

4.5 Wirksame Desinfektionsmittel gegen bakterielle Erreger der Risikogruppe 3

*Bernd Appel · Silke Becker · Roland Grunow
Daniela Jacob · Silke Klee · Herbert Nattermann*

Zusammenfassung

Mit Suspensions- und Keimträgerversuchen wurde die sporizide Wirkung von unterschiedlichen Konzentrationen von Formaldehyd- sowie wässriger und alkoholischer Peressigsäure- (PES-) Lösungen auf Milzbrandsporen untersucht. Formaldehyd (zehn Prozent) tötet Milzbrandsporen bei praktikablen Konzentrationen und Einwirkzeiten nicht sicher ab.

Mit einer einprozentigen PES-Lösung konnten in Suspensionsversuchen alle Sporen schon in weniger als zwei Minuten und mit einer 0,5-prozentigen PES-Lösung in weniger als drei Minuten abgetötet werden. Im Keimträgerversuch – einer Prüfung unter praxisnahen Bedingungen – überlebten die Sporen auf 38 Prozent der Keimträger eine Behandlung mit einer einprozentigen wässrigen PES-Lösung für 15 Minuten.

In 80-prozentiger ethanolischer Lösung war die Peressigsäure sowohl im Suspensions- als auch im Keimträgerversuch der wässrigen Lösung hinsichtlich ihrer sporiziden Wirkung deutlich überlegen. Eine 30-minütige Behandlung mit einer einprozentigen wässrigen PES-Lösung überlebten Milzbrandsporen auf 14 Prozent der Keimträger. Im Gegensatz dazu konnten mit einer 30-minütigen Einwirkzeit einer einprozentigen alkoholischen PES-Lösung Milzbrandsporen unter den Bedingungen dieses praxisnahen Prüfverfahrens sicher abgetötet werden.

Die nachgewiesene Verbesserung der sporiziden Wirkung der PES in alkoholischer Lösung sollte in praxisnahen Prüfverfahren weiter getestet werden (Wirkstoffzehrung, Schutzsubstanzen, beschleunigte Zersetzung der PES im Alkohol).

Einleitung

Die Bezeichnung Desinfektion ist aus der medizinischen Praxis übernommen, wo es darum geht, die Übertragung von Krankheitserregern durch deren Abtötung zu verhindern. Nach der früher gültigen Definition (Deutsches Arzneibuch / DAB 6, 1926) handelt es sich um eine selektive Maßnahme, die sich gezielt auf die Ausschaltung der Krankheitserreger beschränkt.

- „Desinfizieren heißt, einen Gegenstand in einen Zustand versetzen, in dem er nicht mehr infizieren kann.“

In den Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes (BGA) zur Durchführung der Desinfektion (1987) wird Desinfektion wie folgt definiert:

- „Desinfektionsmaßnahmen bezwecken die Abtötung bzw. irreversible Inaktivierung von krankheitserregenden Keimen an und in kontaminierten Objekten sowie die Unterbrechung von Infektionsketten.“

Unter Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels versteht man seine Eigenschaft, Mikroorganismen in ihrer Anzahl zu reduzieren. Der Grad der Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels wird durch so genannte Reduktionsfaktoren, die sich auf Testkeime beziehen, bemessen. Von einer Desinfektion spricht man bereits bei einer Keimreduktion um mindestens 5 Logarithmus-Stufen, das heißt: Von ursprünglich 100.000 vermehrungsfähigen Keimen (KBE) überlebt nicht mehr als ein Einziger. Bei bioterroristisch relevanten bakteriellen Erregern mit geringer Infektionsdosis reicht dies jedoch nicht aus.

In der medizinischen Anwendungspraxis richten sich Desinfektionsmaßnahmen fast ausschließlich gegen vegetative Keime. Fast alle auf dem Markt befindlichen Desinfektionsmittel (DM) vermögen nicht unter den gegebenen Anwendungsempfehlungen mikrobielle Dauerformen, insbesondere bakterielle Sporen (Abb. 33) unschädlich zu machen.

Beim Umgang mit BT-Proben wird von einem Desinfektionsmittel erwartet, dass es mikrobielle Keime aller Art insbesondere bakterielle Sporen verlässlich abtötet. Um hohe Keimzahlen, wie sie z. B. in Bioterrorismus-Proben bereits vorkamen, sicher in einen Zustand zu versetzen, dass von solchen Materialien keine Gefahr mehr ausgehen kann, reicht eine Reduktion der Keimzahl um 10^5 ,

wie sie von der Desinfektionsmittelprüfung gefordert wird, nicht aus. Die meisten Desinfektionsmittel sind daher für eine schnelle und sichere Inaktivierung von hoch pathogenen Keimen, insbesondere Milzbrandsporen, nicht geeignet. So töten von den von der WHO [4] zur Abtötung von *Bacillus anthracis*-Sporen empfohlenen Mitteln Formaldehyd (FA), Glutardialdehyd (GA), Peressigsäure (PES), Wasserstoffperoxid und Natriumhypochlorit nur Natriumhypochlorit und PES mehr als 99,9 Prozent *Bacillus*-Sporen in dreißig Minuten ab [7]. Das bedeutet, dass bei den übrigen Desinfektionsmitteln bei einer Ausgangskeimzahl von 10^9 Sporen noch mindestens eine Million überleben können. Dies ist bei einer Infektionsdosis von 10.000 für *B. anthracis*-Sporen (Tab.14, Abb. 33) nicht ausreichend.

CDC	Spezies	Krankheit	Infektionsdosis
A	<i>Bacillus anthracis</i>	Milzbrand/Anthrax	8.000–10.000*
	<i>Yersinia pestis</i>	Pest	1–10 100–500 (CDC)
	<i>Francisella tularensis</i>	Tularämie/ Hasenpest	10–50
hohe Morbidität, hohe Mortalität			
B	<i>Burkholderia mallei</i>	Rotz/Malleus	gering
	<i>B. pseudomallei</i>	Melioidose	gering
	<i>Brucella spp.</i>	Brucellose	10–100
	<i>Coxiella spp.</i>	Q-Fieber	1–10
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Fleckfieber	unbekannt
hohe Morbidität, niedrige Mortalität			

* Sporen

Tab. 14: Bioterroristisch relevante bakterielle Erreger

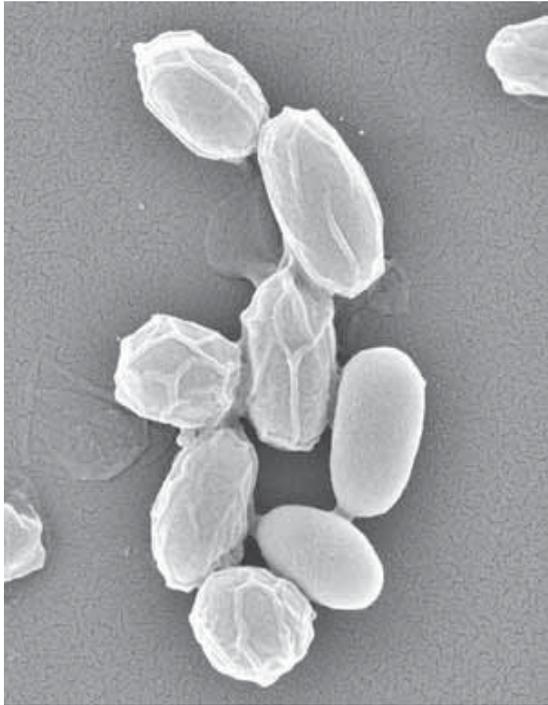


Abb. 33: Freie Sporen von *Bacillus anthracis*
(Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme: M. Özel, RKI)

Aber auch Natriumhypochlorit, welches mehr als 99,9 Prozent *Bacillus*-Sporen innerhalb von dreißig Minuten abtötet, kann für diese Anwendung nicht empfohlen werden. Obwohl die Schwächen des Natriumhypochlorits als Desinfektionsmittel in der Literatur eindeutig belegt sind [6], werden sie nicht ausreichend berücksichtigt. Vor allem in den USA wird dieser Wirkstoff häufig und für fast alle Anwendungszwecke eingesetzt.

In Deutschland wird Natriumhypochlorit nicht zur Flächendesinfektion empfohlen, weil es in Gegenwart von organischem Material unzuverlässig wirkt. Natriumhypochlorit-Lösungen sind wenig stabil. Ihre Haltbarkeit ist von zahlreichen Faktoren abhängig: Konzentration, pH-Wert, Temperatur, Anwesenheit von Katalysatoren oder organischem Material, Lichteinwirkung. Bei pH 5-6 verlieren NaOCl-Lösungen schon in weniger als einer Stunde bis zu 90 Prozent ihres Gehaltes an Gesamt-Chlor [6]. Die Chlorzehrung ist besonders deshalb so bedeutungs- und verhängnisvoll, weil sie so rasch vonstattengeht. Ehe die Keime in nennenswertem Umfang inaktiviert sind, ist der Gehalt an wirksamem Chlor bereits stark abgefallen. Mit steigendem pH-Wert nimmt die Stabilität zu. Der pH-Wert der Handelsprodukte liegt daher bei Werten über 11.

Entscheidende Kriterien zur Auswahl geeigneter Desinfektionsmittel gegen hoch pathogene Erreger sind:

- starke Keimreduktion, vollständige Abtötung
- rasche und irreversible Wirkung
- breites Wirkungsspektrum
- Zuverlässigkeit der Wirkung (Eiweißschutzsubstanzen)
- Unschädlichkeit

Vom Robert Koch-Institut [3] wird in der „Empfehlung zur Vorgehensweise bei Verdacht auf Kontamination mit gefährlichen Erregern“ zur Flächendesinfektion

- einprozentige Peressigsäure (Einwirkzeit: 30 Minuten) oder
- zehnprozentiges Formaldehyd (Einwirkzeit: 2 Stunden) empfohlen.

Auch die WHO [8] empfahl für die Zerstörung von *B. anthracis*-Sporen zwei- bis zehnprozentiges Formaldehyd (Einwirkzeit: 30 Minuten bei 40 °C). Deshalb stellten wir uns die Aufgabe, die Wirksamkeit von Formalin und Peressigsäure auf *Bacillus*- einschließlich *B. anthracis*-Sporen zu testen. Damit sollte ein Beitrag zur Erhöhung der Sicherheit beim Umgang mit Bakterien der Risikogruppe 3 geleistet werden.

Aufgabenstellung

- Prüfung der Wirksamkeit des für die Elektronenmikroskopie (EM) verwendeten Fixationsmittels (10 Prozent Formaldehyd + 0,05 Prozent Glutaraldehyd) in Abhängigkeit von der Einwirkzeit auf *B. anthracis*-Sporen in quantitativen Suspensionsversuchen
- Wirksamkeitsprüfung von Peressigsäure für die Flächendesinfektion mittels Suspensions- und Keimträgerversuchen an *B. anthracis*-Sporen
- Orientierende Untersuchungen zur Wirksamkeitsprüfung von Peressigsäure-Aerosol im Wofasteril[®]-Kombiverfahren an *B. anthracis*-Sporen

Material und Methoden

Testorganismen

Die Prüfung der Wirksamkeit von FA und verschiedener PES-Konzentrationen wurde an Sporensuspensionen von den avirulenten *B.-anthracis*-Stämmen CDC 10114 (W) und Stamatin, Sokol (S) vorgenommen.¹ Die Sporensuspension wurde nach Angaben eines geringfügig modifizierten Prüfverfahrens zur Testung der sporiziden Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln [1] hergestellt.

Suspensionsversuche

Formaldehyd und PES sollten zunächst im Suspensionsversuch auf ihre Wirkung gegen Milzbrandsporen getestet werden. Hierfür wurde methodisch in Anlehnung an ein Prüfverfahren zur Testung der sporiziden Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln (EN 14347: 2004) vorgegangen [1]. Diese europäische Norm beschreibt einen Suspensionstest zur Prüfung, ob ein chemisches Desinfektionsmittel oder Antiseptikum unter den in dieser Norm festgelegten Laboratoriumsbedingungen eine spezifische Wirkung aufweist.

Prinzip: Im Hauptversuch wird zu dem zu prüfenden Desinfektionsmittel eine Prüfsuspension von Bakteriensporen gegeben. Das Gemisch wird bei 20 °C aufbewahrt. Nach definierten Einwirkzeiten wird die Reduktion der Ausgangskeimzahl bestimmt. Dazu wird mittels Verdünnung in Trypton-Soja-Bouillon und Neutralisationsmedium die Anzahl der überlebenden Bakteriensporen in jeder Probe bestimmt. Die ursprüngliche Anzahl der Bakteriensporen wird parallel dazu in der Prüfung ermittelt. Zusätzlich wurde die fehlende Toxizität der Neutralisationsmedien nachgewiesen.

Keimträgerversuche

Allgemeines

Für Untersuchungen zur Ermittlung der Gebrauchskonzentration und Einwirkzeit der PES unter praxisnahen Bedingungen modifizierten wir den in der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes zur Prüfung der Wirksamkeit von Flächendesinfektionsmitteln für die Desinfektion bei Tuberkulose beschriebenen

1 Für die Überlassung der Stämme möchten wir uns bei den Herren R. Böhm und W. Beyer, Universität Hohenheim, bedanken

Keimträgerversuch [2]. Die Prüfung verschiedener PES-Konzentrationen wurde an Milzbrandsporensuspensionen ohne Kontamination mit Blut und ohne Referenzverfahren bei ca. 20 °C vorgenommen.

Prinzip: Milzbrandsporen-Suspensionen wurden auf Keimträger aufgetragen, nach dem Antrocknen (max. 60 min) mit einer PES-Lösung überschichtet und mit Glasspatel verrieben. Nach definierten Einwirkzeiten wurden die Keimträger in 5 ml Trypton-Soja-Bouillon mit Neutralisationsmitteln und Glasperlen überführt und fünf Minuten geschüttelt. Danach wurden 100 µl auf Trypton-Soja-Agar-Platten (TSA-Platten) und 0,5 ml in 4,5 ml Luria-Bertani-Medium gegeben. Die Wachstumskontrolle der Anreicherungen erfolgte nach Inkubation bei 37 °C nach 1 und 14 Tagen durch Ausplattieren von 100 µl auf TSA-Platten.

Die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels wird durch den Reduktionsfaktor angegeben; dies ist die Differenz zwischen dem Logarithmus (log KBE) des Bezugswertes und den Logarithmen der Anzahl koloniebildender Einheiten auf den Testflächen nach Einwirkung des zu prüfenden Desinfektionsmittels. Erläuternde Hinweise zu Material, Durchführung und Auswertung der Prüfung sind in der oben genannte Richtlinie und bei Nattermann et al. (2005) enthalten.

Ergebnisse und Diskussion – Formaldehyd

In Suspensionsversuchen zur Ermittlung der Wirkung des Fixationsmittels für die Elektronenmikroskopie (10 % FA + 0,05 % GA) auf *B. anthracis*-Sporen bei 20 °C konnte eine Reduktion der Sporenzahl bereits nach 30 Minuten um 4 bis 5 log-Stufen festgestellt werden (Abb. 34).

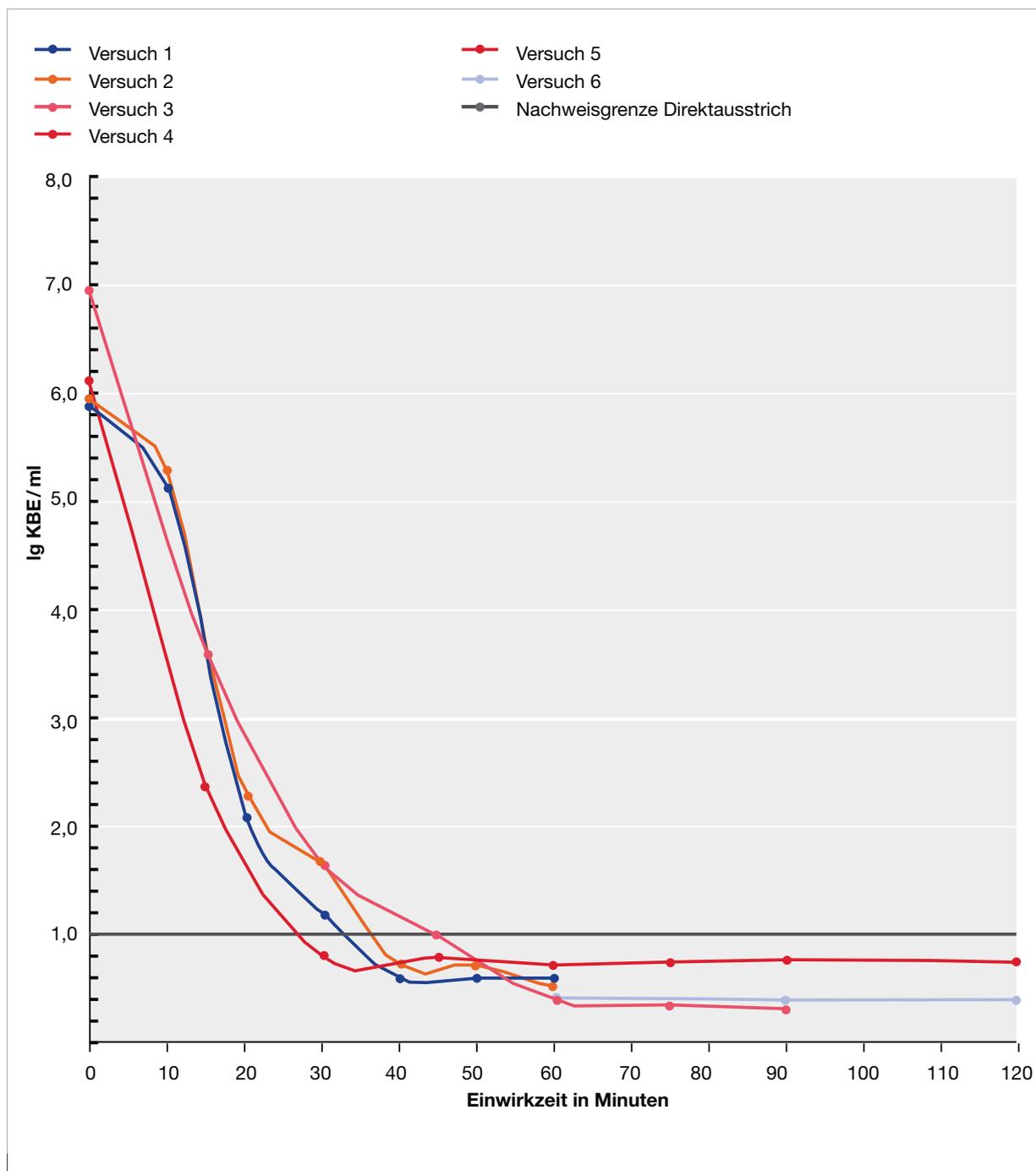


Abb. 34: Wirkung von Fixationsmittel für die EM (10 % FA + 0,05 % GA) auf *B. anthracis*-Sporen in Suspensionsversuchen bei 20 °C

Jedoch in allen Versuchen überlebten Sporen (24 x bei 30, 7 x bei 60 und 2 x bei 120 Minuten). Nach einer Einwirkzeit von über einer Stunde gelang die Reaktivierung nur über Anreicherung ($< 10^3$ überlebende Sporen/ml Fixans). Im Ergebnis unserer Untersuchungen musste festgestellt werden, dass Milzbrandsporen ($>10^8$ /ml) mittels Fixationsmittel bei einer Einwirkzeit von zwei Stunden nicht sicher abzutöten waren. Auch nach Erhöhung des Glutaraldehydgehaltes von 0,05 auf ein Prozent überlebten Milzbrand- und *B. cereus*-Sporen über sechzig Minuten.

Mit Formaldehyd war es somit bei Raumtemperatur nicht möglich, eine sichere Abtötung von *Bacillus*-Sporen, bei praktikablen Konzentrationen und Einwirkzeiten, zu erzielen. Für BT-Proben mit hohen Sporenkonzentrationen sind daher geeignetere Inaktivierungsverfahren erforderlich. Ein Erhitzen des Fixationsmittels auf 65 °C tötete *B. cereus*-Sporen ebenfalls nicht sicher ab. Von 10^9 Sporen/ml Fixans überlebten bis 10^3 Sporen eine EWZ von 70 Minuten. Sogar bei 70 °C konnten überlebende Milzbrandsporen nach 20, 30 und sogar 40 Minuten rekultiviert werden.

Auch nach Erhöhung des Glutaraldehydgehaltes auf ein Prozent überlebten *B. anthracis*-Sporen ($< 10^3$ /ml Fixans) für 30 Minuten bei 65 °C. Literaturhinweise über eine wesentlich schnellere Wirkung von Formaldehyd bei höheren Temperaturen auf *B. anthracis*-Sporen konnten nicht bestätigt werden. In zehn Prozent FA überlebten Anthrax-Sporen vier Stunden bei 20 °C und bei 40 °C noch 45 Minuten. Da bei der Flächendesinfektion noch ungünstigere Ergebnisse zu erwarten sind, wurde als Alternative die Eignung der PES für die Desinfektion von mit *B. anthracis* kontaminierten Oberflächen getestet.

Peressigsäure

Die vorliegenden Ergebnisse vor allem der Suspensionsversuche bestätigen die ausgezeichnete sporizide Wirkung der PES innerhalb vertretbarer Zeiten mit praxisgerechten Konzentrationen. Für die Flächendesinfektion empfiehlt das RKI eine einprozentige PES und eine EWZ von dreißig Minuten. In Suspensionsversuchen wurden *B. anthracis*-Sporen von einer einprozentigen wässrigen PES-Lösung in weniger als zwei Minuten und von einer 0,5-prozentigen wässrigen PES-Lösung (Abb.35) und einer 0,1-prozentigen alkoholischen PES-Lösung (Abb. 36) in drei Minuten bei allen Versuchsansätzen abgetötet.

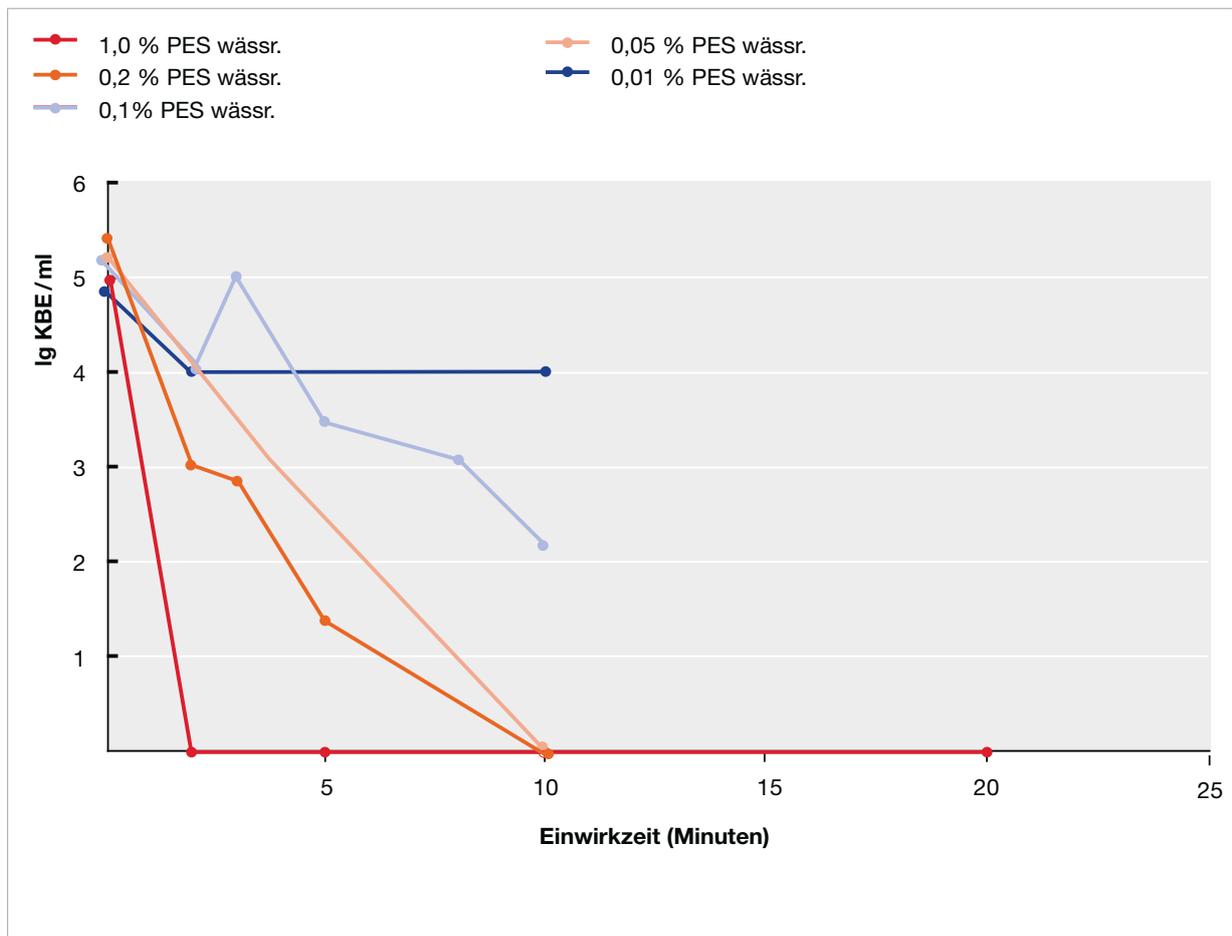


Abb. 35: Wirksamkeit von PES in wässrigen Lösungen auf Milzbrandsporen in Abhängigkeit von Konzentration und Einwirkzeit im Suspensionsversuch

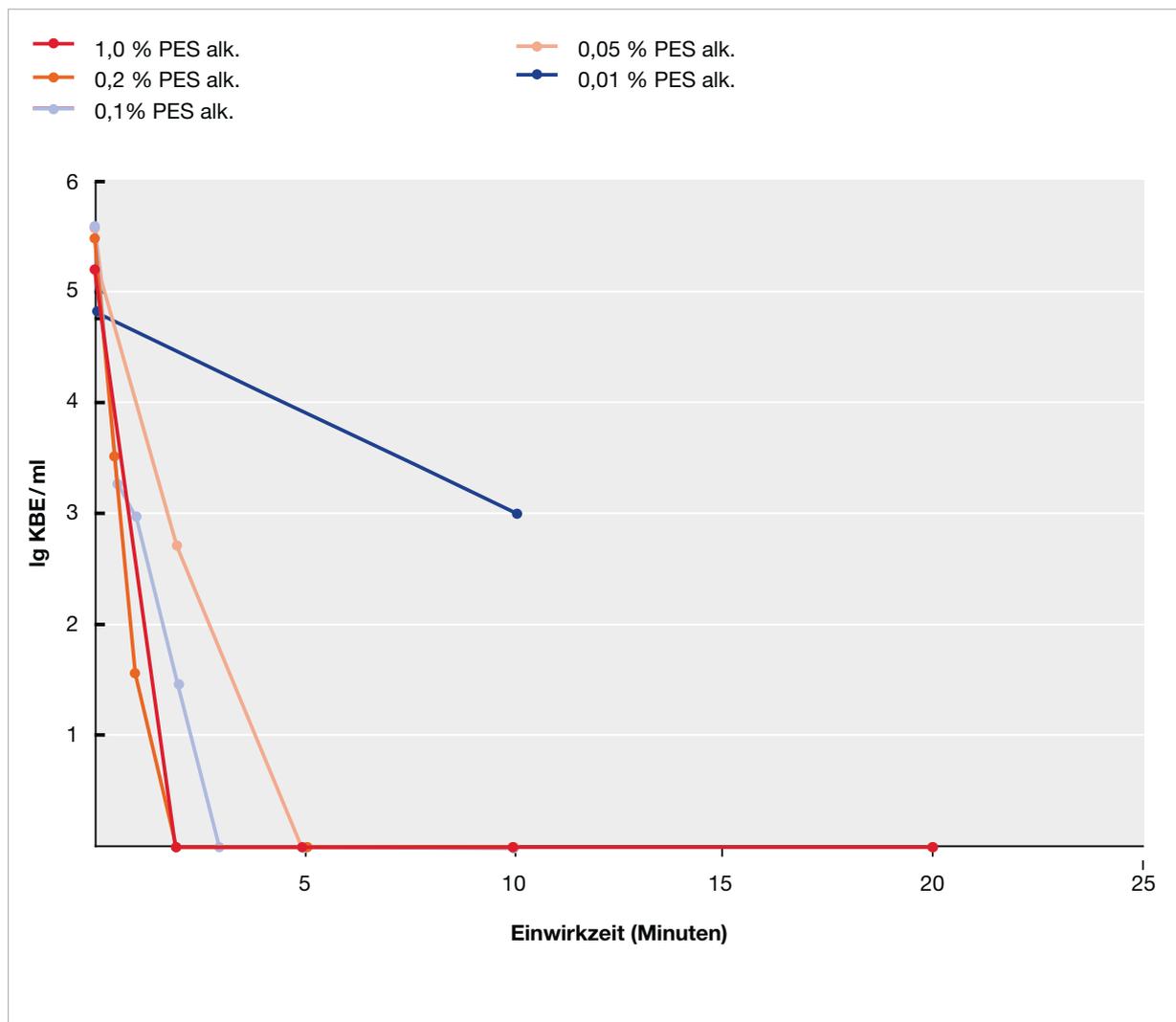


Abb. 36: Wirksamkeit von PES in alkoholischen Lösungen auf Milzbrandsporen in Abhängigkeit von Konzentration und Einwirkzeit im Suspensionsversuch

PES-Lösung	Abtötungszeit (Minuten)	Reduktion der Sporenzahl
alkoholische PES-Lösung		
0,1 %	3 min	> 3
0,2 %	2 min	> 5
wässrige PES-Lösung		
0,1 %	> 30 min	1
0,2 %	10 min	2

Weitere orientierende Ergebnisse sind bei Nattermann et al. (2005) zu entnehmen.

Tab. 15: Eine Lösung der PES in 80 Prozent Ethanol verkürzte die Abtötungszeit und beschleunigte die Reduktion des Ethanols

Bei den Keimträgerversuchen, die praktische Bedingungen simulieren, überlebten Milzbrandsporen erwartungsgemäß eine Behandlung mit höheren PES-Konzentrationen.

Während in Suspensionsversuchen die Sporen von einer 0,5-prozentigen PES-Lösung nach drei Minuten abgetötet wurden, widerstanden sie auf 38 Prozent der getesteten Keimträger einer einprozentigen wässrigen PES-Lösung 15 Minuten. Selbst eine 30-minütige Einwirkzeit überlebten einzelne Sporen noch auf 14 Prozent der Keimträger. Nach einer 30-minütigen Behandlung mit einer einprozentigen alkoholischen PES-Lösung konnte von keinem Keimträger *B. anthracis* rekultiviert werden. Bereits eine 0,6-prozentige alkoholische PES-Lösung tötete nach 5 Minuten Milzbrandsporen auf allen getesteten Keimträgern ab. Allerdings ließ sich von je einem der Keimträger, die mit 0,6-prozentiger alkoholischer PES-Lösung 15 und sogar 30 Minuten behandelt waren, *B. anthracis* anzüchten (Abb. 37).

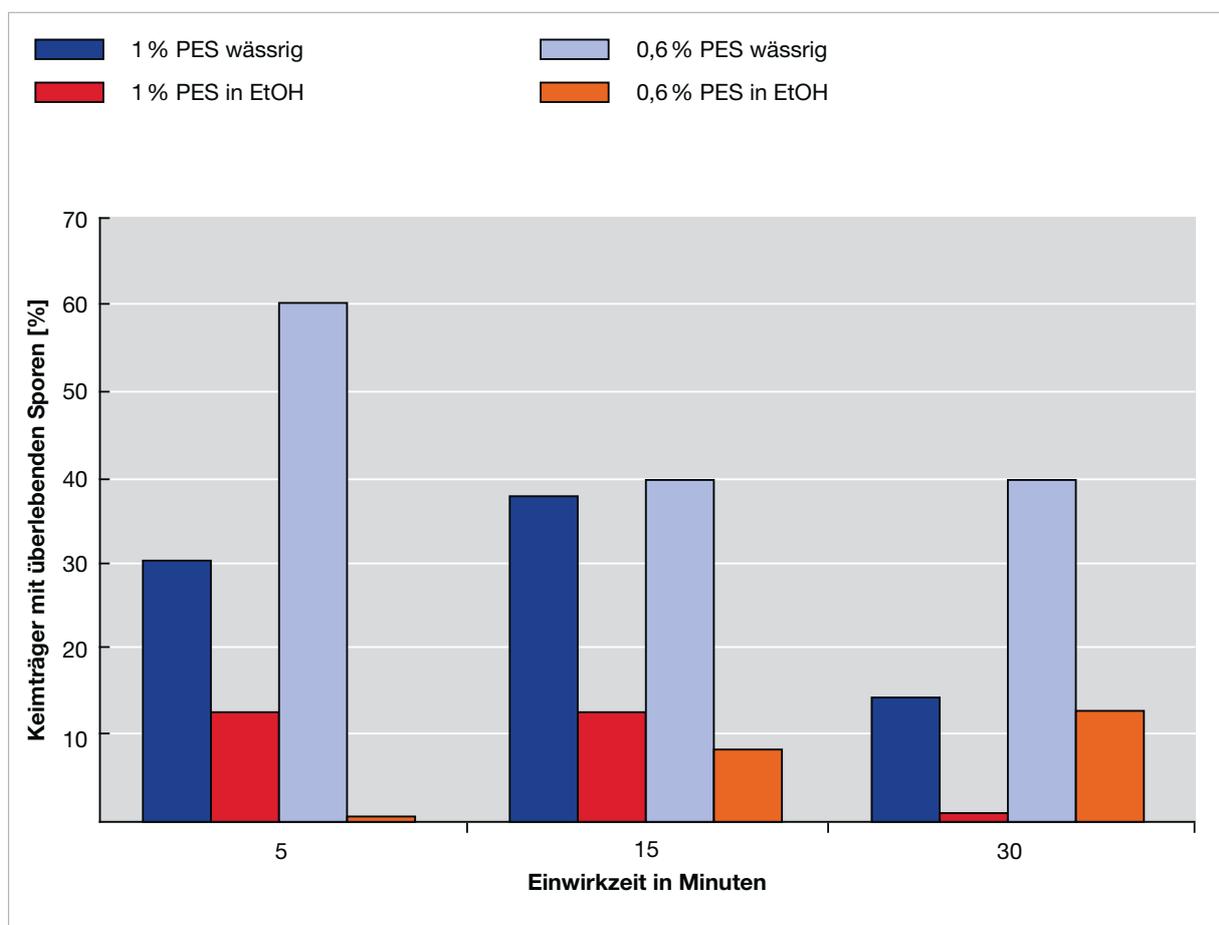


Abb. 37: Wirksamkeit von wässrigen und alkoholischen PES-Lösung auf *B. anthracis*-Sporen im Keimträgerversuch

Die Zahl der überlebenden Sporen war jedoch nur gering. Von den drei Möglichkeiten zum Nachweis nicht abgetöteter Sporen (Direktausstrich, TSB- und LB-Anreicherungen) gelang die Kultivierung nur jeweils bei einem Nachweisverfahren. In zwei Fällen konnte sogar *B. anthracis* nur jeweils als eine Kolonie bei einer der Doppelbestimmungen im Direktausstrich nachgewiesen werden. Die Anreicherungen blieben unbewachsen. Daraus kann geschlossen werden, dass nur eine Spore überlebt hatte. Dies und die nach Behandlung mit der 0,6-prozentigen alkoholischen PES-Lösung ermittelten wenigen Keimträger mit nur einzelnen überlebenden Sporen bei einer Nachweisgrenze von $>1/100 \mu\text{l}$ Trypton-Soja-Bouillon und Neutralisationsmedium, erklären die unerwarteten Ergebnisse, dass bei längerer Einwirkung des Desinfektionsmittels scheinbar häufiger Sporen überlebten.

Die verbesserte sporizide Wirkung der alkoholischen Lösung der PES kann durch Zugabe weiterer Substanzen noch gesteigert werden. Dies muss in weiteren praxisnahen Versuchen noch exakt geprüft werden. Bei den notwendigen Prüfverfahren gilt es weitere mögliche Einflussfaktoren wie Wirkstoffzehrung oder Schutzsubstanzen für die Sporen (z. B. Silicagel) zu beachten. Auch kann die Ausgangskeimzahl das Ergebnis der Desinfektion beeinträchtigen. So konnten in orientierenden Untersuchungen nach Erhöhung der Ausgangssporenkonzentration um nur eine log-Stufe nach Behandlung mit einer 0,6-prozentigen alkoholischen PES-Lösung häufiger *B. anthracis* rekultiviert werden. Aus diesen Gründen sollte bei der Desinfektion von hoch pathogenen Erregern ein Sicherheitsfaktor (u. a. längere Einwirkzeit, höhere Konzentration) vorgesehen werden.

Zur Erhöhung der Sicherheit beim Umgang mit Bakterien der Risikogruppe 3 sind weitere Desinfektionsverfahren auf ihre Anwendbarkeit bei dieser Erregergruppe zu testen. So soll u. a. die Wirksamkeit von Aerosol desinfektionsverfahren mit PES auf Milzbrandsporen geprüft werden. In orientierenden Experimenten wurde die Wirksamkeit von PES-Aerosol im Wofasteril®-Kombiverfahren auf *Bacillus spp.* (20 ml/m^3 , zweiprozentige PES, 30 min EWZ) untersucht. Die Sporenzahl von *Bacillus spp.* konnte im Keimträgerversuch um eine bis vier log-Stufen reduziert werden. Auf Nährmedienplatte ließen sich 10^6 Sporen vollständig inaktivieren. Sporenlose Bakterien waren nach 15 Minuten bereits inaktiviert.

Auch in einem Laborversuch war die Wirksamkeit von PES-Aerosolen im Wofasteril®-Kombiverfahren auf *Bacillus spp.* (40 ml/m^3 , dreiprozentige PES) nachzuweisen. Nach 30 Minuten wurde bereits eine Reduktion der Sporenzahl um 4 log-Stufen ermittelt. Nach 18 Stunden waren *Bacillus subtilis* (10^6 /Keimträger) und *B. anthracis* (10^5 /Keimträger) abgetötet.

Schlussfolgerungen

- Formaldehyd (zehn Prozent) tötet Milzbrandsporen bei praktikablen Konzentrationen und Einwirkzeiten nicht sicher ab.
- Peressigsäure besitzt eine ausgezeichnete sporizide Wirkung bei vertretbaren Einwirkzeiten mit praxisgerechten Konzentrationen.
- Einprozentige PES-Lösung (68 ml/m^2) überlebten Milzbrandsporen über 30 Minuten in 2 von 14 Keimträgern in geringer Zahl.
- Alkoholische PES-Lösungen sollten in praxisnahen Prüfverfahren weiter getestet werden (Wirkstoffzehrung, Schutzsubstanzen, Sporenzahlen, beschleunigte Zersetzung der PES im Alkohol).

Literaturhinweise

[1] Chemisches Desinfektionsmittel und Antiseptika – Sporizide Wirkung (Basistest) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1, Stufe 1); Deutsche Fassung EN 14347:2004.

[2] Bekanntmachung des Bundesgesundheitsamtes (1994) Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes zur Prüfung der Wirksamkeit von Flächendesinfektionsmitteln für die Desinfektion bei Tuberkulose. Bundesgesundheitsblatt 37: 274–275.

[3] Empfehlungen des Robert Koch-Instituts: Vorgehensweise bei Verdacht auf Kontamination mit gefährlichen Erregern (z. B. Verdacht auf bioterroristischen Anschlag: Stand 14.06.2002.

[4] WHO, EMC, ZDI/98.6 PCb Turnbull: Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Human and Animals 3rd edition.

[5] NATTERMANN, H., BECKER, S., JACOB, D., KLEE, S. R., SCHWEBKE, I., APPEL, B. 2005: Effiziente Abtötung von Milzbrandsporen durch wässrige und alkoholische Peressigsäure-Lösungen. Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz. 48 (8): 939-950.

[6] PETERS, J., UND SPICHER, G. 1988: „Zur Eignung von Natriumhypochlorit und Chloramin T für die Flächendesinfektion“. Bundesgesundheitsbl. 31 Nr. 9: 330-335.

[7] SAGRIPANTI, J. L., BONIFACINO, A. 1996: „Comperative Sporicidal Effekts of Liquid Chemical Agents“. Appl. Environ. Microbiol. Feb. 1996, 545-551.

[8] WHO, SEA-HLM-371: Manual for Laboratory Diagnosis of Anthrax, World Health Organisation 2003