



# Epidemiologisches Bulletin

20. September 2018 / Nr. 38

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

## Ist die Wirksamkeit von alkoholischen Händedesinfektionsmitteln bei Enterokokken wirklich in Gefahr?

Im August 2018 sorgte eine in *Science Translational Medicine* publizierte Studie von Pidot et al.<sup>1</sup> für ein erhebliches Medienecho.<sup>2,3</sup> Die Autoren untersuchten die Alkoholtoleranz bei Enterokokken, insbesondere bei den klinisch sehr relevanten Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE).<sup>1</sup> Bei der Suche nach Ursachen für die hohe Prävalenz von VRE-Infektionen in Australien stellten sie die Hypothese auf, dass die Entwicklung alkoholtoleranterer Isolate durch die Einführung alkoholbasierter Händedesinfektionsmittel im Jahr 2002 und den damit verbundenen erhöhten Alkoholstress bedingt sei. Aus ihren Studienergebnissen leiteten sie ab, dass tolerantere VRE-Stämme die Sicherheit der Standardhändehygiene potenziell gefährdeten. Die Bewertung in den Medien und die daraus resultierende Verunsicherung auch in Fachkreisen haben uns dazu veranlasst, die Untersuchungen von Pidot et al. bezüglich ihrer Relevanz für die Wirksamkeit von Händedesinfektionsmitteln gegen Enterokokken zu diskutieren. Es stellt sich die Frage, ob die dargestellten Ergebnisse Lücken in den europäischen Wirksamkeitsnachweisen aufzeigen und tatsächlich eine reale Gefahr für die Wirksamkeit von Händedesinfektionsmitteln begründen können. Deshalb soll im Folgenden die Studie von Pidot et al. im Kontext zu deutschen bzw. europäischen Wirksamkeitsnachweisen für Händedesinfektionsmittel erläutert werden.

### Wirksamkeitsnachweise für Händedesinfektionsmittel

In Deutschland (und ähnlich auch in Europa) wird die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln mit validierten Suspensions- und praxisnahen Tests nachgewiesen. Als Grundlage dienen die europäischen Normen sowie Prüfmethode des Verbundes für Angewandte Hygiene (VAH). Im Suspensionsversuch werden definierte Stämme vorgeschriebener Spezies einbezogen, die in Tabelle 1

Europäische Prüfmethode	Untersuchungen von Pidot et al. 2018 <sup>1</sup>
<b>Suspensionsversuch</b> gemäß DIN EN 13727 <sup>4</sup> und DIN EN 13624 <sup>5</sup> bzw. VAH-Methode 9 <sup>6</sup>  Testorganismen: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Escherichia coli</i> K12, <i>Candida albicans</i>  Testbedingungen: drei Konzentrationen, Einwirkzeit: 15, 30 und 60 s	<b>Suspensionsversuch</b> nicht näher beschrieben  Testorganismen: <i>Enterococcus faecium</i> (139 klinische Isolate)  Testbedingungen: Konzentration 23 % und 70 % Isopropanol, Einwirkzeit: 5 min
<b>Praxisnaher Versuch</b> gemäß DIN EN 1500 <sup>7</sup> mit 21 Probanden und statistischer Auswertung ( <i>E. coli</i> K12) bzw. VAH-Methode 11 <sup>6</sup>	<b>Tierversuch</b> Tierversuch zur Infektion von Mäusen über kontaminierte und anschließend – desinfizierte Flächen (Isopropanol 70%)
	<b>Grundlagenforschung</b> Molekularbiologische Untersuchung zu Genloci, denen eine mögliche Rolle in der Alkoholtoleranz zugeordnet wurde.

Tab. 1: Übersicht über europäische Prüfmethode und Gegenüberstellung mit den Untersuchungen von Pidot et al.

Diese Woche 38/2018

Ist die Wirksamkeit von alkoholischen Händedesinfektionsmitteln bei Enterokokken wirklich in Gefahr?

Überregionale Häufung von *Burkholderia-cepacia*-complex-Nachweisen bei Intensivpatienten

Generalversammlung der Vereinten Nationen: High Level Meeting zu Tuberkulose

Ausschreibung für die EPIET- und EUPHEM-Kohorte 2019

Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten 35. Woche 2018



dargestellt sind. Nach dem Wirksamkeitsnachweis im Suspensionsversuch muss zusätzlich ein praxisnaher Test mit Probanden, deren Hände mit einem apathogenen *E. coli*-Stamm kontaminiert wurden, durchgeführt werden. Ein Händedesinfektionsmittel gilt dann als wirksam, wenn es keine geringere Reduktion als das Referenzprodukt – 60%iges Isopropanol, zweimal 30 Sekunden angewendet – erzielt.

### Untersuchungen der Gruppe um Pidot im Vergleich zu europäischen Anforderungen

Basierend auf ihrer Hypothese wählten die Autoren unterschiedliche Versuchsanordnungen von klassischer Mikrobiologie bis hin zu anspruchsvollen bioinformatischen und molekularbiologischen Untersuchungen. Sie untersuchten 139 Enterokokken-Isolate von Patienten aus zwei Krankenhäusern in Melbourne, die zwischen 1997 und 2015 gewonnen wurden. Diese Isolate wurden drei definierten Zeiträumen zugeordnet, für die jeweils eine unterschiedliche Zahl von Isolaten vorhanden war.

#### a) Suspensionsversuche

Als erstes führten Pidot et al. Suspensionstests nach einem internen, nicht näher beschriebenen Protokoll durch. Die Ermittlung der Zahl der überlebenden Bakterien nach Alkoholeinwirkung erfolgte hierbei nach Methoden, die nicht den europäischen Normen entsprechen. Damit ist fraglich, ob das Desinfektionsmittel nach der Einwirkung ausreichend neutralisiert wurde<sup>8</sup>, was als wesentliche Anforderung der europäischen Prüfmethode gilt. Ungewöhnlich hoch im Verhältnis zu europäischen Normen erscheint auch die Nachweisgrenze für überlebende Bakterien.

Pidot et al. stellten mit diesen Tests fest, dass mit der üblichen Gebrauchskonzentration von 70% Isopropanol alle Enterokokken-Isolate im Suspensionsversuch verlässlich abgetötet werden. Um Unterschiede zwischen den Isolaten quantifizieren zu können, setzten die Verfasser eine Isopropanol-Konzentration von 23% ein. Mit der Bestätigung der wirksamen Konzentration und der Abgrenzung des unwirksamen Bereiches im Suspensionsversuch wären die europäischen Norm-Anforderungen erfüllt. Eine weitere Differenzierung im Grenzbereich der Wirksamkeit, wie von Pidot et al.<sup>1</sup> vorgenommen, wäre von Interesse für die Grundlagenforschung, jedoch nicht von infektionshygienischer Relevanz.

Grundsätzlich eignen sich Suspensionsversuche nach validierten Methoden aufgrund der geringen Zahl von Einflussfaktoren gut, um Unterschiede in der Wirksamkeit festzustellen. Ihre Ergebnisse lassen jedoch meist keine praktische Anwendungsempfehlung zu, da Bedingungen wie in der homogenen Suspension in der Praxis, z. B. bei der Händedesinfektion, selten vorliegen. In ihren Suspensionsversuchen konnten die Autoren Unterschiede in der Alkoholtoleranz in einem Konzentrationsbereich zeigen, der weit unterhalb der üblichen Anwendungskonzentrationen liegt. Hieraus kann aber keine Aussage über die Wirk-

samkeit der wesentlich höher konzentrierten alkoholischen Händedesinfektionsmittel in der Praxis abgeleitet werden.

#### b) Tiermodell

Zusätzlich zu den Suspensionsversuchen entwickelten die Autoren ein komplexes Tiermodell. Hier wurden mit Antibiotika vorbehandelte Mäuse in Käfige gesetzt, die vorher jeweils mit unterschiedlich toleranten *E. faecium*-Isolaten kontaminiert worden waren. Bevor die Mäuse in die Käfige gesetzt wurden, wurden die Käfigoberflächen mit Filterpapierstückchen, die 70%iges Isopropanol enthielten, gewischt. Die Zahl der im Anschluss kolonisierten Mäuse (Untersuchung der Faeces auf das jeweilige zur Kontamination verwendete *E. faecium*-Isolat) galt als indirektes Maß für die Fähigkeit der Isolate, die Wischdesinfektion zu überleben. Der hier beschriebene Flächentest wurde somit mit einem Tierversuch zur Kolonisationsfähigkeit der Isolate verknüpft.

Je komplexer ein Test gestaltet wird, desto schwieriger ist es, ein gefundenes Ergebnis einer einzelnen Ursache eindeutig zuzuordnen. Der Einsatz von Tieren ist streng reguliert und lässt nur eine geringe Stichprobengröße zu, was sich wiederum auf die statistische Aussagekraft auswirkt. Bei jeweils sechs Mäusen wurde eine erhöhte Kolonisationsrate durch die toleranteren Isolate beobachtet. Pidot et al. diskutierten als mögliche Ursache die höhere Beständigkeit der Isolate gegen Isopropanol. Betrachtet man die Zahlen der Bakterien auf den Käfigflächen, unterscheiden sich die Zahlen der als „tolerant“ eingestuften Isolate (9–33 Koloniebildende Einheiten [KBE]/cm<sup>2</sup>) von den als „nicht tolerant“ eingestuften Isolaten (0–1 KBE/cm<sup>2</sup>) jeweils um nur eine Zehnerpotenz. Obwohl in den Käfigen mit den als „nicht tolerant“ eingestuften Isolaten zum Teil weniger als 1 KBE/cm<sup>2</sup> nachgewiesen wurde, wurde in den einzelnen Tests bei bis zu vier der insgesamt sechs Mäuse eine Kolonisierung beobachtet. Da selbst minimale Bakterienzahlen der „nicht toleranten“ Isolate noch zu einer Kolonisierung führen, ist es fraglich, ob mit diesen geringfügigen Unterschieden in der Zahl der überlebenden Bakterien (nahe der Nachweisgrenze) und der kolonisierten Mäuse die Hypothese der Autoren gestützt werden kann.

Weiterhin liegt das eingesetzte Isopropanol-Volumen, das zur Wischdesinfektion des Käfigbodens aufgebracht wurde, deutlich unter dem im europäischen 4-Felder-Test<sup>9</sup> vorgesehenen zu testenden Volumen. Werden wie hier angewendet nur sehr geringe Desinfektionsmittelvolumina aufgebracht, so ist nicht zu erwarten, dass alle Bakterien ausreichend in dem Mittel emulgiert und dadurch abgetötet werden. Dies gilt insbesondere bei flüchtigen Substanzen wie Alkoholen. Diese Abhängigkeit der Wirksamkeit von der Menge des Desinfektionsmittels bei der Flächen- wie auch bei der Händedesinfektion wurde bereits in einer Vielzahl von Untersuchungen gezeigt.<sup>10,11,12</sup>

In Europa stehen zur Flächendesinfektion zwei in Ringversuchen erprobte praxisnahe Tests zur Verfügung, die

ohne Tierversuche erfolgen: EN 16615<sup>9</sup> und EN 13697<sup>13</sup>. Europäische Prüfmethode müssen anwendungsbezogen eingesetzt werden, d. h. unterschiedliche Tests sind für Flächen- oder Händedesinfektionsmittel vorgesehen, da sich unbelebte Flächen von menschlicher Haut unterscheiden. **Danach wäre es nicht zulässig mit einem Flächentest Aussagen zur Wirksamkeit von Händedesinfektionsmitteln zu machen.**

### c) molekularbiologische und bioinformatische Untersuchungen

Die genetische Basis einer Toleranzentwicklung von Enterokokken wurde bioinformatisch und molekularbiologisch untersucht, konnte aber nicht abschließend aufgeklärt werden. Über einen aufwendigen bioinformatischen Vergleich von 129 *E.-faecium*-Isolaten, die ein ähnliches Kerngenom, aber unterschiedliche Toleranzeigenschaften aufwiesen, identifizierten die Autoren drei Loci, die möglicherweise eine Rolle in der Toleranz gegenüber alkoholischen Lösungen spielen könnten.

Hierbei handelte es sich erstens um zwei Varianten einer Punktmutation in dem Gen für die RNA-Polymerase Untereinheit B (*rpoB*), zweitens um eine Punktmutation in einem Galactosidsymporter-kodierenden Gen sowie drittens um eine Region, die regulatorische Elemente der Zellhülle kodiert.

Ausgehend von diesen Genloci wurden in dem als besonders tolerant eingestuften Isolat *E. faecium* ST796 drei Mutanten hergestellt. Untersucht wurde eine der beiden Punktmutationen der RNA-Polymerase-Untereinheit und Deletionen größerer Bereiche der beiden anderen Genloci. Diese drei Mutanten zeigten in Wachstumsversuchen ein generell verringertes Wachstum bei 3 % (v/v) Isopropanol.

Durch die ausgedehnten Deletionen können ggf. polare Effekte in der Transkription oder ein genereller Effekt auf die Integrität der Zellumhüllung und ein damit einhergehender genereller Effekt auf die bakterielle Fitness nicht ausgeschlossen werden. Da die RNA-Polymerase im Zellstoffwechsel eine zentrale Rolle einnimmt, kann auch hier eine Punktmutation bereits einen erheblichen Effekt auf den gesamten Metabolismus haben.

Die Arbeitsgruppe schlussfolgerte, dass die einzelnen Genloci nicht für eine Toleranz gegenüber alkoholischen Lösungen verantwortlich sind, sondern dass dieses Phänomen auf mehreren Faktoren beruhen muss.

Der in diesen Untersuchungen eingesetzte besonders tolerante Stamm *E. faecium* ST796 wurde erstmals 2010 nachgewiesen und macht im letzten der von Pidot et al. untersuchten Zeiträume (2010–2015) 15 von insgesamt 70 untersuchten Isolaten aus. Ein anderer *E.-faecium*-Stamm, ST17, ist über den gesamten Untersuchungszeitraum nachweisbar, wobei tolerantere und weniger tolerante Isolate in allen Zeitabschnitten zu finden sind. Die Signifikanz der

Zunahme der Toleranz nach 2010 wäre infolge der unterschiedlichen Zusammensetzung und Größe der Stichproben fraglich. Unstrittig ist jedoch die weite Verbreitung des Stammes *E. faecium* ST796 in den beiden Krankenhäusern seit 2010. Interessanterweise wurde kürzlich über das Auftreten eines genetisch nah verwandten Stammes in der Schweiz berichtet.<sup>14,15</sup> Das Auftreten von neuen Epidemiestämmen und Zurückdrängen von etablierten Varianten ist bei Infektionserregern ein lange bekanntes Phänomen. Ob die hier identifizierten genetischen Veränderungen über die Zeit zur erfolgreichen Verbreitung dieser neuen Stammvarianten beitragen bleibt zu weiten Teilen hypothetisch.

### Fazit

Mit den unter a bis c beschriebenen komplexen Untersuchungen (s. oben) versuchten die Autoren Hinweise dafür zu liefern, dass die Entwicklung von VRE mit erhöhter Alkoholtoleranz mit dem Einsatz alkoholischer Händedesinfektionsmittel assoziiert sei. Die von den Autoren in Suspensionsversuchen ermittelten Ergebnisse zeigen, dass die 139 untersuchten Isolate aus zwei Krankenhäusern einer Stadt bei geringen Isopropanol-Konzentrationen (d. h. weit unter Gebrauchskonzentrationen) Unterschiede in der Empfindlichkeit aufweisen. Derartige Varianzen in der Toleranz von Enterokokken gegenüber verschiedenen Wirkstoffen auch Alkoholen, sind spätestens seit den 90er Jahren bekannt.<sup>16</sup> Ob es sich hier tatsächlich um eine langfristige und fortlaufende Änderung der Toleranz in endemischen Enterokokken-Stämmen handelt oder ob ein sehr virulenter Stamm ggf. auch eine höhere Toleranz besitzt, wird nicht schlüssig dargelegt. Der mit einem Tierversuch verbundene Flächentest eignet sich durch die beschriebenen Einflussfaktoren nicht als Beleg der Hypothese. Auch die molekularbiologischen Untersuchungen tragen zur Bewertung der Ergebnisse nicht wesentlich bei.

Die vorgelegten Ergebnisse geben keinen Anlass an der Wirksamkeit geprüfter Händedesinfektionsmittel bei korrekter Anwendung zu zweifeln. Unsere Einschätzung steht im Einklang mit der des Begründers der Kampagne der [Weltgesundheitsorganisation](#) „Saubere Hände“ (*Clean your hands*), Didier Pittet. Er zitiert die bereits 2016 ohne Peer Review-Verfahren auf einer Online-Plattform publizierte Version dieser Studie mit dem Hinweis: “However, it is easy to see how the media could misunderstand or mishandle information like this to create alarmist headlines that could undermine belief in the effectiveness of ABHR (alcohol based handrub).”<sup>17</sup> Die Vermittlung der Diskrepanz zwischen dem *One-Sentence-Abstract* und den tatsächlichen Inhalten der Studie ist hier von fundamentaler Bedeutung sowohl für die Händehygiene als Grundlage der öffentlichen Gesundheit und Infektionsprävention als auch für das Ansehen von wissenschaftlichen Veröffentlichungen als Informationsquelle.

**Literatur:**

1. Pidot SJ et al.: Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to handwash alcohols. *Transl. Med.*; 10: eaar6115 (2018). 1. August 2018
  2. Davis N: bacteria-becoming-resistant-to-hospital-disinfectants-warn-scientists. <https://www.theguardian.com/society/2018/aug/01/bacteria-becoming-resistant-to-hospital-disinfectants-warn-scientists>
  3. DÄB (Autor nicht angegeben): Klinikkeim entwickelt Toleranz auf Desinfektionsmittel <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/96864/Klinikkeim-entwickelt-Toleranz-auf-Desinfektionsmittel>. 02.08.2018
  4. DIN EN 13727:2015-12: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1); Deutsche Fassung EN 13727:2012+A2:2015 Beuth, Berlin
  5. DIN EN 13624:2013-12: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden oder levuroziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1); Deutsche Fassung EN 13624:2013. Beuth, Berlin
  6. Desinfektionsmittel-Kommission im VAH (Hrsg): Anforderungen und Methoden zur VAH-Zertifizierung chemischer Desinfektionsverfahren. Stand: 02.04.2015, Loseblattsammlung. mhp-Verlag, Wiesbaden 2015
  7. DIN EN 1500:2013-07: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Hygienische Händedesinfektion – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2/Stufe 2); Deutsche Fassung EN 1500:2013
  8. Peters J: Zum Einsatz des Spiral Platers bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Mykobakterien. *Hygiene & Medizin* 1994; 18: 19–25
  9. DIN EN 16615: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitatives Prüfverfahren zur Bestimmung der bakteriziden und levuroziden Wirkung auf nicht-porösen Oberflächen mit mechanischer Einwirkung mit Hilfe von Tüchern im humanmedizinischen Bereich (4-Felder-Test) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2); Deutsche Fassung EN 16615:2015 Ausgabe 2015-06
  10. Spicher G, Peters J: Abhängigkeit der mikrobiologischen Befunde der Wirksamkeitsprüfung von Flächendesinfektionsmitteln von den Prüfbedingungen. *Hygiene & Medizin* 1997; 22: 123–140
  11. Sickbert-Bennett EE1, Weber DJ, Gergen-Teague MF, Rutala WA: The effects of test variables on the efficacy of hand hygiene agents. *Am J Infect Control.* 2004; 32(2):69–83
  12. Macinga DR1, Shumaker DJ, Werner HP, Edmonds SL, Leslie RA, Parker AE, Arbogast: The relative influences of product volume, delivery format and alcohol concentration on dry-time and efficacy of alcohol-based hand rubs. *BMC Infect Dis.* 2014 Sep 20; 14: 511. doi: 10.1186/1471-2334-14-511.
  13. DIN EN 13697: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Oberflächen-Versuch nicht poröser Oberflächen zur Bestimmung der bakteriziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen – Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung (Phase 2, Stufe 2); Deutsche Fassung EN 13697:2015 Ausgabe 2015-06
  14. Wassilew Nasstasja, Seth-Smith Helena MB, Rolli Eveline, Fietze Yvonne, Casanova Carlo, Führer Urs, Egli Adrian, Marschall Jonas, Buetti Niccolò: Outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* clone ST796, Switzerland, December 2017 to April 2018. *Euro Surveill.* 2018;23(29):pii=1800351. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.29.1800351>
  15. Liechtensteiner Volksblatt (Autor nicht angegeben): Multiresistenze in der Schweiz auf dem Vormarsch. *Liechtensteiner Volksblatt* 09.08.2018:24
  16. Bradley CR, Fraise AP: Heat and chemical resistance of enterococci. *J Hosp Infect* 1996; 34:191–196
  17. Peters A, Tartari E, Lotfinejad N, Parneix P, Pittet D: Fighting the Good Fight: the fallout of fake news in infection prevention and why context matters, *Journal of Hospital Infection* 2018; doi: 10.1016/j.jhin.2018.08.001
- 
- \*\*Dr. Ingeborg Schwebke | \*\*Prof. Dr. Mardjan Arvand |  
 \*Prof. Dr. Guido Werner | \*\*Katharina Konrat | \*\*Melanie Brunke  
 Robert Koch-Institut | Abteilung für Infektionskrankheiten |  
 \* FG 13 Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen  
 \*\* FG 14 Angewandte Infektions- und Krankenhaushygiene  
 Korrespondenz: [SchwebkeI@rki.de](mailto:SchwebkeI@rki.de)
- Vorgeschlagene Zitierweise:  
 Schwebke I, Arvand M, Werner G, Konrat K, Brunke M: Ist die Wirksamkeit von alkoholischen Händedesinfektionsmitteln bei Enterokokken wirklich in Gefahr?  
*Epid Bull* 2018;38:415–418 | DOI 10.17886/EpiBull-2018-047