboden gerichtet. Dabei werden in der Luft enthaltene Mikroorganismen an der Nährbodenoberfläche gebunden und können später im Labor kultiviert werden. Die Luft strömt dann seitlich am Nährboden vorbei und wird unterhalb des Nährbodens abgesaugt.

Die abgesaugte Luft wird durch einen Gaszähler geführt, um das Luftvolumen zu erfassen, welches über den Nährboden angereichert wurde (über 10 Minuten 100 Liter +/- 10 Liter).

Die Luft wird durch eine handelsübliche Membran-Vakuumpumpe abgesaugt.

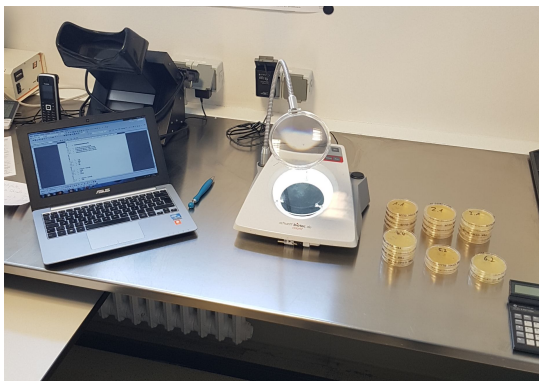
Die Anreicherung erfolgt je Probe über 10 Minuten.

Als Nährmedium wird ein Columbia-Vollblut-Agar-Nährboden verwendet. Dieser stellt ein mikrobiologisches Universalmedium für die Kultivierung nahezu sämtlicher aerober Mikroorganismen dar.

Inkubation

Die Platten werden nach der Probenahme zum Labor gebracht und über 48h bei 36°C und Wasserdampfsättigung im Brutschrank inkubiert. Die Inkubation ist aerob unter Luft.
Auf diese Weise wird die aerobe, mesophile Koloniezahl der Luft ermittelt. Speziell die Inkubation bei 36°C stellt die mesophilen humanen Bakterien dar, sodass eine vom Menschen ausgehende Emission von Mikroorganismen – die stellvertretend für eine Virus-Freisetzung steht – dargestellt werden kann.
Die umweltassoziierten Mikroorganismen sind in der Regel psychrophil und zeigen ein Wachstumsoptimum zwischen 10 und 25°C. Diese werden im Rahmen der Untersuchung hier nur am Rande erfasst, weil der Schwerpunkt des Interesses die Freisetzung humaner Keime ist; dieser wird durch die mesophile Kultivierung entsprechend abgebildet.

Auswertung
Nach 48h Inkubation werden die Platten morphologisch quantitativ ausgewertet, d.h. die Platten werden bei normaler Betrachtung und bei 8-facher Vergrößerung mit dem Auflichtmikroskop betrachtet.



Die Kolonien werden gezählt und als KbE (koloniebildende Einheiten) numerisch angegeben.
Die Ergebnisse werden unter Berücksichtigung des Anreicherungsvolumens schließlich als Keimzahldichte in KbE/m³ angegeben.

Eine Feindifferenzierung der Kolonien muß an dieser Stelle nicht statfinden, da die Enterococcus faecium Kolonien ein individuelles Wachstum zeigen.

Anschließend können die Ergbenisse ausgewertet, bewertet und interpretiert werden.

Auswertung:

Die Koloniezahl pro m³ Luft wird durch Multiplikation der auf dem Nährboden gezählten Keimzahl mit Faktor 10 erhalten.

Es werden die arithemetischen Mittelwerte der Keimzahlen der beiden Versuchsserien ermittelt.

Die Luftkeimzahlen werden grafisch dargestellt und bewertet (Abnahmekinetik; d.h. die Geschwindigkeit der Keimreduktion über die Zeit).

Weiterhin wird aus der Koloniezahl der logarithmische Reduktionsfaktor der Intervention (hier: Plasma-Generator) durch Vergleich der Logarithmen der Keimzahlen berechnet.

Beispiel:

$N_{\text{ohne Exposition}}$ = 12000 KbE (log 4,08)
$N_{\text{mit Exposition}}$ = 280 KbE (log 2,45)

$\log RF = \log N_{\text{initial}} - \log N_{\text{nach Exposition}} = 4{,}08 - 2{,}45 = 1{,}63$

In dieser Konstellation ergibt sich folgende Keimzahlreduktionsleistung:

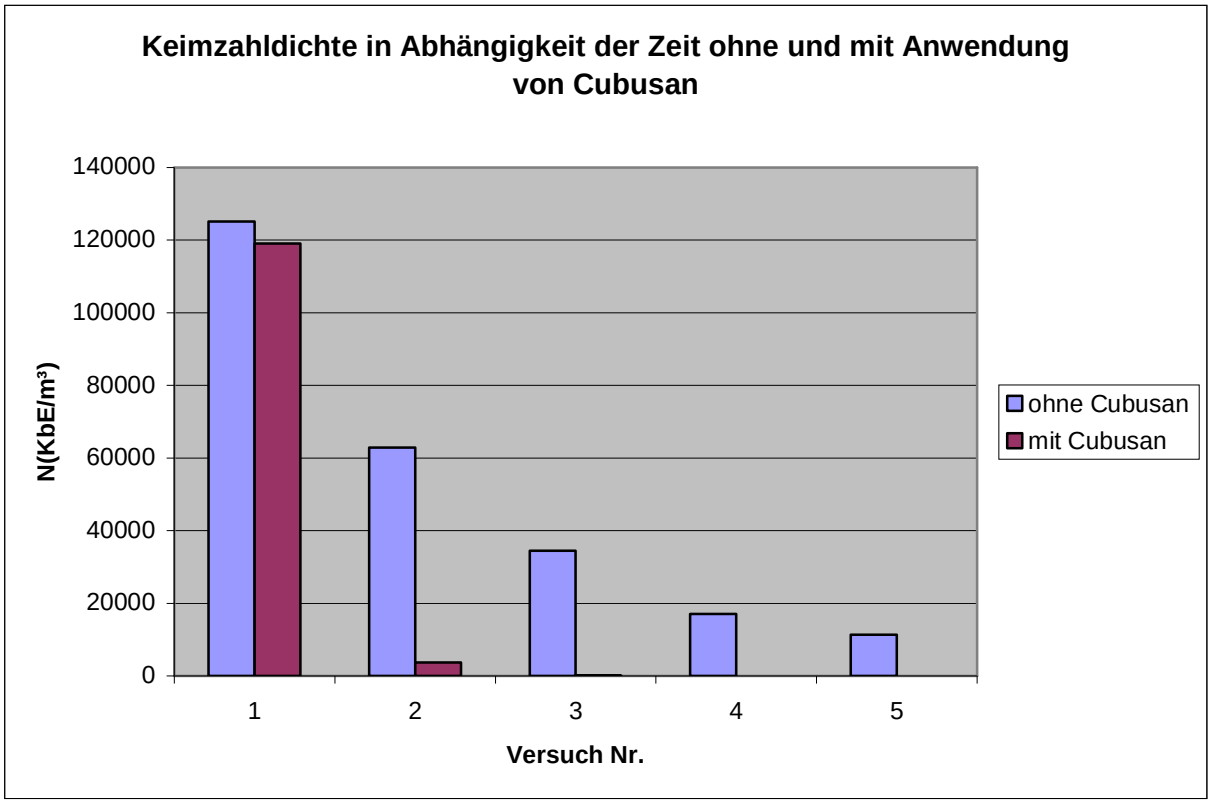
$10^{1{,}63} = 43$, d.h. eine 43-fache Keimzahlreduktion, in der logarithmischen Skala wird hier eine „zweistellige Keimzahlreduktion“, d.h. eine Keimzahlreduktion von ca. 2 Zehnerpotenzen erreicht.

3. Ergebnisse:

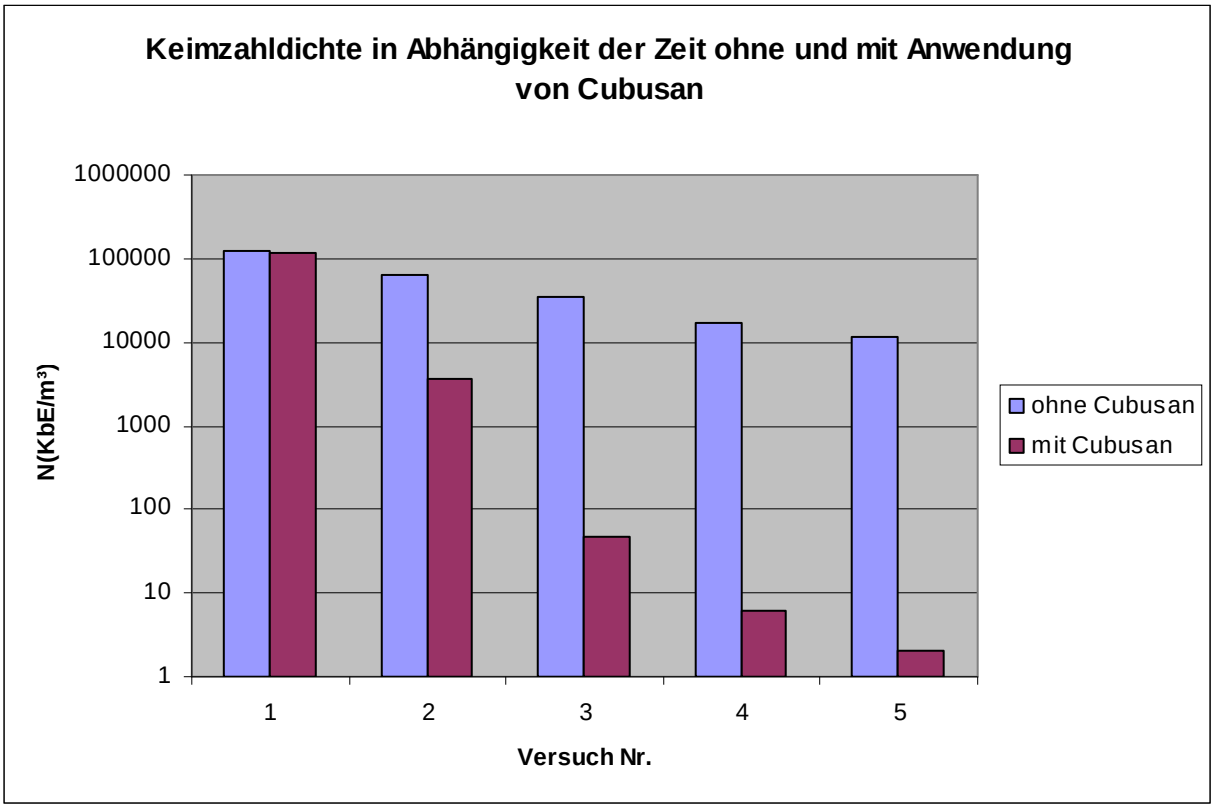
3.1 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Cubusan - Inaktivierungsversuch als Desinfektionsversuch nach DGHM-Empfehlung gegenüber Enterococcus faecium									
2										
3										
4	**Nr.**	**Bedingungen:**	**Zeit:**							
5			**0 min**	**15 min**	**30 min**	**45 min**	**60 min**	**log RF**		
6								(0 - 60 min)		
7	**11**	ohne Cubusan	128300 KbE/m³	68120 KbE/m³	39400 KbE/m³	18390 KbE/m³	10130 KbE/m³			
8	**12**	ohne Cubusan	120800 KbE/m³	57900 KbE/m³	31820 KbE/m³	21300 KbE/m³	11200 KbE/m³			
9	**13**	ohne Cubusan	125600 KbE/m³	71210 KbE/m³	38200 KbE/m³	15340 KbE/m³	8700 KbE/m³			
10	**14**	ohne Cubusan	134000 KbE/m³	62100 KbE/m³	29100 KbE/m³	16900 KbE/m³	14900 KbE/m³			
11	**15**	ohne Cubusan	117100 KbE/m³	55130 KbE/m³	33800 KbE/m³	13200 KbE/m³	11700 KbE/m³			
12	**Mittelwert**		**125160 KbE/m³**	**62892 KbE/m³**	**34464 KbE/m³**	**17026 KbE/m³**	**11326 KbE/m³**			
13	**log KbE**		**5,10**	**4,80**	**4,54**	**4,23**	**4,05**	**1,04**		
14										
15	**21**	mit Cubusan	122300 KbE/m³	3900 KbE/m³	50 KbE/m³	10 KbE/m³	0 KbE/m³			
16	**22**	mit Cubusan	134500 KbE/m³	6700 KbE/m³	50 KbE/m³	0 KbE/m³	10 KbE/m³			
17	**23**	mit Cubusan	110200 KbE/m³	3020 KbE/m³	60 KbE/m³	20 KbE/m³	0 KbE/m³			
18	**24**	mit Cubusan	118700 KbE/m³	2810 KbE/m³	40 KbE/m³	0 KbE/m³	0 KbE/m³			
19	**25**	mit Cubusan	109800 KbE/m³	2180 KbE/m³	30 KbE/m³	0 KbE/m³	0 KbE/m³			
20	**Mittelwert**		**119100 KbE/m³**	**3722 KbE/m³**	**46 KbE/m³**	**6 KbE/m³**	**2 KbE/m³**			
21	**log KbE**		**5,08**	**3,57**	**1,66**	**0,78**	**0,30**	**4,77**		
22										

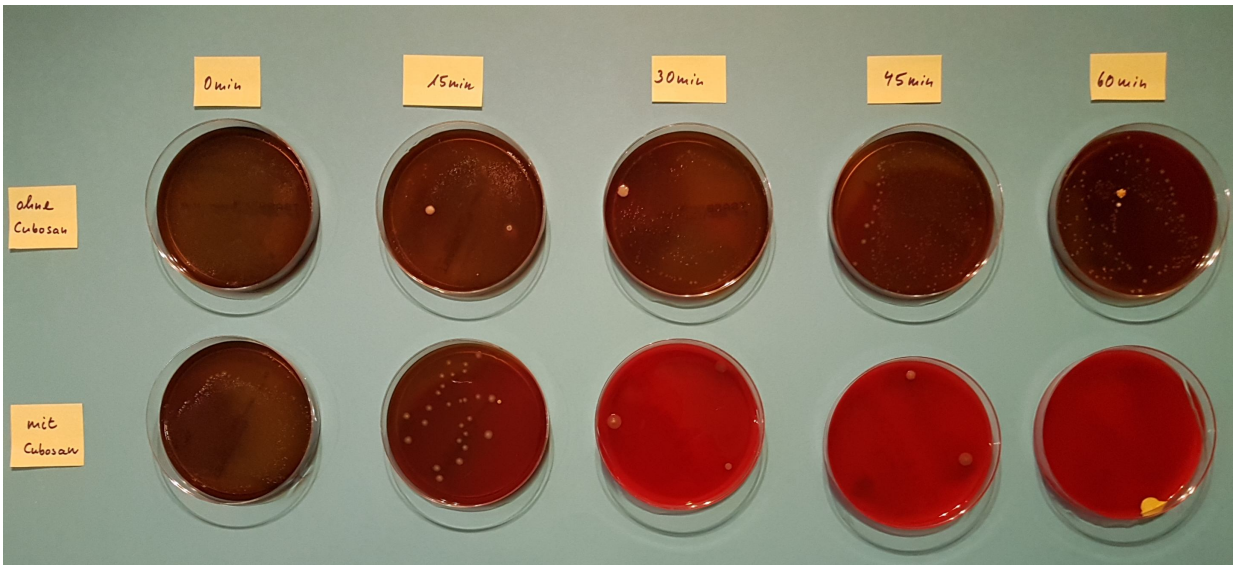
3.2 Grafische Darstellung der Ergebnisse; *lineare* Skalierung:



3.3 Grafische Darstellung der Ergebnisse; *logarithmische* Skalierung:



3.4 Darstellung der mikrobiologischen Befunde / des Bewuchs der Platten



Entercoccus faecium erscheint als graue, runde, glänzende, teils opake Kolonien, gut zu erkennen an der Platte „15min / mit CUBUSAN“. Die farbigen Kolonien sind Begleitflora.

4. Interpretation und Bewertung:

Prüfung nach EN 14476 unter Anwendung Enterococcus faecium nach DIN 10510 und DIN 10512, sowie den Vorgaben der DGHM bezüglich Desinfektionsverfahren: „Standardmethoden der DGHM für Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren“ hrsg. v. Gebel J, Werner HP, Kirsch-Altena A, Bansemir K; mhp – Verlag, Wiesbaden 2001

Nach Sicht der Ergebnisse wird durch *Anwendung des CUBUSAN – Gerätes* eine Absenkung der Luftkeimzahl um 1 Zehnerpotenz (log-Stufe) nach 15 Minuten erreicht. Dann sind 90% der Ausgangslast eliminiert und nur 10% der initial vorhandenen Keime sind noch nachweisbar.
Nach 60min wird eine Reduktion um 4 Zehnerpotenzen (log-Stufen) beobachtet (log Reduktionsfaktor (RF) = 4,77).

Eine Desinfektion ist ein mikrobiozides Verfahren, das sich dadurch kennzeichnet, dass ein Gegenstand / eine Oberfläche oder ein Medium in einen Zustandstand versetzt wird, der nicht mehr infektiös ist.
Es soll also die Keimzahl soweit abgesenkt werden, dass von (unvermeidbar) verbleibenden restlichen Mikroorganismen keine Infektionsgefahr mehr ausgeht.
Dieser Zustand wird als „Asepsis“ bezeichnet.

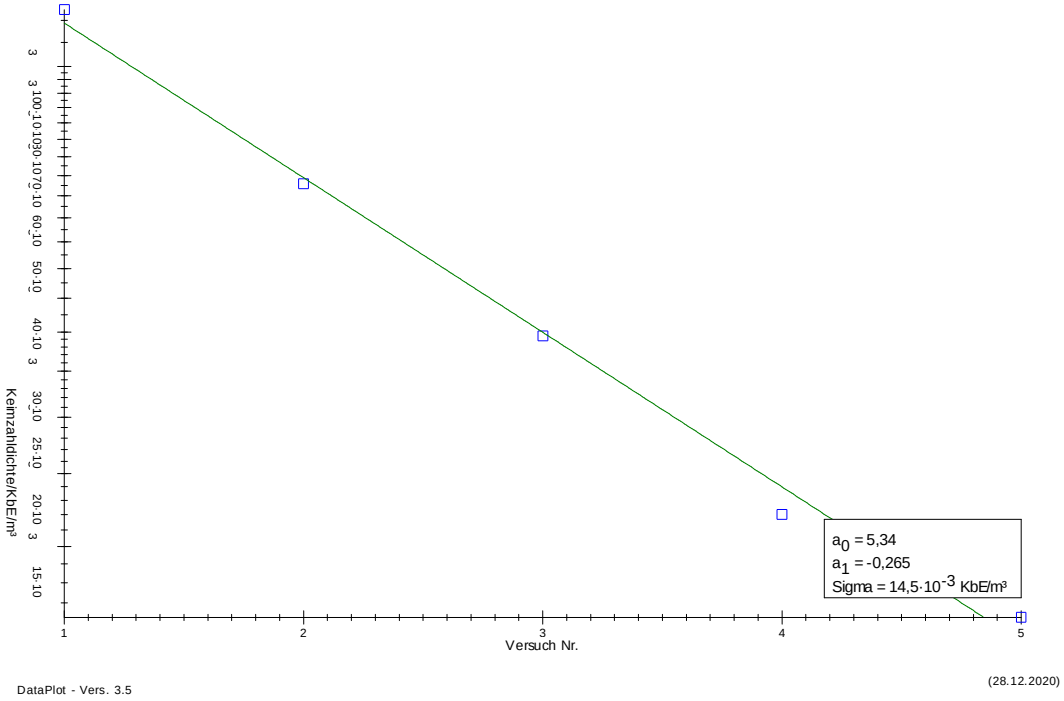
Maßnahmen, die einen solchen Zustand erzeugen, sind „Antiseptische Maßnahmen“. Nach den Empfehlung der „Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie“, DGHM, ist eine Maßnahme ist dann als Antiseptisch zu bezeichnen, wenn eine Ausgangskeimzahl um 3 bis 5 Log-Stufen (oder mehr) abgesenkt wird.

Mit einer Reduktionsleistung von 4 Zehnerpotenzen in der Raumluft eines Hüllvolumens von 30m³ wird damit eine hinreichende Keimabtötung nachgewiesen, sodass das betrachtete Verfahren (CUBUSAN-Verfahren) als „Antiseptisches Verfahren“, d.h. ein Desinfektionsverfahren der Raumluft, bezeichnet werden kann.

Die natürliche Keimzahlabnahme im Raum *ohne CUBUSAN-Gerät* beträgt innerhalb von 60 Minuten im Vergleich dazu nur 1 Zehnerpotenz (log Reduktionsfaktor = 1,07). Durch Sedimentationseffekte in Verbindung mit Adsorption an Oberflächen nimmt die Keimzahldichte auch natürlicher Weise ab.

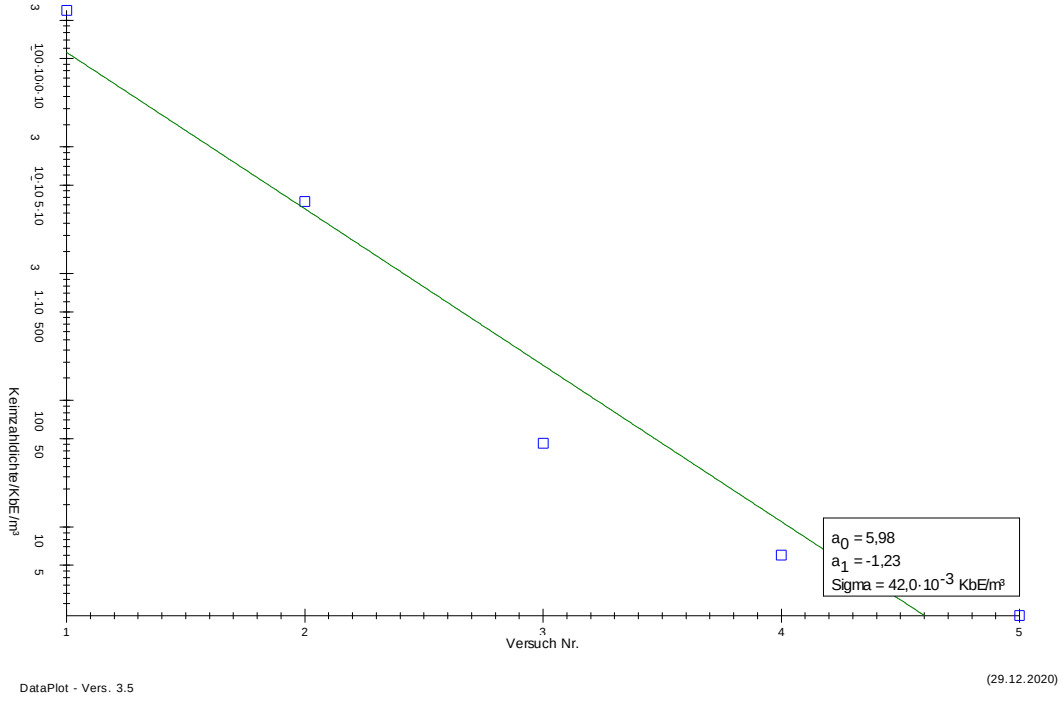
Die natürliche Abnahme der Luftkeimzahl ist demnach gering; erst nach circa 4 Stunden wären die Testkeime hinreichend der Raumluft entzogen.

Abnahmekinetik der Keimzahldichte über die Zeit *ohne* Plasmagenerator:



Halblogarithmische Skalierung. Geradenfunktion: f(x) = -0,265*x + 5,34

Abnahmekinetik der Keimzahldichte über die Zeit *mit* Plasmagenerator:



Halblogarithmische Skalierung. Geradenfunktion: f(x) = -1,23*x + 5,98

Der Steigungskoeffizient der Reduktion ohne Plasmagenerator beträgt -0,265. Bei Anwendung des Plasmagenerators liegt der Steigungskoeffizienz bei -1,23.
Das Verhältnis der Geschwindigkeit der Keimzahlabnahme beträgt demnach 4,64.

Die Abnahme der Keimzahldichte über die Zeit ist demnach 4,64-fach schneller, sofern der Plasmagenerator aktiv ist. Dies entspricht den vorgenannten Betrachtungen bezüglich der Keimzahlreduktion, da anhand der mikrobiologischen Ergebnisse eine 4-fach schnelle Keimzahlabsenkung beobachtet wurde.

Hieran zeigt sich die Sinnhaltigkeit des Plasmadesinfektionsverfahren „CUBUSAN“. Die Anwendung ist im fortlaufenden Betrieb unter Nutzung der Räume möglich, die Keimabtötung entspricht nach den Ergebnissen dieses Gutachtens einer Desinfektion und die entstehenden Hydroxylradikale sind gesundheitlich nicht nachteilig.

Das CUBUSAN-Gerät wurde unter Anwendung einer Keimanreicherung in der Luft durch den Aerosolgenerator geprüft.

Durch die *ständige Anwendung* des CUBUSAN-Geräts würde sogar eine fortlaufende Desinfektion auch unter Nutzung der Räume erreicht. Dadurch wird bedingt, dass eingetragene Keime unmittelbar beseitigt werden und keine Anreicherungen entstehen können.

Die Lücke der Übertragungskette (Infektionskette), die unabhängig von den bisher etablierten Maßnahmen bislang bestand, kann durch den untersuchten Plasmagenerator geschlossen werden.
Damit stellt der untersuchte Plasmagenerator (CUBUSAN-Gerät mit STEREX-Plasmazelle) ein zusätzliches und wirksames Mittel der Verhältnisprävention im Hinblick auf die Unterbrechung aerogener Übertragungswege dar.

Insgesamt betrachtet, stellt der Plasmagenerator „CUBUSAN“ mit dem STEREX-Plasmaverfahren ein wirksames und sinnvolles Procedere zur Raumluftbehandlung dar. In Ergänzung der bisher etablierten Maßnahmen wird hier eine Abrundung der bestehenden Präventionsmaßnahmen erreicht und das Risiko der aerogenen Keimübertragung signifikant – im Sinne einer Luftdesinfektion – auf ein maximal niedriges Niveau reduziert (ca. 4,5 log-Stufen bei DGHM-Testkeim Desinfektion Enterococcus faecium; EN 14476).
Es zeigt sich bei der Betrachtung der Fallzahlen in Europa im Jahr 2020, dass die Übertragung durch die üblichen, verhaltenspräventiven Maßnahmen nicht unterbunden wird. Erst durch zusätzliche, validierbare und wirksame Maßnahmen, wie die Plasmadesinfektion der Luft durch das STEREX-Verfahren z.B. im CUBUSAN-Gerät, kann die Übertragung wirksam reduziert und das Auftreten lokaler „Hot-Spots“ verhindert werden.

Ergänzende Informationen und Bemerkungen:

Die Untersuchung / Prüfung erfolgte im *akkreditierten Labor* „Umwelthygiene Marburg“. Das Labor ist entsprechend DIN EN ISO/IEC 17025 für mikrobiologische Untersuchungen und die Untersuchung von pharmazeutischen Produkten und Medizinprodukten akkreditiert (DAkkS Berlin). Das bedeutet, dass das Labor einen weltweit gültigen, extrem hohen Qualitätsstandard abbildet, welcher die Validität der erhobenen Ergebnisse gewährleistet.
Weiterhin sind immer mikrobiologische Ergebnisse als Fotodokumentation der Nährböden nach Kultivierung dargestellt, da die mikrobiologischen Ergebnisse der kulturellen Keimanzucht visuell zu erkennen sind.

Die *Anwendung des Plasmadesinfektionsverfahrens* wurde *zuvor im Bereich von Gasträumen in Restaurants, Unterrichtsräumen in Schulen, Behandlungsräumen in Kliniken und Zahnarztpraxen, sowie Büroräumen in Behörden (am Beispiel einer Justizvollzugsanstalt in Deutschland) geprüft*. In diesen Bereichen wurden ähnliche Reduktionsleistungen der aerogenen Keimlast beobachtet. Das bedeutet, dass die Ergebnisse auch auf diverse andere Innenräume zur Anwendung gebracht werden können.
Das üblicherweise anzunehmende Grenzvolumen für das aktuell geprüfte Gerät „CUBUSAN“ beträgt ca. 120m³. Für größere Kubaturen (Hüllvolumen) sind entsprechend mehr Geräte vorzusehen.
Das Volmen von 120m³ entspricht dem Stundendurchsatz des verwendeten Lüfters.

Das Gerät arbeitet durch *Freisetzung von Hydroxylradikalen* als desinfektionswirksames Agens, *nicht durch Filtration* der Luft. Die Desinfektionswirkung entfaltet sich in der Raumluft durch Zugabe von Hydroxylradikalen. Daher ist es für die Desinfektionswirksamkeit nicht erforderlich, dass das gesamte Luftvolumen mehrfach pro Stunde durch das Gerät gelangt. Das CUBUSAN-Gerät ist vielmehr der Emitter der desinfektionswirksamen Hydroxylradikale.

Die *Wirksamkeit der Hydroxylradikale* ist auch im Hinblick auf *Oberflächenkeime* gegeben. Hierzu ist ein entsprechendes Gutachten vom April 2020 als Anhang diesem Gutachten beigefügt. Das dort gezeigte Verfahren ist das STEREX-Verfahren, das jedoch in einem anderen Gerät installiert ist. Unter den dort dargestellten Prüfbedingungen werden im Nahfeld des Geräts bis zu 5 log-Stufen der Oberflächenkeimlast eliminiert.
Im September 2020 wurde für die dieses Gutachten beauftragende Firma (STEURER Trocknungs- und Aufbewahrungssysteme GmbH) eine Untersuchung von Desinfektions-Trockenschränken durchgeführt. Hier wurde die Inaktivierung von Oberflächenkeimen auf Kleidung untersucht. Die Anwendung des Plasmadesinfektionsverfahrens ergab hier eine hinreichende Desinfektionswirkung auf verschiedenen Oberflächen (Naturfasern, Synthetikfasern, Leder, Metall).
Diese Erkenntnis bestätigt die Wirksamkeit des Plasmadesinfektionsverfahrens im Hinblick auf Oberflächen, sodass auch Desinfektionen von komplexen Oberflächen (z.B. aufgeschlagene Bücher, Spielsachen, etc.) möglich sind.

Die *Reduktionsleistung von Gesichtsmasken* (übliche „Alltagsmasken“) liegt im Bereich von maximal 2 Zehnerpotenzen (log – Stufen), d.h. von 100 Keimen kann im günstigsten Falle 1 Keim die Maske überwinden. Durch nicht normierte Materialien und Tragegewohnheiten ergibt sich in der Praxis eine weitaus schlechtere Reduktionsleistung bis hin zur Tatsache, dass die Reduktionsleistung nicht mehr sicher angegeben oder angenommen werden kann.
Die Reduktionsleistung von Alltagsmasken liegt selbst bei korrekter Anwendung (hier nur 2 log Stufen Reduktionsleistung, vgl. oben) noch nicht im Bereich einer Desinfektion, da eine Desinfektion durch eine Reduktionsleistung von 3 bis 5 Zehnerpotenzen nach DGHM definiert ist. Masken können eine Risikoreduktion sein, aber der Effekt lässt sich nicht normieren und daher nicht validieren (=unsicher!). Es ist gefährlich, Alltagsmasken als alleinige Maßname der Sicherheit zu propagieren.

Daraus ergibt sich die Tatsache, dass die Risikoreduktion von Luftkeimübertragungen durch Anwendung des Plasmagenerators höher ist (circa 4 log – Stufen), als bei Tragen von Masken (circa 2 log – Stufen).

Das gleichzeitige Tragen von Masken plus Anwendung des Plasmagenerators ist *additiv*, nicht multiplikativ zu betrachten, da die Maßnahmen getrennt sind und in sich unterschiedliche Maßnahmen darstellen.
Daher überwiegt immer die Maßnahme mit dem höheren Reduktionsfaktor, das wäre an diesem Beispiel die Plasmadesinfektion.
Vor diesem Hintergrund ergibt sich daraus die Sachlage, dass das Tragen einer Maske bei gleichzeitiger Aktivität des Plasmagenerators im Raum die Risikoabsenkung nicht signifikant verbessert.
Daher kann im Umfeld von natürlichen oder juristischen Personen bei korrekter Anwendung des Plasmagenerators auf das Tragen von Masken verzichtet werden.

In diesem Falle müssen aber trotzdem Mindestabstände eingehalten werden und ein ausreichender Luftwechsel muss im Raum sichergestellt werden.

Die ausgesprochene Empfehlung betrifft nicht den öffentlichen Raum. Im öffentlichen Raum haben die aktuellen Vorgaben der Aufsichtsbehörden Vorrang, denen entsprechend Folge zu leisten ist.

Diese Sachverhalte untermauern die Sinnhaltigkeit des Sterex-Verfahrens und den hohen Impact der Verwendung des Verfahrens im CUBUSAN-Gerät zur Desinfektion in Innenräumen bis 120m³ pro Gerät. Die Desinfektionswirkung wird am Beispiel von E.faecium für RKI-Klasse A (native Bakterien und Pilze), sowie B* (begrenzt viruzid, eine Wirkung gegen *behüllte* Viren ist gegeben)

Für Rückfragen steht der Begutachtende unter 0175 / 9150334 zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen,

Priv.-Doz. Dr. med. Ulrich F. Schmelz
CEO Dr. Schmelz GmbH Malsfeld
Facharzt für Med. Mikrobiologie & Infektionsepidemiologie; Dipl.-Lebensmittelchemiker; Dipl.-Ing.(FH) Verfahrenstechnik

Anhang – informativ – als Ergänzung der Informationen
Gutachten über die Oberflächenwirksamkeit des STEREX-Plasmaverfahrens

Dr. Schmelz GmbH
Kompetenzzentrum für technische Hygiene und angewandte Mikrobiologie

PD Dr. med. Dipl.-Chem. Dipl.-Ing.(FH) Ulrich Schmelz

Krankenhaus- und Praxishygiene – Analytik – Anlagentechnik
Buchenweg 20 – 34323 Malsfeld – Tel.: 05661 / 9255635 – Fax: 05661 / 4875 – Mobiltel.: 0175 / 9150334

Zusammenfassende Darstellung der Desinfektionswirkung

Desinfektionswirkung des Verfahrens
„Plasma Plus Air 3“
am Modell von Enterococcus faecium

nach den Vorgaben der Standardprüfverfahren der
Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)

Kooperationsprojekt zwischen
Umwelthygiene Marburg GmbH & Co. KG und Dr. Schmelz GmbH Malsfeld

Durchführung der Untersuchungen:
03.04.2020 bis 15.04.2020 (Mikrobiologie)
22.04.2020 bis 27.04.2020 (Chemische Bewertung Ozon)

Datum des Dokuments: 28.04.2020

Zusammenfassung der mikrobiologischen und chemischen Desinfektionswirksamkeit des Verfahrens „Plasma Plus Air“:

Grundlage sind die mikrobiologischen und chemischen Prüfungen des Verfahrens am Modellgerät „Plasma Plus Air“ 12m³/h im März 2020.

Folgende Sachverhalte zur Desinfektionswirksamkeit können festgestellt werden:

- Das Verfahren erzeugt mit stillen Entladungen an entsprechenden Oberflächen innerhalb des Geräts eine chemisch-physikalische Veränderung des Sauerstoffs der Luft.
- Der Sauerstoff wird in Hydroxylradikale umgesetzt, parallel entstehen noch Spuren von Wasserstoffperoxid und Ozon. Die Hydroxylradikale sind für die Desinfektion erforderlich.
- Die Ozonbildung kann optional aktiviert werden. Ozon kann den Desinfektionseffekt ergänzen und gleichzeitig eine Desodorierung von Räumen erreichen.
    - Bei inaktivierter Ozonbildung ist unter laborchemischen Bedingungen kein Ozon mit Signifikanz oberhalb der Bestimmungsgrenze des Analyseverfahrens nachweisbar.
    - Bei aktivierter Ozonbildung wird Ozon bis ca. 2,5mg/h gebildet. Diese geringe Ozonkonzentration kann dann für die Desodorierung verwendet werden.
- Hydroxylradikale haben keine nachteiligen Wirkungen auf Menschen, Tiere und Pflanzen, sodass die Hydroxylradikalbildung auch und gerade bei Räumen in Nutzung angewandt werden kann und soll.
    - Die Keimabtötung, bzw. Keiminaktivierung wird durch Oxidation von Fettsäuren in den Zellmembranen oder Virushüllen erreicht, sodass die mikrobiologische Grenze zwischen innen und außen am Mikroorganismus zerstört wird. Resistenzbildungen sind hier nicht möglich.
- Die Wirksamkeit wurde in einem „Quantitativen Suspensionsversuch nach DGHM Vorgaben“ geprüft. Als Modellorganismus wurde Enterococcus faecium verwendet.
- Die Eliminierung des Enterococcus faecium weist gleichzeitig (subsumierend) eine Desinfektion in der Wirkklasse A nach Robert-Koch-Institut (native Bakterien und Pilze), sowie eine begrenzte Desinfektion in der Wirkklasse B (nur behüllte Viren, z.B. auch das SARS-CoV-2) aus. So kann indirekt auch die Inaktivierung von Viren an einem bakteriellen Modellorganismus geprüft werden (der inaktivierungsresistenter ist, als z.B. das betrachtete Virus selbst).
- Das Gerät erzeugt eine Keimzahlreduktion von 99,999% (> 5 log-Stufen) im Nahfeld der Anwendung (ca. 30 bis 40cm vom Gerät entfernt) über ein Zeitintervall von ca. 30 min. Die Desinfektionswirkung ist auf die Hydroxylradikale rückführbar.
- Die Desinfektion erfasst die Luft, sowie auch die Oberflächen, welche mit der Luft in Kontakt stehen.
- Das Verfahren wirkt desinfizierend auf die Luft, sowie auf die Oberflächen direkt, jedoch werden in Kontaminationen eingeschlossene Keime nicht erfasst.

Das Gerät stellt eine sinnvolle und wertvolle Ergänzung von Präventions- und Hygienemaßnahmen im allgemeinen Umfeld und speziell im medizinischen Umfeld (Stationen im Krankenhaus, Zaharztpraxen, Altenheime, etc.) dar und ist fortlaufend einsetzbar.

Weitere Hygienemaßnahmen, z.B. Flächen- und Händedesinfektion sind weiterhin umzusetzen. Durch die Anwendung der plasmabedingten Hydroxylradikale wird eine weitere Barriere der Übertragung von aerogenen Infektionskette entgegen gestellt.
Auf diese Weise wird die Wahrscheinlichkeit auch von potentiellen SARS-CoV-2-Übertragungen deutlich reduziert, wodurch dieses Verfahrens als sehr sinnvoll und wertvoll für das Gemeinwohl bezeichnet werden kann und nach gutachterlicher Auffassung eine hohe Systemrelevanz aufweist.

Malsfeld, Marburg und Göttingen, den 28.04.2020

gez. PD Dr.med. Ulrich F. Schmelz

PD Dr.med. | Dipl.-Chem. | Dipl.-Ing.(FH), Leiter der Einrichtung
Arzt für Med. Mikrobiologie & Infektionsepidemiologie, Dipl.-Lebensmittelchemiker, Dipl.-Ing.(FH) Verfahrens- und Anlagentechnik

Tabellarische Darstellung der Ergebnisse des quantitativen Suspensionsversuchs nach DGHM Vorgaben

Auswertung Expositionsversuch Plasma Air Plus 3 mit Testkeim Enterococcus faecium auf Keimträger als Quantitativer Suspensionsversuch nach DGHM

Nr.	Beschreibung	10^0 1 = 1	10^-1 1 = 10	10^-2 1 = 100	10^-3 1 = 1000	Volumen auf Platte	Volumen Verd.Stufe	Verd. Stufe für die Berechnung	KbE/Prüfkörper	Mittelwert KbE	Log KbE	Log Reduktionsfaktor
	Verdünnungsfaktor	1	10	100	1000							
V 01	Expos. 30min, Plasma, 30% rel. Feuchte	3 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	60 KbE			
V 02	Expos. 30min, Plasma, 30% rel. Feuchte	6 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	120 KbE	90 KbE	1,95	5,38
V 03	Expos. 30min, Plasma, 95% rel. Feuchte	1 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	20 KbE			
V 04	Expos. 30min, Plasma, 95% rel. Feuchte	1 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	20 KbE	20 KbE	1,30	6,04
V 05	Expos. 30min, Plasma + Ozon, 30% rel. Feuchte	1 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	20 KbE			
V 06	Expos. 30min, Plasma + Ozon, 30% rel. Feuchte	1 KbE	0 KbE	0 KbE	0 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1	20 KbE	20 KbE	1,30	6,04
K 1	Ausgangskeimzahl PK 1	> 200 KbE	> 200 KbE	> 200 KbE	692 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1000	13840000 KbE			
K 2	Ausgangskeimzahl PK 2	> 200 KbE	> 200 KbE	> 200 KbE	1480 KbE	0,5 mL	10,0 mL	1000	29600000 KbE	21720000 KbE	7,34	

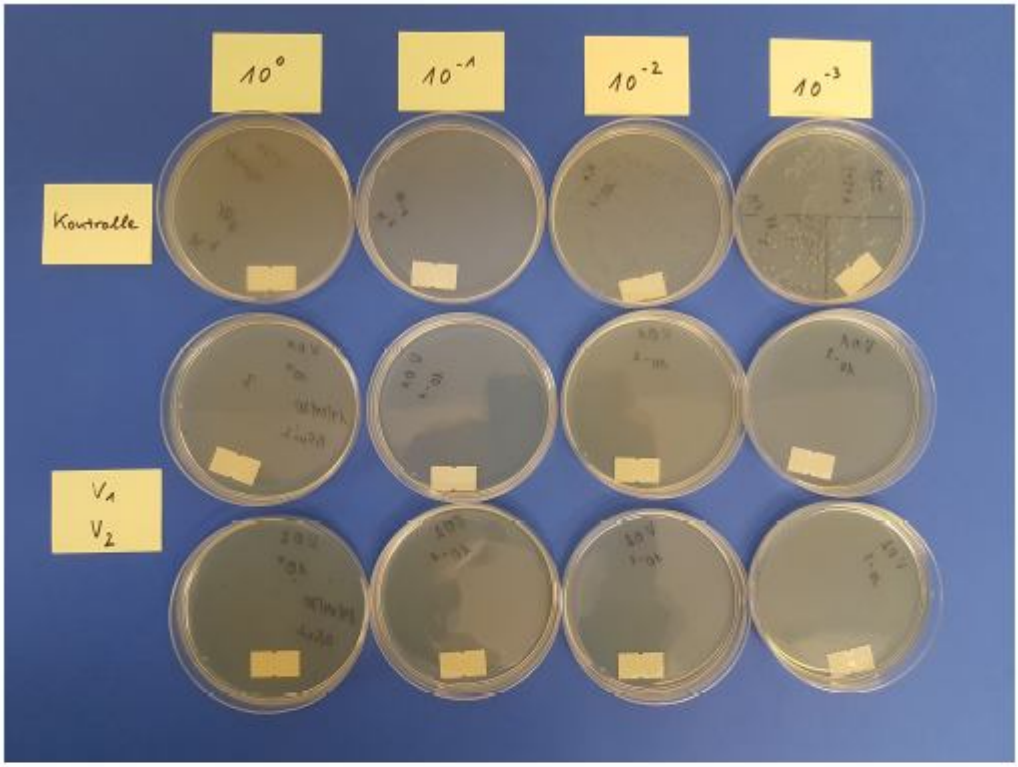
Bemerkungen / Hinweise:
V03 / V04 und V05 / V06 zeigten auch bei direkter Kultivierung (10^0) kein Wachstum. Für die Berechnung der Logarithmen darf der Wert nicht Null sein. Es wird theoretisch ein Keim (1 KbE) für die Berechnung angenommen.
Das Ergebnis ist hier also korrekt < 1, wodurch die Log. Reduktionsfaktor mit jeweils > 6,04 angegeben werden muß. Das bedeutet, dass die Keimzahlreduktion in der Praxis noch höher ist.

Beschreibung der Abkürzungen:
V = Expositionsversuch, d.h. der Prüfkörper wurde dem Inaktivierungsverfahren gegenüber exponiert
K = Kontrollprobe ohne Exposition zur Feststellung der Ausgangskeimzahl
KbE = koloniebildende Einheiten = mindeste Zahl in der Probe befindlicher Mikroorganismen
Volumen auf Platte = das zur Kultivierung auf Caso Agar aus der jeweiligen Verdünnungsstufe verwendete Volumen, hier 0,5mL
Verd. Stufe für die Berechnung = die zur Berechnung der Keimzahl verwendete Verdünnungsstufe, optimal soll diese ca. 1 bis 200 Kolonien zeigen
KbE/Prüfkörper = aus Zählbefund der Agarplatte und zugehöriger Verdünnungsstufe und Berücksichtigung von 0,5mL aus 10mL einer Verdünnungsstufe berechnete Keimzahl auf einem Prüfkörper
Mittelwert KbE = aus den parallel durchgeführten Expositionsversuchen berechneter Mittelwert der Koloniezahl
Log KbE = dekadischer Logarithmus der zuvor berechneten Koloniezahl.
Log Reduktionsfaktor = Logarithmus der Keimzahlreduktion bei Vergleich der Ausgangskeimzahl (Mittelwert von K1 und K2) mit den Mittelwerten der Keimzahl, die auf den Prüfkörpern nach den drei verschiedenen Versuchsbedingungen war

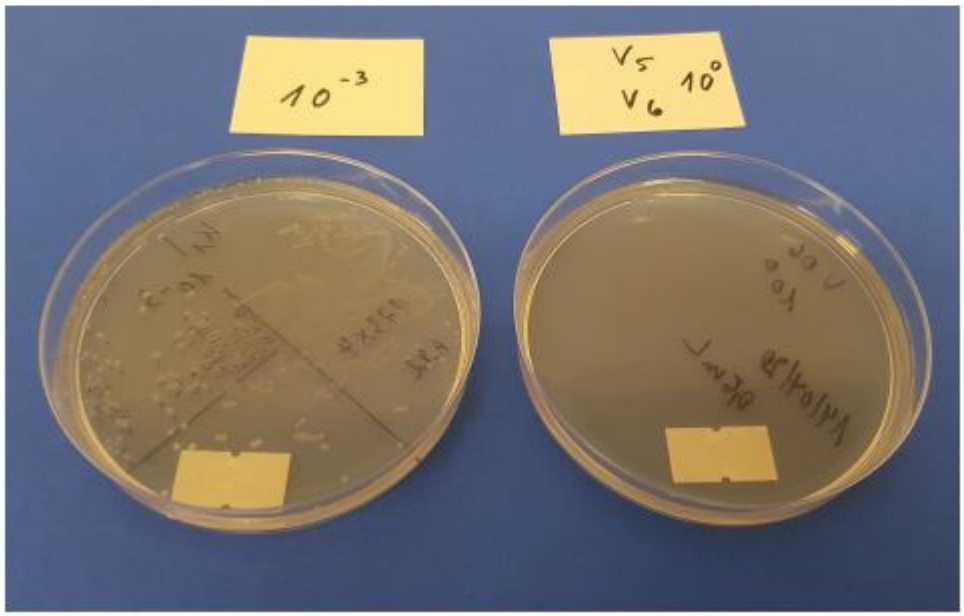
Ein Log Reduktionsfaktor von z.B. 5,38 gibt an, dass unter den zugehörenden Expositionsbedingungen 10^5,38 KbE eliminiert werden.
Das bedeutet: 10^5,38 = 239883-fache Reduktion = mehr als 100.000-fache Reduktion = Reduktion um mehr als 5 Zehnerpotenzen = 99.999% der Mikroorganismen werden zerstört

DR. SCHMELZ
KOMPETENZZENTRUM
technische Hygiene & angewandte Mikrobiologie

Wirksamkeitsnachweis: Laborergebnisse nach Kultivierung:



Verdünnungsreihe mit Kultivierungsversuch. die Kontrollprobe zeigt bis Verdünnung 10^{-3} einen starken Bewuchs, die Platten aus den Versuchen 1 und 2 sind allesamt praktisch frei von Bewuchs: der Testkeim Enterococcus faecium wurde nahezu vollständig abgetötet.



5