

**Aus dem Institut für Tier- und Umwelthygiene
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

und

**dem Institut für Epidemiologie
des Friedrich-Loeffler-Instituts**

**Inaktivierung von Viren auf Holzoberflächen in der
landwirtschaftlichen Tierhaltung: Effektivität chemischer
Desinfektionsmittel sowie Langzeitbeobachtungen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

Martin Jörg Oettler

Tierarzt

aus Greiz

Berlin 2024

Journal-Nr.: 4447

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler

Zweiter Gutachter: PD Dr. Nicolai Denzin

Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Uwe Truyen

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): animal husbandry, viruses, disinfectants,
disinfection, wood, surfaces

Tag der Promotion: 10.05.2024

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht.....	3
2.1	Reinigung und Desinfektion im landwirtschaftlichen Nutztierstall.....	3
2.1.1	Rechtliche Grundlagen.....	3
2.1.1.1	Recht der Europäischen Union.....	3
2.1.1.2	Nationales Recht.....	3
2.1.2	Durchführung der Reinigung und Desinfektion	4
2.1.2.1	Reinigung.....	4
2.1.2.2	Prophylaktische Desinfektion	5
2.1.2.3	Desinfektion im Tierseuchenfall.....	6
2.1.3	Reinigung und Desinfektion auf Holzoberflächen	7
2.2	Chemische Desinfektionsmittel	8
2.2.1	Allgemeine Anforderungen an ein Desinfektionsmittel.....	8
2.2.2	Zulassung von Desinfektionsmitteln	9
2.2.3	Viruzide Wirksamkeitsprüfungen auf Oberflächen der Tierhaltung	10
2.2.3.1	Allgemeines zur Wirksamkeitsprüfung.....	10
2.2.3.2	Prüfrichtlinie der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft	10
2.2.3.3	Prüfverfahren nach europäischen Normen	11
2.2.4	Untersuchte Wirkstoffgruppen	12
2.2.4.1	Peroxide (Peressigsäure).....	12
2.2.4.2	Organische Säuren (Ameisensäure)	13
2.2.4.3	Aldehyde (Glutaraldehyd).....	14
2.3	Holzoberflächen in der Tierhaltung.....	15
2.3.1	Holznutzung in der Landwirtschaft.....	15
2.3.2	Untersuchte Holzarten.....	15
2.3.2.1	Fichte	15
2.3.2.2	Kiefer	16

2.3.2.3	Pappel.....	17
2.3.2.4	Buche.....	18
2.3.2.5	Douglasie.....	19
2.4	Prüfviren.....	20
2.4.1	Generelle Anforderungen an Prüfviren.....	20
2.4.2	Untersuchte Prüfviren.....	20
2.4.2.1	Bovines Enterovirus E.....	20
2.4.2.2	Newcastle Disease Virus.....	21
3.	Material.....	24
3.1	Keimträger.....	24
3.2	Testviren.....	25
3.3	Zellkulturen.....	25
3.4	Nährmedien und Lösungen.....	26
3.5	Biozide Grundchemikalien.....	26
3.6	Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien.....	27
4.	Methoden.....	31
4.1	Allgemeiner Versuchsablauf.....	31
4.2	Versuchsvorbereitung.....	31
4.2.1	Zellkulturverfahren.....	31
4.2.2	Virusvermehrung.....	32
4.2.3	Herstellung von Wasser standardisierter Härte.....	33
4.2.4	Herstellung der Belastungssubstanz.....	33
4.3	Desinfektionsversuche auf Holzkeimträgern.....	34
4.3.1	Angewandte Prüfverfahren.....	34
4.3.2	Ablauf der Prüfverfahren.....	34
4.3.2.1	Autoklavieren.....	34
4.3.2.2	Beimpfung.....	35
4.3.2.3	Antrocknung.....	35
4.3.2.4	Desinfektion.....	35

4.3.2.5	Neutralisation und Desorption	36
4.3.2.6	Titration und Inkubation.....	36
4.3.2.7	Auswertung.....	37
4.3.2.8	Erweiterte Methoden	39
4.3.2.8.1	Reduktion der Zytotoxizität.....	39
4.3.2.8.2	Absenken der Nachweisgrenze.....	39
4.4	Langzeitbeobachtungen	40
4.5	Statistik und Darstellung.....	42
5.	Ergebnisse	43
5.1	Visualisierung des zytopathischen Effektes.....	43
5.2	Parameter des Versuchsablaufs	44
5.3	Desinfektionsversuche	46
5.3.1	Keimträgerversuche mit Peressigsäure bei 10 °C	46
5.3.2	Keimträgerversuche mit Ameisensäure bei 10 °C	48
5.3.3	Keimträgerversuche mit Glutaraldehyd bei 10 °C	50
5.3.4	Keimträgerversuche bei -10 °C	52
5.4	Langzeitbeobachtungen	55
6.	Diskussion.....	58
6.1	Desinfektionsversuche mit unbehüllten Viren	58
6.2	Desinfektionsversuche mit behüllten Viren	60
6.3	Desinfektionsversuche bei -10 °C.....	62
6.4	Langzeitbeobachtungen	63
6.5	Zusammenfassende Diskussion der bioziden Grundchemikalien	66
6.6	Zusammenfassende Diskussion der hölzernen Keimträger	68
7.	Zusammenfassung.....	72
8.	Summary.....	73
9.	Literaturverzeichnis	74
10.	Anhang	92

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verwendete Keimträger (v.l.n.r. Fichte, Kiefer, Pappel, Buche, Douglasie, Stahl)	25
Abbildung 2: Titrationsschema auf einer 96-Wellplatte	37
Abbildung 3: Native MDBK-Zellen	43
Abbildung 4: Beginnende Lyse der MDBK-Zellen nach Infektion mit EV-E	43
Abbildung 5: Vollständig lysierte MDBK-Zellen nach Infektion mit EV-E	43
Abbildung 6: Native LMH-Zellen	44
Abbildung 7: Beginnende Lyse der LMH-Zellen nach Infektion mit NDV, mit einzelnen Riesenzellen.....	44
Abbildung 8: Vollständig lysierte LMH-Zellen nach Infektion mit NDV, deutliche Riesenzellbildung	44
Abbildung 9: Durchschnittliche Trocknungszeiten der Hölzer im Exsikkator unter Vakuum bei Raumtemperatur mit Standardabweichungen.....	45
Abbildung 10: Durchschnittliche Titerverluste des Referenztiters zum Initialtiter in Suspension mit Standardabweichungen	46
Abbildung 11: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	47
Abbildung 12: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	48
Abbildung 13: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	49
Abbildung 14: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	50
Abbildung 15: Titerreduktion des EV-E durch 10 % Glutaraldehyd bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	51
Abbildung 16: Konzentration von Glutaraldehyd für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	52
Abbildung 17: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei -10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	53
Abbildung 18: Vergleich der durchschnittlichen Konzentrationen von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E nach der Prüftemperatur mit Standardabweichungen.....	53
Abbildung 19: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei -10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen.....	54
Abbildung 20: Vergleich der durchschnittlichen Konzentrationen von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E nach der Prüftemperatur mit Standardabweichungen.....	54

Abbildung 21: Durchschnittliche Titerreduktion von EV-E bei 10 °C auf verschiedenen Oberflächen mit Standardabweichungen.....	56
Abbildung 22: Durchschnittliche Titerreduktion von NDV bei 10 °C auf verschiedenen Oberflächen mit Standardabweichungen.....	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete biozide Grundchemikalien	27
Tabelle 2: Verwendete Geräte.....	27
Tabelle 3: Verwendete Verbrauchsmaterialien und Hilfsmittel	29
Tabelle 4: Verwendete Reagenzien.....	30
Tabelle 5: Holzeigenschaften nach Grosser und Teetz (1998)	64
Tabelle 6: EV-E auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	93
Tabelle 7: EV-E auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	93
Tabelle 8: EV-E auf Pappelholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	94
Tabelle 9: EV-E auf Buchenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	94
Tabelle 10: EV-E auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit ..	95
Tabelle 11: NDV auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	95
Tabelle 12: NDV auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	96
Tabelle 13: NDV auf Pappelholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	96
Tabelle 14: NDV auf Buchenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	97
Tabelle 15: NDV auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit ...	97
Tabelle 16: EV-E auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	98
Tabelle 17: EV-E auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	98
Tabelle 18: EV-E auf Pappelholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	99
Tabelle 19: EV-E auf Buchenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	99
Tabelle 20: EV-E auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	100
Tabelle 21: NDV auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	100
Tabelle 22: NDV auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	101
Tabelle 23: NDV auf Pappelholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	101
Tabelle 24: NDV auf Buchenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	102
Tabelle 25: NDV auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit .	102
Tabelle 26: EV-E auf Fichtenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	103
Tabelle 27: EV-E auf Kiefernholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	103
Tabelle 28: EV-E auf Pappelholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	104
Tabelle 29: EV-E auf Buchenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	104
Tabelle 30: EV-E auf Douglasienholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.	105
Tabelle 31: NDV auf Fichtenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	105
Tabelle 32: NDV auf Kiefernholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	106
Tabelle 33: NDV auf Pappelholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	106
Tabelle 34: NDV auf Buchenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit	107
Tabelle 35: NDV auf Douglasienholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit..	107

Tabelle 36: EV-E auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit	108
Tabelle 37: EV-E auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	108
Tabelle 38: EV-E auf Pappelholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	109
Tabelle 39: EV-E auf Buchenholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit....	109
Tabelle 40: EV-E auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit	110
Tabelle 41: EV-E auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit	110
Tabelle 42: EV-E auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	111
Tabelle 43: EV-E auf Pappelholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit.....	111
Tabelle 44: EV-E auf Buchenholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit....	112
Tabelle 45: EV-E auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit	112
Tabelle 46: Resttiter in log ₁₀ KID ₅₀ /ml von EV-E auf den Keimträgern im zeitlichen Verlauf mit jeweils drei Wiederholungen.....	113
Tabelle 47: Resttiter in log ₁₀ KID ₅₀ /ml von NDV auf den Keimträgern im zeitlichen Verlauf mit jeweils drei Wiederholungen.....	114

Abkürzungen

ATV-Lösung	Alsever's-Trypsin-Versen-Lösung
BAuA	Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
BEV	Bovines Enterovirus
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BMU	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit
BMUNR	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
BSA	Bovines Serumalbumin
CEN	Europäisches Komitee für Normung
CPE	zytopathischer Effekt
Destatis	Statistisches Bundesamt
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
ECBO-Virus	enteric cytopathic bovine orphan Virus
ECHA	Europäische Chemikalienagentur
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EG	Europäische Gemeinschaft
EU	Europäische Union
EV-E	Enterovirus E
FKS	Fetales Kälberserum
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
g_N	Normfallbeschleunigung
HCl	Salzsäure
ICTV	Internationales Komitee für die Taxonomie von Viren
IHO	Industrieverband Hygiene und Oberflächenschutz
KID ₅₀	notwendige Dosis, um in 50 % der Zellkulturen eine Infektion auszulösen
LMH-Zellen	Leghorn Male-chicken Hepatocellular-carcinoma cells
log ₁₀	dekadischer Logarithmus
MDBK-Zellen	Madin-Darby bovine kidney epithelial cells

MEM	Eagle's Minimal Essential Medium
MKS	Maul- und Klauenseuche
NDV	Newcastle Disease Virus
ppm	parts per million
RNA	Ribonukleinsäure
TSIS	TierSeuchenInformationsSystem
WSH	Wasser standardisierter Härte

1. Einleitung

Holz ist ein traditionell viel genutztes Baumaterial in der landwirtschaftlichen Tierhaltung, welches jedoch in den letzten Jahren im Vergleich zu moderneren Baustoffen an Bedeutung verloren hat (Destatis 2022a; 2022b). Ein Grund dafür könnte die negative Wahrnehmung der hygienischen Eigenschaften von Holzoberflächen sein. Verschiedene Verordnungen oder Richtlinien fordern einen Oberflächenzustand, der eine ordnungsgemäße, wirksame oder leicht durchführbare Reinigung und Desinfektion zulässt (BMEL 2014a; 2014b). Ob Holz als poröses bzw. raues Baumaterial diese Anforderungen erfüllt, wird dabei oft infrage gestellt.

Die Reinigung und Desinfektion spielt in der Tierhaltung eine entscheidende Rolle, sowohl in der allgemeinen Infektionsprophylaxe als auch in der Bekämpfung von Tierseuchenerregern. Um die Wirksamkeit der hierbei eingesetzten Desinfektionsmittel zu gewährleisten, haben sich für den Veterinärbereich bzw. auch speziell für den Bereich der Tierhaltung verschiedene Richtlinien der Desinfektionsmitteltestung etabliert. Diese unterscheiden sich unter anderem im Erregerspektrum sowie in der Oberflächenbeschaffenheit, auf der die Desinfektionsmittel angewendet werden. Das Erregerspektrum unterteilt sich dabei in Bakterien, Viren, Parasiten und Pilze. Bei den Oberflächen wird zwischen porösen und nicht-porösen Oberflächen unterschieden. Im Bereich der Tierhaltung ist der Keimträgertest auf porösen Oberflächen als der wichtigste Wirksamkeitstest anzusehen (Böhm 2002a). Das Hauptaugenmerk der hier vorgestellten Arbeit liegt dabei auf der Betrachtung der viruziden Wirksamkeit.

Um die Biosicherheit des Baustoffes Holz zu beurteilen, wurden Desinfektionsversuche und Langzeitbeobachtungen auf unterschiedlichen landwirtschaftlichen Bauhölzern durchgeführt. Die Laboruntersuchungen zur Desinfektion orientierten sich dabei hauptsächlich an der nationalen Prüfrichtlinie der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG): „Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Viruzidie“ (DVG 2017b) und der europäischen Norm: „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich auf nicht-porösen Oberflächen - Prüfverfahren und Anforderungen - Phase 2, Stufe 2“ (CEN 2020).

In den Desinfektionsversuchen wurden fünf verschiedene Arten von Holzkeimträgern mit behüllten als auch unbehüllten Viren beimpft und anschließend mit drei unterschiedlichen Desinfektionsmitteln behandelt. Als Desinfektionsmittel dienten die Grundchemikalien Peressigsäure, Ameisensäure und Glutaraldehyd, welche als Grundsubstanzen in vielen kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln enthalten sind (DVG 2023a; IHO 2023). Der Desinfektionserfolg wurde quantitativ ausgewertet und die erforderlichen Konzentrationen

wurden ermittelt, die zu einer Keimzahlreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen führten.

In den Langzeitversuchen zur Tenazität wurde die intrinsisch biozide Wirkung der Hölzer bestimmt. Hierfür wurden die unterschiedlichen Holzarten sowie zusätzlich Stahlkeimträger als Kontrolle mit den Prüfviren beimpft und eingelagert. Über einen Gesamtzeitraum von bis zu vier Monaten wurden die Keimträger kontinuierlich bezüglich des Restvirusgehalts bewertet und miteinander verglichen.

Die Verwendung von Holz als traditionelles Baumaterial in der Landwirtschaft kann einen Beitrag zu einer nachhaltigeren Wirtschaft, zum Klimaschutz und zur Stärkung regionaler Wertschöpfungsketten leisten. Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft empfiehlt, den natürlichen Baustoff Holz verstärkt beim Ausbau von landwirtschaftlichen Betriebsgebäuden zu berücksichtigen (BMEL 2021). Jedoch dürfen dabei die Aspekte der Tierhygiene und der Tierseuchenbekämpfung nicht außer Acht gelassen werden. Die durchgeführten und vorgestellten Untersuchungen sollen zur Prüfung der Vereinbarkeit vorgenannter Anforderungen dienen.

2. Literaturübersicht

2.1 Reinigung und Desinfektion im landwirtschaftlichen Nutztierstall

2.1.1 Rechtliche Grundlagen

2.1.1.1 Recht der Europäischen Union

Die allgemeinen Vorgaben der Reinigung und Desinfektion für tierhaltende Lebensmittelunternehmer der Primärproduktion sind in der Verordnung (EG) Nr. 852/2004 festgehalten (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2004a). Zusätzlich dazu bezieht sich die Verordnung (EG) Nr. 853/2004 auf spezifische Primärerzeugnisse tierischen Ursprungs inklusive den hygienischen Voraussetzungen in der Produktion (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2004b). Weiterhin gibt es europäische Richtlinien, welche die Reinigung und Desinfektion für landwirtschaftliche Nutztierhaltungen sowohl allgemein als auch spezifisch für Kälber, Schweine, Legehennen und Masthühner vorgeben (Rat der Europäischen Union 2008a; 2008b; 2007; 1999; 1998). Für Betriebe der ökologischen/biologischen Tierhaltung gilt darüber hinausgehend die Verordnung (EU) 2018/848 (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2018). Hierbei werden die allgemeine Reinigung und Desinfektion des Produktionszweigs geregelt sowie die Anwendung bestimmter Reinigungs- und Desinfektionsmittel vorgegeben.

Im Tierseuchenfall ist die Reinigung und Desinfektion von Tierhaltungen durch die Verordnung (EU) 2016/429 geregelt (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2016). Diese Grundverordnung wird durch zugehörige delegierte Verordnungen ergänzt, welche ebenfalls die Hygienebestimmungen thematisieren (Europäische Kommission 2019a; 2019b). Zusätzlich gibt es noch Durchführungsverordnungen, welche die Bekämpfung einer spezifischen Tierseuche inklusive der Durchführung von Reinigung und Desinfektion behandeln (Europäische Kommission 2023; 2021).

2.1.1.2 Nationales Recht

Die nationale Rechtsgrundlage für die Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung ist im allgemeinen Teil der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung festgelegt (BMELV 2006). Im tierartspezifischen Teil dieser Verordnung wird die Reinigung und Desinfektion in der Haltung von Legehennen, Masthühnern, Saugferkeln und Kaninchen näher thematisiert (BMELV 2006). Ergänzend dazu macht die Schweinehaltungshygieneverordnung weitere Angaben für die Reinigung und Desinfektion in Schweinehaltungen (BMEL 2014b).

Im Tierseuchenfall gilt hingegen das Tiergesundheitsgesetz (BMEL 2018b). Dieses Gesetz ermächtigt das zuständige Bundesministerium, Mittel und Verfahren für die Desinfektion zu bestimmen, die bei einer tierseuchenrechtlich vorgeschriebenen Desinfektion angewandt werden dürfen. Daraus entstand die Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen (FLI 2023). Hierbei handelt es sich um eine Richtlinie, nach der die zuständige Behörde die Desinfektion im Tierseuchenfall anweisen kann. Weiterhin gibt es zahlreiche Verordnungen, welche die Reinigung und Desinfektion jeweils für eine oder mehrere spezifische Tierseuchen vorgeben (BMEL 2019).

2.1.2 Durchführung der Reinigung und Desinfektion

2.1.2.1 Reinigung

Vor jeder Stalldesinfektion sollte zunächst eine Reinigung erfolgen. Das Ziel der Reinigung ist es, organischen sowie anorganischen Schmutz zusammen mit den enthaltenen Mikroorganismen zu entfernen und so den Gesamtkeimgehalt pro cm² Stallfläche bereits vor der Desinfektion um bis zu drei Zehnerpotenzen zu reduzieren (Müller et al. 2021; Hoy 2016; Böhm 2002a; 2002b; Hafez und Böhm 2002). Allgemein ist die Reinigung von hinten nach vorn sowie von oben nach unten durchzuführen, um bereits gereinigte Flächen nicht erneut zu kontaminieren (Philipp et al. 2023d; Hafez und Böhm 2002). Die Reinigung lässt sich in verschiedene Arbeitsschritte gliedern:

Der erste Schritt ist die Grob- bzw. Trockenreinigung. Hierbei sollten alle festen und lockeren Verschmutzungen trocken aus dem Stall entfernt werden (Müller et al. 2021; Hafez und Böhm 2002). Dies geschieht zunächst über die Entfernung der Rückstände von Futter, Wasser, Einstreu und Fäkalien von allen Einrichtungen und Flächen (Philipp et al. 2023d; Schliesser 2022; Müller et al. 2021). Nachfolgend erfolgt die Demontage aller beweglichen Ausrüstungsgegenstände, diese werden gesondert gereinigt und desinfiziert (Philipp et al. 2023d; Böhm 2002b). Danach folgt die Trockenreinigung mithilfe von stallüblichen Hilfsmitteln wie Besen, Schaufeln, Schrubber oder Kratzer (Böhm 2002b). Vor allem stark verschmutzte Bereiche des Stalls wie Ecken, Nischen oder Spalten sind dabei zu beachten (Hafez und Böhm 2002). Die Grobreinigung gilt als abgeschlossen, wenn der Stall als besenrein anzusehen ist (Schliesser 2022; Böhm 2002b; Strauch 1981).

Anschließend erfolgt als zweiter Schritt das Einweichen. Dabei wird Leitungswasser verwendet, optional mit dem Zusatz eines Reinigungsmittels (Schliesser 2022; Müller et al. 2021; Böhm 2002b; Strauch 1981). Eventuell vorhandene Sprinkleranlagen können für diesen Prozess effektiv genutzt werden (Philipp et al. 2023d). Beim manuellen Ausbringen sollte die Applikationsmenge 1 bis 1,5 l Wasser pro m² betragen und mit geringem Druck (1 bis 2 MPa)

versprüht werden (Hoy 2016; Böhm 2002b; Hafez und Böhm 2002). Idealerweise sollte das Einweichen mit warmem Wasser (40 °C) erfolgen (Hafez und Böhm 2002). Bei Umgebungstemperaturen unter dem Gefrierpunkt ist dem Wasser Frostschutzmittel oder Kochsalz beizufügen (Philipp et al. 2023d). Die Einweichzeit ist abhängig von der individuellen Oberfläche und Verschmutzung und beträgt etwa drei Stunden (Hoy 2016; Böhm 2002b). Durch Zugabe eines Reinigungsmittels und durch Wiederholung des Einweichprozesses lässt sich die Effektivität steigern (Hoy 2016; Böhm 2002b; Hafez und Böhm 2002; Strauch 1981). Das Ziel besteht darin, den Schmutzbelag zu lösen und aufquellen zu lassen (Böhm 2002a).

Der dritte Schritt besteht in der eigentlichen Reinigung, die meist in Form der Hochdruckreinigung erfolgt. Hierbei wird Wasser bzw. Reinigungsmittellösung mit hohem Druck auf die Flächen versprüht. Die Applikationsmenge sollte dabei 6 bis 15 l/m² betragen und mit einem Druck von 7,5 bis 12 MPa versprüht werden (Schliesser 2022; Hoy 2016; Böhm 2002b). Für Flächen eignet sich die Verwendung einer Flachstrahldüse am besten, während Rundstrahldüsen vor allem bei Ecken, Nischen und Spalten sehr gut eingesetzt werden können (Hoy 2016; Böhm 2002b; Strauch 1981). Die optimale Temperatur des Reinigungswassers beträgt 40 °C, bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt sind entsprechende Taumittel beizufügen (Philipp et al. 2023d; Stoy 1983). Die Reinigung gilt als abgeschlossen, wenn das abfließende Spülwasser frei von Schmutzpartikeln ist sowie die ursprüngliche Struktur, Farbe und Beschaffenheit der Oberflächen wieder erkennbar sind (Schliesser 2022; Müller et al. 2021; Hoy 2016; Böhm 2002b; Strauch 1981).

Der vierte und letzte Schritt ist das Abtrocknen. Vor dem Prozess der Trocknung sind ggf. eingesetzte Reinigungsmittel durch Abspülen mit Leitungswasser vollständig zu entfernen (Müller et al. 2021; Hoy 2016). Pfützen und Wasserrückstände müssen manuell entfernt werden. Die nachfolgende Trocknungsdauer ist abhängig vom Material und der Beschaffenheit der Oberfläche. Da die Desinfektion in der Regel erst am nächsten Tag stattfindet, beträgt die Trocknungszeit meist eine Nacht (Böhm 2002b). Zudem lässt sich die Trocknungsdauer durch das Einschalten der Lüftung, das Öffnen der Fenster oder das Aktivieren der Raumheizung verkürzen (Schliesser 2022; Böhm 2002b). Das Ziel dieses Prozesses ist es, eine trockene Oberfläche für die Desinfektion zu schaffen und somit Seifenfehler oder eine unbeabsichtigte Verdünnung des Desinfektionsmittels zu vermeiden (Schliesser 2022; Müller et al. 2021; Böhm 2002b).

2.1.2.2 Prophylaktische Desinfektion

Die allgemeine Desinfektion außerhalb eines Tierseuchenfalls hat zum Ziel, eine effektive Infektionsprophylaxe in der Nutztierhaltung aufrechtzuerhalten, um Erkrankungen und Leistungseinbußen aufgrund von Krankheitserregern oder anderen unerwünschten

Mikroorganismen zu vermeiden (Schliesser 2022). Dabei wird angestrebt, den Keimgehalt auf unter 1.000 Keime pro cm² Stallfläche zu reduzieren (Schliesser 2022; Müller et al. 2021; Hoy 2016; Böhm 2002b). In Tierställen sind diesbezüglich chemische Desinfektionsverfahren als Mittel der Wahl anzusehen (Müller et al. 2021; Hoy 2016). Diese Verfahren sollten mit zugelassenen Handelspräparaten oder geeigneten bioziden Grundchemikalien erfolgen.

Das Desinfektionsmittel wird üblicherweise durch Versprühen oder Verspritzen mit geeigneten Geräten bei niedrigem Druck ausgebracht (Schliesser 2022; Hoy 2016; Böhm 2002b; Hafez und Böhm 2002). Wie auch die Reinigung, erfolgt die Desinfektion von hinten nach vorn sowie von oben nach unten (Böhm 2002b; Hafez und Böhm 2002). Zur ausreichenden Benetzung sollten auf glatten Oberflächen mindestens 0,2 l Desinfektionsmittellösung pro m² und auf rauen Oberflächen mindestens 0,4 l/m² ausgebracht werden (Schliesser 2022). Der Flüssigkeitsüberschuss auf rauen Oberflächen führt zum notwendigen Eindringen in Vertiefungen, Risse und Poren (Böhm 2002b). Die Einwirkzeit des Desinfektionsmittels muss konsequent abgewartet werden (Böhm 2002b). Falls möglich sollte das Desinfektionsmittel über Nacht bei abgeschalteter Lüftung einwirken können (Böhm 2002b). Zur Verbesserung des Desinfektionsergebnisses kann die Desinfektion nach zwei bis vier Stunden wiederholt werden (Schliesser 2022; Hafez und Böhm 2002). Bei den Nacharbeiten ist sicherzustellen, dass alle Rückstände von Desinfektionsmitteln vollständig aus möglichen Flüssigkeitsansammlungen (u. a. Fütterungs- oder Tränkvorrichtungen) entfernt werden (Müller et al. 2021; Hoy 2016; Böhm 2002b).

2.1.2.3 Desinfektion im Tierseuchenfall

Im Tierseuchenfall erfolgt die Reinigung und Desinfektion auf Anordnung der zuständigen Behörde nach Verordnung (EU) 2016/429 (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2016). Auf Grundlage des Tiergesundheitsgesetzes entstand die Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen, nach welcher die zuständige Behörde die fallspezifische Desinfektion anweisen kann (FLI 2023; BMEL 2018b). Die Reinigung und Desinfektion sind hierbei spezifisch auf den jeweiligen Krankheitserreger zugeschnitten, mit dem Ziel, alle Tierseuchenerreger vollständig zu eliminieren (Schliesser 2022; Böhm 2002b). Zusätzlich zu den normalen Schritten der prophylaktischen Reinigung und Desinfektion sind hierbei einige weitere Maßnahmen erforderlich:

Vor der Reinigung und Desinfektion ist in Abhängigkeit von Übertragungs- und Verbreitungswegen des Tierseuchenerregers eine Entwesung durchzuführen (Freise et al. 2023). Diese Maßnahme strebt eine möglichst vollständige sowie gezielte Eliminierung von Schadinsekten und Arthropoden an (Freise et al. 2023). Die Durchführung der

Schädlingsbekämpfung hinsichtlich Mittel und Verfahren sollte anhand der technischen Regeln und Normen der Schädlingsbekämpfung erfolgen (Althoff et al. 2023). Ebenfalls kann vor der Reinigung eine vorläufige Desinfektion vonnöten sein. Dies ist der Fall bei hochkontagiösen Tierseuchenerregern sowie bei Erregern mit zoonotischem Potenzial (Philipp et al. 2023b). Das Ziel dieser Maßnahme ist es, möglichst viele Erreger schnellstmöglich zu eliminieren und so das Risiko der Seuchenverschleppung zu minimieren (Philipp et al. 2023b). Die Methode orientiert sich an der prophylaktischen Desinfektion, wobei spezielle Präparate wie Laugen, Aldehyde oder Ameisensäure verwendet werden, die auch auf verschmutzten Flächen entsprechend wirksam sind (Philipp et al. 2023b).

Die Reinigung im Tierseuchenfall orientiert sich an der normalen Reinigung bei Tierseuchenfreiheit. Jedoch sollte die Reinigung hier umfänglicher und rigoroser erfolgen, um jeglichen Schmutz möglichst vollständig durch mechanische Vorgänge zu entfernen (Philipp et al. 2023d). Das ablaufende Reinigungswasser darf nicht unbehandelt in die öffentliche Kanalisation oder Umgebung gelangen (Philipp et al. 2023d).

Die Desinfektion im Tierseuchenfall orientiert sich an der prophylaktischen Desinfektion bei Tierseuchenfreiheit und lässt sich in eine laufende Desinfektion und die Schlussdesinfektion einteilen. Eine laufende Desinfektion kann angeordnet werden, um die Ausbreitung einer leicht verschleppbaren Seuche einzudämmen (Philipp et al. 2023c). Hierbei werden Stallbereiche mit Tierkontakt einer kontinuierlichen Desinfektion unterzogen, bis die letzten Tiere mit Seuchenverdacht entfernt wurden (Philipp et al. 2023c). Die Schlussdesinfektion erfolgt, nachdem alle Tiere mit Seuchenerkrankung oder Seuchenverdacht aus dem Stall entfernt wurden (Philipp et al. 2023c; Böhm 2002b). Diese erfolgt fallspezifisch mit den jeweils empfohlenen Verfahren und Desinfektionsmitteln (FLI 2023).

Eine mögliche Wiederbelegung des Stalls darf erst nach Genehmigung durch die zuständige Behörde erfolgen, nachdem alle Seuchenbekämpfungsmaßnahmen abgeschlossen wurden und eine ausreichende Zeitspanne vergangen ist, um ein erneutes Auftreten des Seuchenerregers zu verhindern (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2016). Weiterhin geben einige Verordnungen für eine oder mehrere spezifische Tierseuchen eine individuelle Zeitspanne vor, nach welcher die Wiederbelegung des Stalls erfolgen darf (BMEL 2019).

2.1.3 Reinigung und Desinfektion auf Holzoberflächen

Durch ihre raue/poröse Oberfläche ergeben sich bei der Reinigung und Desinfektion von Holzoberflächen einige Besonderheiten, die beachtet werden müssen. In der geltenden Richtlinie zur Desinfektion bei Tierseuchen wird empfohlen, dass nicht desinfizierbare

Materialien thermisch zu beseitigen sind, soweit die Oberfläche nicht geglättet werden kann (Philipp et al. 2023d). Dementsprechend sind abgenutzte, verschlissene oder verwitterte Holzteile auszutauschen. Aufgrund der rauen Oberfläche sollte die Grobreinigung mit besonderen Hilfsmitteln wie Spachteln, Drahtbürsten oder entsprechend harten Besen und Bürsten erfolgen (Böhm 2002a). Die Einweichzeit ist aufgrund der porösen Oberfläche entsprechend zu verlängern. Die Hochdruckreinigung sollte bei einem Druck von nicht mehr als 12 MPa erfolgen, um Schäden an der Holzoberfläche zu vermeiden (Hoy 2016). Die Trocknungszeiten nach der Reinigung fallen, wie auch die Einweichzeiten, entsprechend länger aus. Bei der Desinfektion sollten mindestens 0,4 l Desinfektionsmittellösung pro m² verwendet werden, um mit dem Flüssigkeitsüberschuss Poren, Risse und Vertiefungen entsprechend zu erreichen (Schliesser 2022; Böhm 2002b). Auf vertikalen Flächen haben Holzoberflächen im Vergleich zu glatten Oberflächen den Vorteil, dass durch die Porosität bzw. Saugfähigkeit ein Speichereffekt mit einer Langzeitwirkung des Desinfektionsmittels entstehen kann (Schliesser 1981). Eine Desinfektion über Aerosole sollte auf rauen Flächen nicht angewendet werden (Hoy 2016).

2.2 Chemische Desinfektionsmittel

2.2.1 Allgemeine Anforderungen an ein Desinfektionsmittel

An ein Desinfektionsmittel werden im Tierhaltungsbereich unterschiedlichste Anforderungen gestellt. Viele dieser Anforderungen können dabei nicht von allen Präparaten oder Wirkstoffen gleichzeitig erfüllt werden, daher muss die Auswahl des jeweils anzuwendenden Desinfektionsmittels fallspezifisch erfolgen. Es gibt kein universell einsetzbares Desinfektionsmittel (Kramer 2022).

Die wichtigste Anforderung an ein Desinfektionsmittel ist dessen Wirksamkeit. Diese sollte entweder stark selektiv gegen einen bestimmten Krankheitserreger gerichtet sein oder aber ein breites Wirkungsspektrum gegen verschiedene Krankheitserreger abdecken (Philipp et al. 2023a; Kramer 2022; Müller et al. 2021; Schliesser 1981). Weiterhin sollte die Wirkung des Desinfektionsmittels schnell einsetzen und irreversibel sein (Philipp et al. 2023a; Müller et al. 2021; Schubert 2016; Schliesser 1981). Der Abbau der Chemikalien sollte biologisch erfolgen und die Substanzen sollten eine geringe Toxizität für Tiere, Menschen und die Umwelt aufweisen (Philipp et al. 2023a; Kramer 2022; Müller et al. 2021; Schubert 2016; Schliesser 1981). Zudem sollte das Produkt möglichst lange ohne Wirkungseinbußen lagerfähig sein, eine gute Materialverträglichkeit aufweisen, einen geringen Wirkungsverlust durch Milieueinflüsse besitzen und allgemein wirtschaftlich sein (Philipp et al. 2023a; Kramer 2022; Müller et al. 2021; Schubert 2016; Schliesser 1981). Weiterhin müssen Desinfektionsmittel

genehmigt und zugelassen sein (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2012).

2.2.2 Zulassung von Desinfektionsmitteln

Laut geltendem Recht der Europäischen Union müssen die im Handel befindlichen Desinfektionsmittelpräparate nach der Biozidverordnung (EU) Nr. 528/2012 zugelassen sein (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2012). Dieses Zulassungsverfahren gliedert sich in zwei Prozessschritte:

Der erste Schritt ist die Genehmigung des Wirkstoffs. Die Genehmigung erfolgt hierbei für einen oder mehrere Produktbereiche. Für die Wirkstoffe der Desinfektionsmittel in der Tierhaltung ist dabei die Produktart 3 „Hygiene im Veterinärbereich“ entscheidend. Ist die Genehmigung des Wirkstoffs erfolgt, wird von der Europäischen Kommission eine entsprechende Durchführungsverordnung für die Dauer von zehn Jahren erlassen. Derzeit sind mehrere Wirkstoffe (wie Jod, Glutaraldehyd, Wasserstoffperoxid, Peressigsäure, Kalk, Formaldehyd, ...) für den Veterinärbereich genehmigt sowie weitere aktuell im Genehmigungsverfahren (ECHA 2023). Zusätzlich zu den genehmigten Wirkstoffen dürfen gemäß der Delegierten Verordnung (EU) Nr. 1062/2014 auch „alte Wirkstoffe“ in Biozidprodukten verwendet werden, solange deren Genehmigungsprozess noch nicht abgeschlossen ist (Europäische Kommission 2014).

Der zweite Schritt ist die Zulassung des eigentlichen Biozidprodukts. Zuständig hierfür ist im Rahmen der nationalen Zulassung nach dem deutschen Chemikaliengesetz die Bundesstelle für Chemikalien der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BMUNR 2013). Weitere Zulassungsmodelle sind möglich, unter anderem eine gegenseitige Anerkennung der Mitgliedstaaten oder eine direkte Unionszulassung. Die Zulassung eines Biozidprodukts gilt für die Dauer von höchstens zehn Jahren, kann jedoch verlängert werden. Neben den zugelassenen Biozidprodukten gibt es Handelspräparate, die aufgrund von Übergangsregelungen bereits während des laufenden Zulassungsverfahrens verwendet werden dürfen (BAuA 2023). Zusätzlich gibt es noch weitere Handelspräparate, die aufgrund eines laufenden Genehmigungsverfahrens für den enthaltenen Wirkstoff ebenfalls auf dem Markt bereitgestellt und verwendet werden dürfen (BMU 2021; BMUNR 2013; Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2012).

2.2.3 Viruzide Wirksamkeitsprüfungen auf Oberflächen der Tierhaltung

2.2.3.1 Allgemeines zur Wirksamkeitsprüfung

Nachdem ein Desinfektionsmittelpräparat zugelassen wurde, sollte es auch in den entsprechenden Listen als wirksam aufgeführt sein. Hierfür existieren verschiedene Prüfrichtlinien. Im Allgemeinen hat es sich etabliert, dass behüllte Viren als auch unbehüllte Viren geprüft werden. Aufgrund der Unterschiede im Aufbau der Viren bezüglich des Vorhandenseins einer Lipidhülle besitzen die Viren eine unterschiedliche Desinfektionsmittelresistenz. Allgemein sind behüllte Viren weniger resistent gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln als unbehüllte Viren (Bodenschatz 2022; Kramer 2022; Schubert 2016; Schliesser 1981). Die viruzide Desinfektionsmittelwirksamkeit ist daher eingeteilt in eine begrenzte viruzide Wirkung (bestätigte Wirkung nur bei behüllten Viren) und eine volle viruzide Wirkung (bestätigte Wirkung gegen behüllte und unbehüllte Viren).

Die Wirksamkeitsprüfungen gliedern sich meist in einen Suspensionstest und einen Prüfversuch auf Oberflächen (Keimträgeretest). Der Keimträgeretest ist der wichtigste Prüfversuch für den Bereich der Tierhaltung (Böhm 2002a).

2.2.3.2 Prüfrichtlinie der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft

Der Ausschuss für die Desinfektion in der Veterinärmedizin der DVG erstellt die nationalen tiermedizinischen Prüfrichtlinien und listet die als wirksam geprüften Desinfektionsmittel. Es erfolgt eine Dreiteilung der Prüfrichtlinien und Desinfektionsmittellisten für die Anwendungsbereiche Tierhaltung, Tierarztpraxen inklusive Tierheime und den Lebensmittelbereich. In jedem Bereich wird die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel auf unterschiedliche Erreger nach standardisierten Kriterien geprüft. Bei nachgewiesener Wirksamkeit erhält das Produkt das DVG-Prüfsiegel als gelistetes Desinfektionsmittel.

Die Prüfrichtlinie entstand in den 1970er-Jahren unter dem Titel „Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin“ (DVG 1975). Die Prüfung der Viruzidie umfasste hierbei eine Vorprüfung im Suspensionsversuch sowie eine Hauptprüfung auf Keimträgern. Als Testviren dienten dabei vier Prüfviren, davon zwei unbehüllte Viren (Enteric cytopathic bovine orphan-Virus (ECBO-Virus) & Hepatitis contagiosa canis-Virus) und zwei behüllte Viren (Newcastle Disease-Virus (Stamm California) & Vaccinia-Virus). In der Hauptprüfung wurde die Oberflächenwirkung der Desinfektionsmittel auf porösen Oberflächen getestet. Als Keimträgermodelle dienten Verbandsmüll, Hühnereischalen und Pappelholz.

Die Richtlinie wurde im Laufe der Jahre weiter überarbeitet und in aktualisierten Auflagen herausgegeben. In der 2. Auflage (Stand 1988), der 3. Auflage (Stand 2000) und der 4. Auflage

(Stand 2007) ist die Prüfung der viruziden Desinfektionsmittel für die Tierhaltung mit Stand von dem Jahr 1988 erschienen (DVG 2007; 2000; 1988). Im Unterschied zur ersten Fassung wurde das Hepatitis contagiosa canis-Virus durch das Reo-Virus ersetzt. Weiterhin änderte sich der angegebene Teststamm des Newcastle Disease Virus zu dem Stamm Montana. Für die Hauptprüfung wurden Verbandsmüll und Pappelholz als Keimträger angegeben.

In Ermangelung einer europäischen Norm, welche die viruzide Desinfektionsmittelprüfung im Veterinärbereich auf rauhen/porösen Oberflächen thematisiert, erfolgt die nationale Testung weiterhin gemäß den DVG-Richtlinien. Die derzeitige Prüfrichtlinie der Viruzidie in der Tierhaltung ist die 4. Auflage mit Stand vom 07.11.2017 (DVG 2017b). Hierbei wird weiterhin in einen Vortest (Suspensionstest) und einen Hauptversuch (Keimträgertest) gegliedert. Die vier Prüfviren blieben unverändert. Als Keimträgermodell ist nur noch der Keimträger aus Pappelholz angesetzt. Dieser Modellkeimträger wird mit den Prüfviren beimpft und anschließend bei 10 °C (fakultativ auch bei anderen Temperaturen) in entsprechenden Desinfektionsmittelverdünnungen desinfiziert. Nach 15, 30, 60 und 120 min erfolgt die Auswertung der Desinfektion mit einem qualitativen Verfahren. Eine wirksame Desinfektion stellt sich als eine Titerreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen dar, welche durch eine Wiederholung bestätigt wurde. Derzeit sind 84 Produkte in der DVG-Liste gelistet, die entweder eine begrenzte oder eine volle viruzide Wirkung besitzen (DVG 2023a).

2.2.3.3 Prüfverfahren nach europäischen Normen

Die Aufgabe des Komitees 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ des europäischen Komitees für Normung ist es, einheitliche Prüfverfahren zu erstellen, um die europaweite Vergleichbarkeit von Desinfektionsmitteln zu ermöglichen. Die Arbeitsgruppe 2 beschäftigt sich mit den Prüfverfahren der Desinfektion im Veterinärbereich. Dabei ist die Erstellung der Prüfverfahren in verschiedene Phasen unterteilt (Schubert 2016).

Für das Gebiet der Viruzidie im Veterinärbereich existieren momentan zwei Prüfverfahren. Einerseits ein quantitativer Suspensionsversuch (CEN 2015) und andererseits ein quantitativer Oberflächenversuch auf nicht-porösen Oberflächen (CEN 2020). Für raue/poröse Oberflächen im Veterinärbereich existiert momentan nur ein quantitativer Oberflächenversuch der Bakterizidie (CEN 2019). Wenn ein Prüfverfahren der Viruzidie auf rauhen/porösen Oberflächen entwickelt wird, ist es wahrscheinlich, dass es an bereits bestehende Prüfverfahren angelehnt sein wird.

Hinsichtlich der Viren wird im Suspensionsversuch, wie in der DVG-Prüfung, das Bovine Enterovirus E (umbenanntes ECBO-Virus) verwendet. Im Oberflächenversuch werden das Porzine Parvovirus und das Feline Coronavirus als Prüfviren genutzt. Der Keimträger ist bei der viruziden Prüfung eine Scheibe aus rostfreiem Stahl. Die bakterizide Prüfung fordert wie

die DVG-Prüfrichtlinie einen Keimträger aus Pappelholz. Die obligatorische Prüftemperatur beträgt bei allen Prüfverfahren 10 °C, die Einwirkzeit variiert je nach Norm. Als Auswertesystem wird in allen drei Normen ein quantitatives Verfahren genutzt. Von einer wirksamen Desinfektion wird ausgegangen, wenn eine Titerreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen erreicht wird. Eine Ausnahme stellt der Oberflächenversuch zur Viruzidie dar, für welchen eine Reduktion um mindestens drei dekadische Logarithmusstufen gefordert wird.

Der Industrieverband Hygiene & Oberflächenschutz (IHO) prüft und listet Desinfektionsmittel für den Arbeitsbereich der Flächendesinfektion in der Tierhygiene. Der Suspensionsversuch zur Viruzidie nach europäischer Norm bildet dabei die Testgrundlage. Derzeit sind 74 Produkte in der IHO-Liste gelistet, die eine viruzide Wirksamkeit besitzen (IHO 2023).

2.2.4 Untersuchte Wirkstoffgruppen

2.2.4.1 Peroxide (Peressigsäure)

Die Peroxide stellen eine Wirkstoffgruppe innerhalb der Oxidationsmittel dar. Peressigsäure und Wasserstoffperoxid sind die beiden bedeutendsten Vertreter der Wirkstoffgruppe (Böhm 2002a). Die viruzide Wirkungsweise der Peroxide beruht auf der oxidativen Wirkung von Sauerstoffradikalen. Diese Radikale besitzen einerseits eine oxidative Wirkung auf die Basen der DNA bzw. der RNA, wodurch es während der Replikation zu Punktmutationen kommt (Kramer et al. 2008a). Andererseits werden die Ribose- bzw. Desoxyriboseketten radikalisch angegriffen, was Strangbrüche nach sich zieht (Kramer et al. 2008a; Sporckenbach-Höffler et al. 1983). Kapsidproteine (bei unbehüllten Viren) bzw. Glykoproteine (bei behüllten Viren) werden ebenfalls durch Oxidation zerstört (Rheinbaben und Wolff 2002; Sporckenbach-Höffler et al. 1983).

Peressigsäure ist in Lösungen von 10 % bis 40 % im Handel erhältlich und ist als Wirkstoff der Hygiene im Veterinärbereich genehmigt (Europäische Kommission 2016). Als Desinfektionsmittel besitzt Peressigsäure ein breites Wirkungsspektrum mit einer hohen bioziden Wirksamkeit (Kramer 2022; Böhm 2002a; Schliesser 1981). In der Landwirtschaft ist es als Mittel zur Desinfektion von Flächen, Gegenständen und Apparaturen seit Jahren etabliert und findet ebenfalls in veterinärmedizinischen Bereichen Anwendung, einschließlich der Bekämpfung von Tierseuchenerregern (Schubert 2016). Die desinfizierende Wirkung der Peressigsäure setzt sehr schnell ein und ist in gewissen Maßen unabhängig von den Faktoren Temperatur, pH-Wert und Eiweißbelastung (Kramer 2022).

Die Einsatztemperatur der Peressigsäure erlaubt eine fast uneingeschränkte Verwendung des Desinfektionsmittels (Schliesser 1981). Unter Zusatz von Frostschutzmitteln ist eine

Anwendung bis zu -40 °C möglich (Jones et al. 1967). Der optimale pH-Wert liegt bei 2,5 bis 4, allerdings ist Peressigsäure auch im alkalischen Bereich noch hochwirksam (Kramer et al. 2008a; Böhm 2002a). Die Eiweißtoleranz kann als mäßig gut betrachtet werden, mit einer Ausnahme auf blutigen Flächen (einschließlich geronnenem Blut), wo die Desinfektionswirkung stark herabgesetzt oder ganz ausgesetzt ist (Kramer 2022; Rheinbaben und Wolff 2002). Der Seifenfehler ist nur gering ausgeprägt (Kramer 2022).

Peressigsäure besitzt als Reinsubstanz eine ausgeprägte korrosive Wirkung auf viele Metalle, weist allerdings keinerlei Rückstandsproblematik in der Umwelt auf, da das Peroxid rasch und vollständig zerfällt (Kramer 2022; Müller et al. 2021; Kramer et al. 2008a; Rheinbaben und Wolff 2002; Schliesser 1981). Die schädlichen Eigenschaften der Peressigsäure können bei unsachgemäßer Anwendung zu Hautproblematiken führen (Kramer 2022; ECHA 2021b; Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2008; Kramer et al. 2008a). Weiterhin wurde in Tierexperimenten gezeigt, dass die wiederholte Applikation oder Inhalation von Peressigsäure mutagen, embryotoxisch, systemisch toxisch, neurotoxisch, teratogen und kanzerogen wirken kann (Kramer 2022; Kramer et al. 2008a).

2.2.4.2 Organische Säuren (Ameisensäure)

Die organischen Säuren gehören zu der Wirkstoffgruppe der aliphatischen Carbonsäuren. Dabei stellen Ameisen-, Essig- und Propionsäure die wirksamsten und wichtigsten Vertreter dieser Gruppe dar (Trauzettel 1993). Die biozide Wirkungsweise beruht auf der Absenkung des pH-Wertes und der Wirkung des undissoziierten Säureanteils (Kramer et al. 2008c; Böhm 2002a; Trauzettel 1993). Der Anteil der undissoziierten Säure ist dabei stark vom pH-Wert abhängig. Gerade bei kurzkettigen organischen Säuren ist es für die Wirksamkeit wichtig, dass der pH-Wert im stark sauren Bereich liegt, andernfalls sinkt deren undissoziierter Anteil ab (Kramer et al. 2008c; Böhm 2002a).

Ameisensäure ist im Handel in hohen Konzentrationen bis zur unverdünnten Reinsubstanz erhältlich. Derzeit ist Ameisensäure noch nicht als Wirkstoff der Hygiene im Veterinärbereich genehmigt (ECHA 2023). Allerdings befindet sich die organische Säure momentan im Genehmigungsverfahren und ist aufgrund von Übergangsregelungen für Biozidprodukte mit alten Wirkstoffen weiterhin nutzbar (Europäische Kommission 2014).

Ameisensäure zeigt eine gute viruzide Wirksamkeit und findet Anwendung als Stalldesinfektionsmittel (Kramer et al. 2008c; Bremer 2003; Böhm 2002a). Die Wirkung wird jedoch von Umgebungsparametern stark beeinflusst. Einen großen Einfluss auf die desinfizierende Wirkung haben dabei Temperaturunterschiede, Änderungen des pH-Wertes und das Vorliegen einer Eiweißbelastung (Böhm 2002a). Bei niedriger Temperatur sinkt die desinfizierende Wirkung stark ab (Hölzle et al. 2023; Lächele 1990). Der optimale pH-Wert

liegt mit 3 bis 5 im stark sauren Bereich (Kramer et al. 2008c). Der Eiweißfehler wird als mittelgroß beschrieben (Böhm 1986).

Die organische Säure besitzt keine Ökotoxizität und weist eine leichte biologische Abbaubarkeit auf (Kramer et al. 2008c). Gegenüber Metallen besitzt die Säure korrosive Eigenschaften (ECHA 2021a; Schliesser 1981). Bei unsachgemäßer Verwendung können beim Anwender reizende oder ätzende Wirkungen auf der Haut, den Augen oder den Atemwegen auftreten (Hölzle et al. 2023; ECHA 2021a; Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2008). Tierexperimentell ergaben sich bei oraler Aufnahme Organschäden und Wachstumsstörungen (Kramer et al. 2008c).

2.2.4.3 Aldehyde (Glutaraldehyd)

Die drei wichtigsten Vertreter der Aldehyde stellen Formaldehyd, Glutaraldehyd und Glyoxal dar (Böhm 2002a; Schliesser 1981). Die viruzide Wirkungsweise beruht auf der sehr reaktiven Aldehydgruppe. Diese bindet an die ggf. vorhandenen Phospholipide der Lipidhülle, die Bausteine der Nukleinsäuren oder an die Aminogruppen von Proteinen und inaktiviert die Viren dadurch (Kramer et al. 2008b; Böhm 2002a; Rheinbaben und Wolff 2002; Maris 1995; Schliesser 1975).

Glutaraldehyd ist eine ölige Flüssigkeit, welche in Lösungen bis zu 50 % im Handel erhältlich ist. Das Aldehyd besitzt eine Genehmigung als Wirkstoff der Hygiene im Veterinärbereich (Europäische Kommission 2015). Dort wird es unter anderem zur Flächendesinfektion eingesetzt, mit einer Wirksamkeit gegenüber vielen Krankheitserregern (Schubert 2016; Böhm 2002a; Schliesser 1981). Die Aktivität des Glutaraldehyds ist stark von den Umgebungsbedingungen abhängig. Das Optimum der viruziden Wirksamkeit liegt im pH-Wertbereich von 7,5 bis 8,5 (Kramer et al. 2008b; Böhm 2002a; Rheinbaben und Wolff 2002). In diesem Bereich liegt die Glutaraldehydlösung als eine aktivierte Lösung vor (Rheinbaben und Wolff 2002). Aufgrund der herabgesetzten Stabilität der aktivierten Lösung wird diese erst vor dem Gebrauch alkalisiert (Kramer et al. 2008b; Rheinbaben und Wolff 2002). Gegenüber niedrigen Temperaturen ist Glutaraldehyd besonders empfindlich. Unterhalb von 10 °C ist die Wirkung bereits deutlich beeinträchtigt und ab dem Gefrierpunkt kommt die Wirkung vollständig zum Erliegen (Michels et al. 2023; Böhm 2002a). In Zusammenhang mit Belastungen durch organisches Material sowie Rückständen von Reinigungsmitteln wird die Wirksamkeit nur gering bis mäßig beeinträchtigt (Kramer 2022; Böhm 2002a).

Glutaraldehyd besitzt keine korrosiven Eigenschaften und eine sehr geringe Ökotoxizität, da es rasch und vollständig zerfällt (Kramer 2022; Müller et al. 2021). Untersuchungen zeigten, dass es innerhalb von 28 Tagen vollständig abgebaut wird (Zöllner et al. 1995). Bei

unsachgemäßer Anwendung können aufgrund der toxischen Eigenschaften reizende Wirkungen auf der Haut, den Augen oder den Atemwegen auftreten (Michels et al. 2023; ECHA 2013; Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2008; Kramer et al. 2008b). Zudem besitzt Glutaraldehyd ein allergenes Potenzial (Kramer et al. 2008b). Tierexperimentell wurde eine akute Toxizität in den Organen des zentralen Nervensystems, den männlichen Fortpflanzungsorganen und dem Fetus nachgewiesen (Kramer et al. 2008b). Weiterhin ist ein mutagenes Potenzial nicht auszuschließen (Michels et al. 2023; Kramer et al. 2008b).

2.3 Holzoberflächen in der Tierhaltung

2.3.1 Holznutzung in der Landwirtschaft

Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft empfiehlt, den natürlichen Baustoff Holz verstärkt beim Ausbau von landwirtschaftlichen Betriebsgebäuden zu berücksichtigen (BMEL 2021). Im Jahr 2021 wurden 1.594 neue landwirtschaftliche Betriebsgebäude mit Holz als überwiegend verwendeter Baustoff mit einem umbauten Raum von insgesamt 4.716.000 m³ errichtet (Destatis 2022a). Ebenfalls wurden im Jahr 2021 die Baugenehmigungen für 2.169 neue landwirtschaftliche Betriebsgebäude mit Holz als überwiegend verwendeter Baustoff mit einem umbauten Raum von insgesamt 6.137.000 m³ erteilt (Destatis 2022b). Die Verwendung von Bauholz leitet sich unter anderem daraus ab, dass die Mehrzahl der landwirtschaftlichen Betriebe neben Acker- und Grünland auch im Besitz von Waldflächen ist und somit eigenes Holz im Bau verwerten kann (Bär 2022; Destatis 2022c; Mittrach 1979). In Deutschland gibt es 141.050 waldbesitzende landwirtschaftliche Betriebe mit insgesamt 1.549.100 ha an Waldflächen oder landwirtschaftlichen Agrarholzplantagen (Kurzumtriebsplantagen) (Destatis 2022c). Der Anteil der Betriebe mit Kurzumtriebsplantagen liegt dabei nur bei ca. 1 %, und nur bei ca. 0,4 % der vorgenannten Fläche handelt es sich um Kurzumtriebsplantagen (Destatis 2017). Das betriebseigene Holz kann für die Errichtung von landwirtschaftlichen Betriebsgebäuden effektiv genutzt werden (Bär 2022; Engler 2021; Dauermann und Enneking 2019; Jiang et al. 2019; Dietsch et al. 2018; Dederich und Witzel 2006).

2.3.2 Untersuchte Holzarten

2.3.2.1 Fichte

Die Gattung der Fichten (*Picea*) stellt mit ca. 35 Unterarten die prägende Baumart der borealen Nadelwälder der Nordhemisphäre und der Nadelwaldstufe in den Gebirgen der temperaten sowie teils meridionalen Klimazone dar (Aas 2017; Schmidt 1998). In Mitteleuropa bilden die

Fichten die häufigste Nadelbaumart (Aas 2017). Die gewöhnliche oder gemeine Fichte (*Picea abies*) ist eine einheimische Baumart und besitzt in Mitteleuropa die größte forstwirtschaftliche Bedeutung (Aas 2017; Schmidt 2002). Mit einem Anteil von ca. 26 % an der Fläche des Waldbestandes ist sie die häufigste Baumart in Deutschland und macht ca. 33 % des Holzvorrates der Wälder aus (BMEL 2018a). Sie wird ca. 40 m (max. 60 m) hoch, erreicht Brusthöhendurchmesser bis 1,5 m (max. 2 m) und kann bis zu 400 Jahre alt werden (Aas 2017). Die Fichte ist sehr anfällig für die Auswirkungen des Klimawandels, durch ihre flachen Wurzeln fällt sie vermehrt Stürmen zum Opfer, ebenfalls setzen bei anhaltenden Hitzeperioden die Trockenheit und Borkenkäferlarven (*Ips typographus*) der Baumart stark zu (Obladen et al. 2021; Schuldt et al. 2020; Brosinger 2017; Biermayer und Tretter 2016). Unter anderem aus diesen Gründen nehmen sowohl die baumartspezifische Waldfläche als auch der Holzvorrat der Fichte ab (BMEL 2018a).

Bei dem Holz der Fichte handelt es sich um geradfaseriges Nadelholz mit weißlicher bis gelbweißlicher Färbung (Richter und Ehmcke 2017; Grosser und Teetz 1998). Das Splint- und Kernholz lässt sich wegen der Zugehörigkeit zu den Reifholzbäumen farblich nicht voneinander unterscheiden (Richter und Ehmcke 2017; Schmidt 2002; Grosser und Teetz 1998). Aufgrund der im Verhältnis zum relativ geringen Gewicht guten Festigkeits- und Elastizitätseigenschaften eignet es sich hervorragend als Bau- und Konstruktionsholz (Richter und Ehmcke 2017; Schmidt 2002; Grosser und Teetz 1998). Im landwirtschaftlichen Bauen gehört Fichtenholz zu den hauptsächlich verwendeten Holzarten (Bär 2022; Engler 2021; Jiang et al. 2019; Dietsch et al. 2018).

2.3.2.2 Kiefer

Die Gattung der Kiefern (*Pinus*) stellt mit mindestens 110 Unterarten die am weitesten verbreitete Baumgattung der nördlichen Hemisphäre dar und gilt als die ökologisch und ökonomisch wichtigste Baumgattung der Erde (Schütt und Stimm 2006; Prince et al. 1998; Richardson und Rundel 1998). Die Waldkiefer bzw. gewöhnliche oder gemeine Kiefer (*Pinus sylvestris*) besitzt innerhalb der Baumgattung das größte Verbreitungsareal und wird in Deutschland in vielen Gebieten forstwirtschaftlich angebaut (Aas 2007). Mit einem Anteil von ca. 23 % an der Fläche des Waldbestandes ist sie die zweithäufigste Baumart in Deutschland und macht ca. 21 % des Holzvorrates der Wälder aus (BMEL 2018a). Sie wird ca. 20 bis 30 m (max. 45 m) hoch, erreicht Durchmesser bis 1,5 m und wird etwa 300 Jahre (im Einzelfall bis 600 Jahre) alt (Aas 2007; Schütt und Stimm 2006). Aufgrund der Klimaerwärmung und der zunehmenden Eutrophierung mit Stickstoff verliert die Kiefer an Konkurrenzfähigkeit, insbesondere gegenüber Laubbäumen, und wird gleichzeitig anfälliger für Krankheitserreger

(Schuldt et al. 2020; Walentowski et al. 2007). Diese Effekte führen zu der Abnahme der baumartspezifischen Waldfläche der Kiefer (BMEL 2018a).

Bei dem Holz der Kiefer handelt es sich um geradfaseriges Nadelholz mit rötlicher bis rotbrauner Kernfärbung und weiß-gelblicher bis weiß-rötlicher Splintfärbung (Grosser 2007; Schütt und Stimm 2006). Aufgrund der Zugehörigkeit zu den Kernholzbaumarten lassen sich Splint- und Kernholz optisch gut voneinander unterscheiden (Grosser 2007). Kiefernholz besitzt eine hohe Anzahl an Harzkanälen, welche im Vergleich zu Fichten- oder Douglasienholz einen deutlich größeren Durchmesser (100 bis 150 µm) aufweisen (Grosser 2007; Schütt und Stimm 2006). Das Holz der Baumart ist als mittelschweres sowie mäßig hartes Holz einzustufen und besitzt gute Elastizitäts- und Festigkeitseigenschaften (Grosser 2007). Kiefernholz wird unter anderem als Bau- und Konstruktionsholz genutzt und ist nach der Fichte das zweitwichtigste einheimische Nadelholz in Bezug auf die Verwendung (Bär 2022; Grosser 2007; Schütt und Stimm 2006).

2.3.2.3 Pappel

Die Gattung der Pappeln (*Populus*) besteht aus ca. 30 Unterarten mit einer Verbreitung über die gesamte temperate und boreale Klimazone der Nordhalbkugel (Weisgerber 2010; Aas 2006). In Mitteleuropa kommen natürlicherweise die Schwarzpappel (*Populus nigra*), die Silberpappel (*Populus alba*) und die Zitterpappel bzw. Aspe oder Espe (*Populus tremula*) vor, zudem sind zahlreiche Hybridpappeln (*Populus* sp.) anzutreffen (Aas 2006; Grosser und Teetz 1998). Bei der Bundeswaldinventur wird die Pappel zusammen mit anderen Laubbäumen mit ebenfalls niedriger Lebensdauer aufgeführt, somit können keine konkreten Angaben über die Verbreitung getroffen werden (BMEL 2018a). Pappeln werden bis zu 45 m hoch, erreichen Brusthöhendurchmesser bis 2,5 m und werden nur selten über 150 Jahre (in Einzelfällen bis 300 Jahre) alt (Weisgerber 2010; Aas 2006). Pappeln gehören zu den einheimischen Baumarten mit dem stärksten Höhenwachstum in kurzer Zeit (Grosser 2006; Röhle et al. 2005; Pontailier et al. 1999). Hinsichtlich aktueller klimatischer Herausforderungen zeichnet sich die raschwüchsige Pappel besonders aus, da diese aufgrund der hohen Massenleistung die Baumart mit der schnellsten CO₂-Absorptionsfähigkeit der nördlichen Hemisphäre darstellt (Eisfeld 2006; Roloff 2006; Röhle et al. 2005; Pontailier et al. 1999; Grosser und Teetz 1998).

Pappelholz ist als Laubholz einzuordnen und besitzt eine weiche sowie grobfaserige Struktur (Grosser 2006). Mit Ausnahme der Zitterpappel gehören die Pappeln zu den kernholzbildenden Bäumen mit grauweißlich gefärbtem Splintholz und je nach Unterart hellgrünlich bis olivfarben bzw. gelblich bis rötlich gefärbtem Kernholz (Grosser 2006). Pappelholz gehört zu den leichtesten einheimischen Laubholzarten und besitzt dementsprechend geringe Festigkeitswerte und Tragfähigkeitseigenschaften (Grosser 2006;

Roloff 2006). Allerdings besitzt das Holz einen hohen Abnutzungswiderstand, welcher auf die starke Verfilzung der Holzfasern zurückzuführen ist, zudem gilt es als ziemlich elastisch, zäh und splitterfest (Grosser 2006). Als Baumaterial in der Landwirtschaft wird es unter anderem als Holzschalung eingesetzt (Dederich und Witzel 2006; Grosser und Teetz 1998).

2.3.2.4 Buche

Die Gattung der Buchen (*Fagus*) besitzt eine große ökologische Bedeutung und ist mit zehn Unterarten in der temperaten Zone der nördlichen Hemisphäre weit verbreitet (Aas 2022; Jiang et al. 2022; Felbermeier und Mosandl 2002). In Europa sind die Orientbuche (*Fagus orientalis*) und die häufigste und konkurrenzstärkste Laubbaumart, die Rotbuche (*Fagus sylvatica*), beheimatet (Aas 2022). Die Stellung der Rotbuche als Klimaxbaumart hängt mit ihrer hohen Schattentoleranz, der Ausbildung der dichten Baumkrone und dem bis ins hohe Alter anhaltenden Wachstum zusammen (Aas 2022; Kroiher und Schmitz 2015; Felbermeier und Mosandl 2002). Die Rotbuche ist die häufigste Laubbaumart in Deutschland und macht ca. 16 % der Fläche des Waldbestandes aus, der Holzvorrat der Wälder an Rotbuchenholz beträgt ca. 17 % (BMEL 2018a). Rotbuchenwälder verzeichneten in der letzten Bundeswaldinventur die größte Zunahme der Waldfläche und des Holzvorrates in absoluten Zahlen (BMEL 2018a). Rotbuchen erreichen Höhen bis 35 m (max. 45 m), Brusthöhendurchmesser bis 1,5 m (max. 2,9 m) und Höchstalter von 300 bis 400 Jahren (Aas 2022; Felbermeier und Mosandl 2002). Hinsichtlich klimatischer Veränderungen, wie sehr heiße und trockene Sommer, zeigt sich die Buche nur wenig widerstandsfähig, wie die Sommer 2018 oder 2019 gezeigt haben (Falk et al. 2022; Schießlbauer et al. 2022; Obladen et al. 2021; Schuldt et al. 2020).

Bei dem Holz der Buche handelt es sich um ein hartes und schweres Laubholz mit einer blassgelben bis weiß-rötlichen Färbung (Torno 2022; Felbermeier und Mosandl 2002; Grosser und Teetz 1998). Die Buche gehört zu den Baumarten mit fakultativer Farbkernbildung, tritt dieser Farbkern nicht auf, lassen sich Splint- und Kernholz nicht voneinander unterscheiden (Torno 2022; Grosser und Teetz 1998). Die Rotbuche gehört zu den bedeutendsten Nutz- und Industrieböhlzern und liefert das am vielfältigsten verwendbare einheimische Holz, welches sich problemlos bearbeiten lässt (Torno 2022; Felbermeier und Mosandl 2002; Grosser und Teetz 1998). Das Holz zeichnet sich durch eine hohe Robustheit, Abriebfestigkeit und Biegefestigkeit aus (Torno 2022; Grosser und Teetz 1998). Im Bauwesen eignet es sich vor allem zur Verwendung für die primäre Tragstruktur, da Laubholz im Vergleich zu Nadelholz eine Reduzierung der Bauteilquerschnitte bei gleicher Leistungsfähigkeit erlaubt (Torno 2022; Merz et al. 2020).

2.3.2.5 Douglasie

Die Gattung der Douglasien (*Pseudotsuga*) besteht aus fünf Arten, die natürlicherweise im westlichen Nordamerika oder in Ostasien beheimatet sind (Aas 2008). Die gewöhnliche Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) besitzt zwei verschiedene geografische Formen und ist eine der häufigsten und wichtigsten Baumarten Nordamerikas, welche seit der Mitte des 19. Jahrhunderts auch weltweit in vielen Regionen der temperaten Klimazone angebaut wird (Aas 2008; Grosser und Teetz 1998). In der Holzproduktion der deutschen und europäischen Forstwirtschaft stellt sie die wichtigste nicht-einheimische Baumart dar (Nygaard und Øyen 2017; Grosser und Teetz 1998). Der Anteil der Douglasie am deutschen Waldbestand ist mit ca. 2 % der Fläche und ebenfalls ca. 2 % des Holzvorrates sehr gering (BMEL 2018a). In der letzten Bundeswaldinventur zeigte sich aber, dass Douglasienwälder die höchsten prozentualen Zugewinne verzeichnen konnten (BMEL 2018a). Die relative Zunahme der Douglasienbestände betrug 19 % bei der Waldfläche und 47 % beim Holzvorrat (BMEL 2018a). Douglasien können Höhen bis 80 m (max. 100 m), Bruthöhendurchmesser bis 2,2 m (max. 4,9 m) und ein Alter bis 500 Jahre (nachgewiesenes Höchstalter ca. 1.400 Jahre) erreichen (Aas 2008). Im Zuge des Klimawandels nimmt die Douglasie eine Vorreiterrolle ein, da diese im Vergleich zur Fichte Wärme und Trockenheit besser verträgt, weniger sturmwurfgefährdet ist und eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Borkenkäfer zeigt (Konnert et al. 2008). Zudem weist die Baumart nach der Pappel die schnellste Wachstumsrate auf und kann die Massenleistung der Fichte nahezu um das Doppelte überragen (Grosser und Teetz 1998).

Bei dem Holz der Douglasie handelt es sich um geradfaseriges Nadelholz, welches aufgrund der Zugehörigkeit zu den Kernholzbäumen einen farblichen Unterschied von Kernholz und Splintholz ausbildet (Grosser und Teetz 1998). Das Kernholz der Douglasie besitzt eine gelblich-braune bis dunkelrote Färbung, während das Splintholz eine gelbliche bis rot-weißliche Färbung aufweist (Grosser und Teetz 1998). Douglasienholz zeichnet sich durch gute Festigkeits- und Elastizitätseigenschaften aus, ist als mittelschwer einzustufen und im Vergleich zu anderen Nadelhölzern ziemlich hart (Grosser und Teetz 1998). In der Verwendung wird das Holz vorwiegend als Bau- und Konstruktionsholz genutzt, beispielsweise für Bretter und Bohlen in Schweineställen oder allgemein für Stallbauten (Grosser und Teetz 1998). In Nordamerika ist Douglasienholz das wichtigste Konstruktionsholz und zählt dort zu den am häufigsten verwendeten Nutzhölzern (Grosser und Teetz 1998).

2.4 Prüfviren

2.4.1 Generelle Anforderungen an Prüfviren

Durch die große Anzahl unterschiedlichster pathogener Viren ist es erforderlich, sich auf ausgewählte Prüforganismen festzulegen, die möglichst viele Charakteristika pathogener Viren repräsentieren. An diesen Leitkeimen erfolgt die Desinfektionsmitteltestung unter möglichst standardisierten Bedingungen. Hierbei gibt es einige Charakteristika, welche die Prüfkeime aufweisen sollten:

Als Prüfviren sollten vorzugsweise keine Erreger von anzeigepflichtigen Tierseuchen oder Zoonosen zum Einsatz kommen. Da bei diesen Erregern allerdings eine ausreichende Inaktivierung besonders wichtig ist, sollte das Prüfvirus ein Surrogat für die Erreger viraler Tierseuchen darstellen und demzufolge eine höhere Resistenz als diese aufweisen (Rhee et al. 2022a; Rhee et al. 2022c). Zum Schutz des Laborpersonals sollte das humane Gefährdungspotenzial der Testviren allerdings möglichst gering ausgeprägt sein (Weinhold und Köhler 1972).

Die Handhabung des Prüfvirus im Labor sollte vergleichsweise einfach sein. Aufgrund der niedrigen Einstufung der biologischen Sicherheitsstufe bis S-2 können Desinfektionsversuche mit diesen Viren in vielen Laboren durchgeführt werden. Bei der Kultivierung des jeweiligen Virus gestaltet es sich als vorteilhaft, wenn dieses sich in permanenten Zellkulturen schnell sowie in hohen Titern vermehren lässt und in diesen Zellkulturen einen eindeutigen zytopathischen Effekt (CPE) aufzeigt, was die Auswertung erleichtert (Al-Khleif et al. 2009).

Durch die Tenazitätsunterschiede von behüllten und unbehüllten Viren hat es sich etabliert, beide Virustypen in Desinfektionsmittelprüfungen getrennt voneinander zu betrachten. Die Unterschiede im morphologischen Aufbau haben deutliche Auswirkungen auf den Desinfektionserfolg bzw. auf die Höhe der wirksamen Desinfektionsmittelkonzentration (DVG 2023a). Wichtig im Rahmen der Tenazität ist auch, dass das Prüfvirus eine gewisse Resistenz gegenüber Trocknungseinflüssen im Keimträgerversuch besitzt, da der biozide Keimträgertest als der wichtigste Wirksamkeitstest im Tierhaltungsbereich anzusehen ist (Böhm 2002a).

2.4.2 Untersuchte Prüfviren

2.4.2.1 Bovines Enterovirus E

Das bovine Enterovirus E (EV-E) gehört zu der Gattung *Enterovirus* innerhalb der Familie der *Picornaviridae*. Es handelt sich um ein unbehülltes Virus mit einer einzelsträngigen, linearen RNA mit positiver Polarität und einer Größe von 22 bis 30 nm.

Das Virus wurde erstmals in den 1950er-Jahren unter dem Namen enteric cytopathic bovine orphan virus (ECBO-Virus) aus dem Kot von Kälbern isoliert und beschrieben (Kunin und Minuse 1957; Moll und Finlayson 1957). Diese Bezeichnung erfolgte, weil dem Virus zunächst weder eine bestimmte Krankheit noch eine spezifische Symptomatik zugeordnet werden konnte und die Viren zudem aus dem Kot vermeintlich gesunder Kälber isoliert wurden (Kalter 1960). Durch weitere Erkenntnisse und das vermehrte Auftreten des Virus wurde die Bezeichnung Bovines Enterovirus (BEV) vorgeschlagen und entsprechend etabliert (McFerran 1962). Die Anpassung an die aktuelle taxonomische Bezeichnung *Enterovirus E* (EV-E) erfolgte durch das Internationale Komitee für die Taxonomie von Viren (ICTV *Picornaviridae* Study Group 2011).

EV-E ist weltweit endemisch verbreitet und führt in der Regel zu subklinischen Infektionen von Kälbern (Hughes und Ryan 2008; Kaaden 2002). Die Übertragung erfolgt dabei direkt über oronasalen Kontakt zu infektiösem Kot (Wróbel et al. 2022). Es sind allerdings auch klinische Fälle beschrieben, bei denen eine Infektion zu Erkrankungen des Gehirns, der Herzkranzgefäße oder der Verdauungs-, Atmungs- und Reproduktionsorgane geführt hat, bei letzterer Manifestation im Verbund mit einer Virusübertragung über Geschlechtssekrete (Zhu et al. 2014; Blas-Machado et al. 2011; Kaaden 2002; Weldon et al. 1979). Zudem wurden auch Infektionen verschiedener Säugetierarten bestätigt und serologisch Antikörper in mehreren Spezies inklusive des Menschen nachgewiesen (Gür et al. 2008; Zheng 2007; Jiménez-Clavero et al. 2005; Hamblin et al. 1985). EV-E ist weder als Tierseuchenerreger noch als Zoonoseerreger klassifiziert.

Das Enterovirus E besitzt eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln sowie eine hohe Tenazität in der Umwelt (Martin et al. 2013; Jiménez-Clavero et al. 2005; Biermann et al. 1990; Steiger 1986; Mahnel 1979). In der viruziden Desinfektionsmittelprüfung der DVG ist der Stamm LCR-4 des EV-E als eines der beiden unbehüllten Prüfviren etabliert (DVG 2017b). Dieser Virusstamm wurde erstmals in der Mitte des 20. Jahrhunderts isoliert und wird seitdem in verschiedenen Berichten als Prüfvirus aufgeführt (Kunin und Minuse 1958). Auch europäische Prüfnormen schreiben EV-E eine hohe Relevanz als Testvirus zu und verwenden dieses in veterinärmedizinischen Desinfektionsmitteltestungen (CEN 2020; 2015).

2.4.2.2 Newcastle Disease Virus

Das Newcastle Disease Virus (NDV) gehört zu der Gattung *Orthoavulavirus* innerhalb der Familie der *Paramyxoviridae*. Es handelt sich um ein behülltes Virus mit einer einzelsträngigen, linearen RNA mit negativer Polarität und einer Größe von 150 bis 300 nm.

Das NDV trat erstmals 1926 in Java, Indonesien, auf und wurde im darauffolgenden Jahr auch in Newcastle, England, nachgewiesen, was zur Bezeichnung des Virus und der zugehörigen Krankheit führte (Doyle 1927; Kraneveld 1926). Mit zunehmenden Erkenntnissen über die verschiedenen Virusgattungen innerhalb der *Paramyxoviridae* wurde das Virus von dem ICTV in *Avian avulavirus 1*, bzw. kurz darauf in *Avian orthoavulavirus 1* umbenannt (ICTV *Paramyxoviridae* Study Group 2018; 2016). Die letzte Aktualisierung der Taxonomie erfolgte im Jahr 2022 durch das ICTV mit der Bezeichnung *Orthoavulavirus javaense* (ICTV *Paramyxoviridae* Study Group 2022). Aufgrund der anhaltenden Verwendung der historischen und etablierten Bezeichnung in der wissenschaftlichen Gemeinschaft wird an der Bezeichnung Newcastle Disease Virus (NDV) festgehalten und diese hier in den weiteren Ausführungen genutzt.

NDV zeigt eine weltweite Verbreitung in der Vogelpopulation und kann, abhängig von der Pathogenität des Virusstammes, der betroffenen Vogelspezies und der individuellen Immunkompetenz, zu subklinischen Infektionen bis hin zum plötzlichen Versterben ganzer Bestände führen (FLI 2020; Hafez und Böhm 2002; Kaaden 2002). Der Erreger kann Krankheitssymptome in den Verdauungs-, Atmungs- und Reproduktionsorganen auslösen sowie zentralnervöse Störungen und Ödembildungen verursachen (FLI 2020; Kaaden 2002). Die Virusübertragung erfolgt durch Aerosole bei direktem Kontakt zwischen Vögeln (Weltorganisation für Tiergesundheit 2021; Kaaden 2002). Ebenfalls kann eine vertikale Erregerübertragung stattfinden sowie eine indirekte Übertragung über kontaminierte Nahrung oder Gegenstände (Weltorganisation für Tiergesundheit 2021; Kaaden 2002). Für das Virus wurde bei 241 Vogelarten, einschließlich bedeutender Wirtschaftsgeflügelarten (Huhn, Pute, Gans, Ente und Taube), eine Empfänglichkeit nachgewiesen (Kaleta und Baldauf 1988).

Tierseuchenrechtlich ist das Virus als der Erreger einer anzeigepflichtigen Tierseuche eingestuft (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2016; BMELV 2011). Im Jahr 1996 wurde der derzeit letzte Tierseuchenfall in Deutschland bei Wirtschaftsgeflügel gemeldet sowie im Jahr 2023 die letzten Fälle bei privaten Vogelhaltungen als auch bei Wildvögeln verzeichnet (TSIS 2023). Neben der Relevanz als Seuchenerreger besitzt NDV auch ein zoonotisches Potenzial. Die erste Infektion eines Menschen erfolgte im Jahr 1942 in Australien (Burnet 1943). In den Jahren von 1942 bis 2021 kam es zu 485 gemeldeten menschlichen Infektionen, wobei über die Hälfte der Fälle aus dem Vereinigten Königreich stammte (UI-Rahman et al. 2022). Der Krankheitsverlauf beim Menschen ist in der Regel mild und zeigt Symptome einer Konjunktivitis (UI-Rahman et al. 2022).

NDV stellt eines der beiden behüllten Prüfviren für die viruzide Desinfektionsmittelprüfung der DVG im Tierhaltungsbereich dar (DVG 2017b). Hierbei ist die Verwendung des Stammes

Montana vorgesehen, welcher im Jahr 1947 im gleichnamigen Bundesstaat der Vereinigten Staaten isoliert und identifiziert wurde (Bankowski und Kinjo 1965). Neben dem klassischen Verfahren für Anzucht und Nachweis des Virus in embryonierten Hühnereiern oder primären Hühnerembryozellkulturen gibt es ebenfalls Methoden, welche die Anzucht und den Nachweis des Prüfstamms in permanenten Einschichtzellkulturen beschreiben (Schmidt 2015).

3. Material

3.1 Keimträger

In den Laborversuchen wurden poröse sowie nicht-poröse Materialien als Keimträger untersucht. Als poröse Materialien dienten dabei Echtholzplättchen von fünf verschiedenen Holzarten. Als nicht-poröses Material wurden Feinblechplättchen aus Stahl verwendet (Abbildung 1).

Unter den Vertretern der hölzernen Keimträger wurden mit Plättchen aus dem Holz der gemeinen Fichte (*Picea abies*) und aus Waldkiefernholz (*Pinus sylvestris*) zwei klassische Bauhölzer verwendet. Holzplättchen aus Pappelholz (*Populus* sp.) wurden untersucht, da dies den nationalen Standardprüfkeimträger für Desinfektionsmitteltestungen zur Viruzidie in der Tierhaltung darstellt (DVG 2017b). Als Vertreter moderner Bauhölzer wurden Keimträgerplättchen aus Rotbuchenholz (*Fagus sylvatica*) und dem Holz der gewöhnlichen Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) in die Prüfung mit einbezogen. Alle Holzkeimträger wurden aus getrockneten Holzbrettern hergestellt und im Vorfeld der Versuche auf jeweils eine Größe von 20 mm x 10 mm sowie eine Stärke von 1 mm zugesägt. Durch den erneuten Zuschnitt erhielt die entstandene Oberfläche die Charakteristik von frisch bearbeitetem, getrocknetem Holz ohne Alterungserscheinungen. Die Kategorisierung der Oberfläche erfolgte als feingesägt und wies dementsprechend eine gleichmäßige, intakte Oberfläche mit geringer Rautiefe auf (DIN 2008). Alle verwendeten Keimträger einer Holzart stammten jeweils von einem spezifischen Baum sowie einem aus letzterem geschnittenen Brett. Der Schnitt erfolgte in radialer oder tangentialer Richtung, sodass die Oberfläche der Keimträger einen Längsschnitt des Holzes darstellte. Beim Pappelholz handelte es sich um Splintholz. Die Keimträgerplättchen aus Kiefern- und Douglasienholz stammten aus dem Kernholz. Bei Fichten- und Buchenholz war keine Unterscheidung zwischen Splintholz und Kernholz möglich.

Die verschiedenen Holzplättchen wurden vom Lehrstuhl für Holzwissenschaft der Technischen Universität München zur Verfügung gestellt.

Als nicht-poröses Material wurde ein Stahlkeimträger untersucht. Dies stellt den europäischen Standardprüfkeimträger für viruzide Desinfektionsmitteltestungen auf nicht-porösen Oberflächen für den Veterinärbereich dar (CEN 2020). Die Feinblechstücke besaßen jeweils eine Größe von 20 mm x 10 mm sowie eine Stärke von 1,25 mm. Als Material diente dabei rostfreier Stahl der Werkstoffnummer 1.4301. Diese Stahlsorte besitzt durch die vorhandene Chromoxidschutzschicht eine gute Korrosionsbeständigkeit gegen Umgebungseinwirkungen (CEN 2014a). Die beiden Hauptlegierungselemente stellen Chrom und Nickel dar, weitere

elementare Bestandteile sind Kohlenstoff, Silizium, Mangan, Phosphor, Schwefel und Stickstoff (CEN 2014a). Die Oberflächenqualität wies auf beiden Seiten eine Beschaffenheit von 2B auf. Diese Qualität steht für eine gute Glattheit, Ebenheit und Korrosionsbeständigkeit (CEN 2014b). Die Herstellung der Oberfläche erfolgt durch Kaltwalzen, Wärmebehandlung, Beizen und nochmaliges Kaltwalzen (CEN 2014b). Die Stahlplättchen wurden den Vorgaben entsprechend in Auftrag gegeben und von der Firma ottim Metall GmbH, Berlin, bezogen.

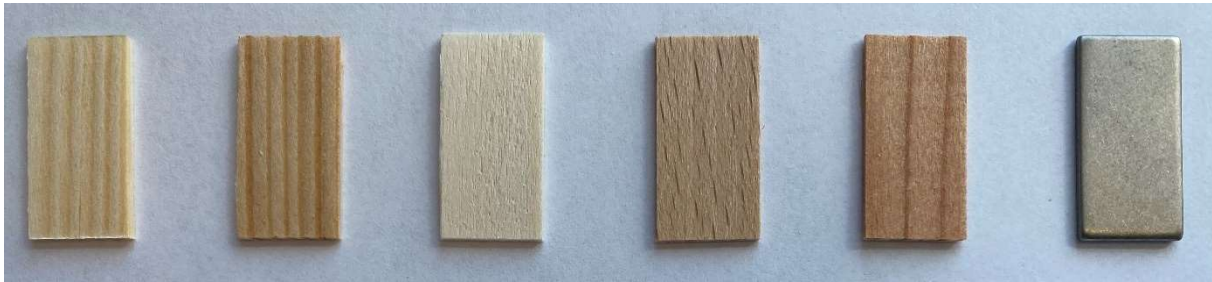


Abbildung 1: Verwendete Keimträger (v.l.n.r. Fichte, Kiefer, Pappel, Buche, Douglasie, Stahl)

3.2 Testviren

Die verwendeten Viren orientierten sich an den gelisteten Standardprüfviren der Methoden zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Kapitel Viruzidie der DVG (DVG 2017b). Von den dort aufgeführten Viren wurde jeweils für behüllte und unbehüllte Viren das limitierende Virus mit der höchsten anzunehmenden Tenazität für die in dieser Arbeit verwendeten biozid wirksamen Grundchemikalien identifiziert und in den Desinfektionsversuchen genutzt. Als das limitierende Surrogatvirus bei den unbehüllten Viren stellte sich das Enterovirus E (EV-E, Stamm LCR 4) dar, sowie bei den behüllten Viren das Newcastle Disease Virus (NDV, Stamm Montana)¹.

Beide Virusstämme wurden vom Institut für Tier- und Umwelthygiene der Freien Universität Berlin zur Verfügung gestellt.

3.3 Zellkulturen

Für die Virusvermehrung und als Virusnachweissystem der zwei limitierenden Viren (behüllt und unbehüllt) wurden zwei verschiedene permanente Einschichtzellkulturen verwendet.

Zum einen MDBK-Zellen (Madin-Darby bovine kidney epithelial cells), eine adhärent wachsende Nierenzelllinie adulter Hausrinder. Die Morphologie ist als epitheloid, länglich und dick spindelförmig zu beschreiben. MDBK-Zellen wurden für die Vermehrung und als

¹ Mitteilung durch Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler, Vorsitzender des DVG-Desinfektionsausschusses

Nachweissystem für das unbehüllte Enterovirus E eingesetzt. Es wurden die Passagen 126 bis 160 verwendet.

Zum anderen LMH-Zellen (Leghorn Male-chicken Hepatocellular-carcinoma cells), eine adhärent wachsende Leberzelllinie des adulten Haushuhns. Die Morphologie ist als dendritisch, klein und polygonal-polymorph zu beschreiben. LMH-Zellen wurden für die Vermehrung und als Nachweissystem für das behüllte Newcastle Disease Virus eingesetzt. Es wurden die Passagen 110 bis 135 verwendet.

Beide Zelllinien stammten aus der Zellbank (Abteilung für experimentelle Tierhaltung und Biosicherheit) des Friedrich-Loeffler-Institutes.

3.4 Nährmedien und Lösungen

Als Nährmedien für die Zellkulturen wurden die Medien ZB5 und ZB9h verwendet. ZB5 enthielt Reinstwasser versetzt mit 5,32 g/l Eagle's Minimal Essential Medium (MEM) mit Zusatz von Hank's Salzen, 4,76 g/l MEM mit Zusatz von Earle's Salzen, 1,25 g/l Natriumhydrogencarbonat, 120 mg/l Natriumpyruvat und 1 % nichtessentielle Aminosäuren (100x konzentriert) bei einem pH-Wert von 7,2. Es ist für viele Säugerzellen einsetzbar und wurde für die MDBK-Zellen verwendet. ZB9h enthielt Reinstwasser versetzt mit 9,9 g/l Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) und 0,86 g/l Natriumhydrogencarbonat bei einem pH-Wert von 7,2. Es ist für eine Vielzahl humaner sowie tierischer Zellen einsetzbar und wurde für die LMH-Zellen verwendet. Beide Nährmedien wurden mit fetalem Kälberserum (FKS) versetzt. Das jeweilige Erhaltungsmedium mit 2 % FKS, das jeweilige Wachstumsmedium mit 10 % FKS.

Die verwendete Alsever's-Trypsin-Versen-Lösung (ATV-Lösung) enthielt Reinstwasser versetzt mit 8,5 g/l Natriumchlorid, 0,4 g/l Kaliumchlorid, 1 g/l Dextrose, 0,58 g/l Natriumhydrogencarbonat, 0,5 g/l Trypsin (250x konzentriert) und 0,2 g/l Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) bei einem pH-Wert von 7,2.

Die Nährmedien (serumfrei) und die ATV-Lösung stammten aus der Zellbank (Abteilung für experimentelle Tierhaltung und Biosicherheit) des Friedrich-Loeffler-Institutes und wurden im Kühlschrank bis zur Verwendung gelagert.

3.5 Biozide Grundchemikalien

Als „Desinfektionsmittel“ wurden aufgrund der besseren Vergleichbarkeit biozid wirksame Grundchemikalien verwendet (Tabelle 1). Diese Reinsubstanzen stellen im Gegensatz zu den Handelspräparaten keine Komponentenmischungen dar oder sind mit Tensiden versetzt. Die jeweils verwendeten Grundchemikalien sind den Wirkstoffgruppen der Peroxide, organischen Säuren und Aldehyden zuzuordnen. Alle verwendeten Reinsubstanzen erfüllen die

Anforderungen nach der Biozid-Verordnung (EU) Nr. 528/2012 (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2012).

Tabelle 1: Verwendete biozide Grundchemikalien

Grundchemikalie	Konzentration	Hersteller
Peressigsäure	15 %	AppliChem GmbH, Darmstadt
Ameisensäure	≥ 98 %	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Glutaraldehyd	50 %	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

3.6 Geräte, Verbrauchsmaterialien und Reagenzien

Tabelle 2: Verwendete Geräte

Geräte	Modell	Hersteller
biologische Sicherheitswerkbank	B-[MaxPro] ² -190	Berner International GmbH, Elmshorn
CO ₂ -Brutschrank	ICO105med	Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach
Einkanalpipetten	Reference® 2	Eppendorf SE, Hamburg
Eismaschine	RF-0644-A	Manitowoc Deutschland GmbH, Herborn
elektronische Pipettierhilfe	Easypet® 3	Eppendorf SE, Hamburg
Exsikkator mit Lochplatte	Art. 554	Kartell S.p.A., Noviglio, Italien
Feinwaage	EMB 200-3	KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern
Heißluftsterilisator	TK L 4878	EHRET GmbH Life Science Solutions, Freiburg im Breisgau
Kameraaufsatz Mikroskop	DS-Fi2	NIKON CORPORATION, Tokyo, Japan
Klimamessgerät	testo 440 CO ₂ -Set	Testo SE & Co. KGaA, Titisee-Neustadt

Klimaschrank	MIR-154-PE	PHC Europe B.V., Etten-Leur, Niederlande
Kühlschrank	RB7300	Samsung Electronics GmbH, Schwalbach am Taunus
Laborautoklav	LABOKLAV 160-MV	SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloß
Laborgasbrenner	gasprofi 1 SCS micro	WLD-TEC GmbH, Arenshausen
Magnetrührgerät	MR Hei-Standard	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach
Mehrkanalpipetten	Transferpette® -12 electronic	BRAND GmbH + Co. KG, Wertheim
Membranvakuumpumpe	LABOPORT® N 86 KT.18	KNF DAC GmbH, Hamburg
pH-Messgerät	inoLab® pH 720 Set	Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG, Wellheim
Reinstwassersystem	Milli-Q® Advantage A10	Merck KGaA, Darmstadt
Schüttelgerät	Vortex-Genie 2, G560E	Scientific Industries Inc., New York, USA
Stoppuhr	Digitale Zeitschaltuhr, 4 Kanäle	VWR International GmbH, Darmstadt
Tiefkühltruhe	Innova C760	New Brunswick Scientific GmbH, Nürtingen
Trockenschrank	FED 720	BINDER GmbH, Tuttlingen
Ultraschallbad	USC 300 T	VWR International GmbH, Darmstadt
Umkehr-Mikroskop	ECLIPSE Ts2	NIKON CORPORATION, Tokyo, Japan
Zentrifuge	5430 R	Eppendorf SE, Hamburg

Tabelle 3: Verwendete Verbrauchsmaterialien und Hilfsmittel

Laborbedarf und Verbrauchsmaterialien	Hersteller
chirurgische Instrumente (Scheren, Pinzetten)	Karl Hammacher GmbH, Solingen Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Einwegspritzen	B. Braun SE, Melsungen
Filtereinheit (0,22 µm)	Merck Millipore Ltd., Carrigtwohill, Irland
Kneifzange	Conmetall Meister GmbH, Celle
Kryoröhrchen	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Mikrotiterplatten (6-Well, 12-Well, 96-Well)	Corning Inc., Kennebunk, USA
Petrischalen	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht
Pipettenfilterspitzen	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf nerbe plus GmbH & Co. KG, Winsen/Luhe
Pipettenspitzen	Eppendorf SE, Hamburg
Reagenzgläser mit Stopfen	Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim vor der Rhön Lab Logistics Group GmbH, Meckenheim
Reagenzreservoir	BRAND GmbH + Co. KG, Wertheim
selbstklebende Aluminiumfolie	LVL technologies GmbH & Co. KG, Crailsheim
serologische Messpipetten (5 ml, 10 ml, 25 ml)	Corning Inc., Corning, USA Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Silicagel Trocknungspерlen	Merck KGaA, Darmstadt
Verschlussfolie	Bemis Company, Inc., Neenah, USA
Zellkulturflaschen mit Belüftungskappe (25 cm ² , 75 cm ² , 175 cm ²)	Corning Inc., Corning, USA Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Zentrifugenröhrchen (15 ml, 50 ml)	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht

Tabelle 4: Verwendete Reagenzien

Reagenzien	Hersteller
2-Propanol	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Calciumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Decon 90®	Decon Laboratories Ltd, Hove, Vereinigtes Königreich
Ethanol, 96 %, vergällt	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Ethylenglykol	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Fetales Kälberserum	Cytiva Europe GmbH, Freiburg im Breisgau Bio & Sell GmbH, Feucht BIOWEST SAS, Nuaille, Frankreich
Magnesiumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Natriumhydrogencarbonat	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Rinderserumalbumin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Salzsäure, 25 %	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe

4. Methoden

4.1 Allgemeiner Versuchsablauf

Die durchgeführten Laborversuche unterteilten sich sowohl bei den Desinfektionsversuchen als auch bei den Langzeitbeobachtungen in einen individuellen Hauptversuch und eine vorgeschaltete Versuchsvorbereitung. Diese Vorbereitung war bei beiden Teilversuchsvorhaben identisch.

4.2 Versuchsvorbereitung

4.2.1 Zellkulturverfahren

Die Zellkulturverfahren erfolgten in Anlehnung an die aktuelle europäische Norm „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Aufbewahrung von Prüforganismen für die Prüfung der bakteriziden (einschließlich Legionella), mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden und viruziden (einschließlich Bakteriophagen) Wirkung“ (CEN 2021).

Die Zelllinien wurden als Kryokonserven bezogen. Diese wurden zügig durch Handwärme zum Auftauen gebracht, in ein Zentrifugenröhrchen überführt und mit dem jeweiligen Wachstumsmedium verdünnt. Diese Zellsuspension (ca. 10 ml) wurde in eine 25 cm² Zellkulturflasche überführt und bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach einem Tag Inkubation waren die Zellkulturflaschen konfluent bewachsen und wurden in 75 cm² Zellkulturflaschen passagiert. Mit letzteren Zellkulturflaschen erfolgte die weitere Kultivierung.

Vor dem Beginn der Zellpassage wurden die Zellkulturflaschen zunächst mittels eines Umkehrmikroskops auf konfluenten Bewuchs kontrolliert. Im ersten Schritt wurde das enthaltene Medium dekantiert und der Zellkulturrasen mit dem jeweiligen serumfreien Medium gespült. Danach wurden 3 bis 5 ml der ATV-Lösung hinzugegeben, um die Zellen vom Boden der Zellkulturflasche zu lösen. Um diesen Prozess zu beschleunigen, wurde die Zellkulturflasche währenddessen im Brutschrank bei 37 °C gelagert. Die MDBK-Zellen benötigten für diesen Prozess ungefähr 8 min, die LMH-Zellen ungefähr 5 min. Unter dem Umkehrmikroskop erfolgte die Kontrolle des Ablöseprozesses. Noch anhaftende Zellen wurden durch vorsichtiges Anschnippen vom Boden abgelöst. Um die Wirkung der ATV-Lösung zu stoppen, wurden die gelösten Zellen in dem jeweiligen Wachstumsmedium aufgenommen und mit diesem vermischt. Danach wurde die Zellsuspension in neue Zellkulturflaschen oder Mikrotiterplatten überführt und im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert.

Die MDBK-Zellen wurden im Verhältnis 1:5 in neue Zellkulturflaschen passagiert. Die Wachstumszeit betrug hier zwei Tage, bis eine erneute Passage möglich war, bzw. drei bis vier Tage bei einer höheren Verdünnung. Für die Aussaat der MDBK-Zellen in Mikrotiterplatten wurde die gelöste Zellsuspension einer 75 cm² Zellkulturflasche in 50 ml Wachstumsmedium aufgenommen. Von dieser Zellverdünnung wurden 100 µl je Vertiefung in 96-Wellplatten bzw. 900 µl je Vertiefung in 12-Wellplatten überführt. Die Wachstumszeit betrug einen Tag, bis ein konfluenter Zellrasen in den Mikrotiterplatten entstanden war.

Die LMH-Zellen wurden im Verhältnis 1:3 in neue Zellkulturflaschen passagiert. Die Wachstumszeit betrug hier drei Tage, bis eine erneute Passage möglich war, bzw. fünf Tage bei einem Passageverhältnis von 1:4. Für die Aussaat der Zellen in Mikrotiterplatten wurde die gelöste Zellsuspension einer 75 cm² Zellkulturflasche in 30 ml Wachstumsmedium aufgenommen. Von dieser Zellverdünnung wurden 100 µl je Vertiefung in 96-Wellplatten bzw. 900 µl je Vertiefung in 12-Wellplatten überführt. Die Wachstumszeit betrug zwei Tage, bis ein konfluenter Zellrasen in den Mikrotiterplatten entstanden war.

4.2.2 Virusvermehrung

Die Virusvermehrung erfolgte in Anlehnung an die aktuelle europäische Norm „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Aufbewahrung von Prüforganismen für die Prüfung der bakteriziden (einschließlich Legionella), mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden und viruziden (einschließlich Bakteriophagen) Wirkung“ (CEN 2021).

Die Virusstämme wurden als Kryokonserven bezogen und zügig durch Handwärme zum Auftauen gebracht. Die nachfolgende Virusvermehrung erfolgte in konfluent bewachsenen Zellkulturflaschen der jeweiligen Zelllinie. Für das EV-E wurden 175 cm² Zellkulturflaschen verwendet, bei NDV 75 cm² Zellkulturflaschen. Das enthaltene Wachstumsmedium der Zellkulturflaschen wurde dekantiert und der Zellrasen mit dem jeweiligen serumfreien Medium gespült. Danach wurde ein möglichst geringes Volumen des jeweiligen Erhaltungsmediums auf den Zellrasen gegeben, um diesen dünn zu bedecken. Eine geringe Menge der jeweiligen aufgetauten Virussuspension wurde hinzugegeben und durch vorsichtiges Schwenken verteilt. Die beimpfte Zellkulturflasche wurde im Brutschrank gelagert und bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert.

Der Inkubationsprozess wurde beendet, sobald sich der Zellrasen unter dem Umkehrmikroskop als vollständig durch einen CPE verändert darstellte und somit keine intakte Zellschicht mehr am Boden der Zellkulturflasche sichtbar war. Anschließend wurde die Zellkulturflasche bei -20 °C bis zum Durchfrieren des Inhalts gelagert und nachfolgend mithilfe von warmem Wasser wieder aufgetaut. Durch diesen Prozess wurden verbliebene Zellen zum

Aufplatzen gebracht und die darin enthaltenen Viren freigesetzt. Die Virussuspension wurde in ein Zentrifugenröhrchen überführt und für 15 min bei 400 g_N zentrifugiert. Der Überstand wurde in mehrere Kryoröhrchen aliquotiert und als Virus-Prüfsuspension bei -80 °C bis zur Verwendung gelagert.

4.2.3 Herstellung von Wasser standardisierter Härte

Zur späteren Verdünnung der bioziden Grundchemikalien wurde Wasser standardisierter Härte (WSH) verwendet. Die Rezeptur des WSH richtete sich nach nationalen Richtlinien sowie europäischen Normen (CEN 2020; 2019; DVG 2017a). Für jeden Desinfektionsversuch wurde das WSH an dem jeweiligen Tag frisch hergestellt. Dafür wurden im Vorfeld die Lösungen A und B vorbereitet.

Die Lösung A wurde monatlich frisch hergestellt. Dafür wurden 4,96 g Magnesiumchlorid und 11,56 g Kalziumchlorid in autoklaviertem Reinstwasser aufgelöst und mit diesem in einem Messkolben auf 250 ml aufgefüllt und vermischt. Danach wurde die Lösung durch Membranfiltration sterilisiert und im Kühlschrank gelagert.

Die Lösung B wurde wöchentlich frisch hergestellt. Dafür wurden 8,755 g Natriumhydrogencarbonat in autoklaviertem Reinstwasser aufgelöst und mit diesem in einem Messkolben auf 250 ml aufgefüllt und vermischt. Danach wurde die Lösung durch Membranfiltration sterilisiert und im Kühlschrank gelagert.

Für die Herstellung des WSH am Tag des Desinfektionsversuchs wurden in einem Messzylinder 0,6 ml Lösung A mit 0,8 ml Lösung B vermischt und anschließend mit autoklaviertem Reinstwasser auf 100 ml aufgefüllt. Anschließend wurde der pH-Wert unter Zugabe von 8 bis 10 μl Salzsäure (HCl, 25 %) auf $7,0 \pm 0,2$ eingestellt.

Zur höheren Verdünnung der Grundchemikalien für einzelne Versuche wurde das hergestellte Volumen des WSH auf 250 ml erhöht. Das verwendete Volumen der Lösungen A und B sowie HCl wurden dementsprechend angepasst.

Vor der Verwendung wurde das WSH auf die entsprechende Anwendungstemperatur gebracht. Für eine Anwendungstemperatur unterhalb des Gefrierpunktes bei -10 °C wurden drei Teile WSH mit einem Teil Ethylenglykol versetzt und sorgfältig vermischt (Philipp et al. 2023a).

4.2.4 Herstellung der Belastungssubstanz

Als eiweißhaltige Belastungssubstanz diente eine Rinderserumalbumin-Lösung (BSA). Zur Herstellung dieser wurden 3 g Rinderserumalbuminfraktion V in autoklaviertem Reinstwasser aufgelöst und mit diesem im Messkolben auf 100 ml aufgefüllt, vermischt und anschließend

durch Membranfiltration sterilisiert. Die entstandene Lösung enthielt 30 g BSA pro Liter, was der vorgegebenen Konzentration in den europäischen Normen entsprach (CEN 2020; 2019). Die Lösung wurde im Kühlschrank gelagert und monatlich neu hergestellt.

4.3 Desinfektionsversuche auf Holzkeimträgern

4.3.1 Angewandte Prüfverfahren

Die Desinfektionsprüfungen im Labor orientierten sich an der nationalen Prüfrichtlinie der DVG „Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Viruzidie“ (DVG 2017b), siehe 2.2.3.2, in Kombination mit den aktuellen europäischen Normen „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich auf nicht-porösen Oberflächen - Prüfverfahren und Anforderungen - Phase 2, Stufe 2“ (CEN 2020) und „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)“ (CEN 2019), siehe für beide Letztere 2.2.3.3.

4.3.2 Ablauf der Prüfverfahren

4.3.2.1 Autoklavieren

Zur Schaffung einer sterilen Oberfläche wurden die Holzkeimträger autoklaviert. Dies erfolgte vor dem eigentlichen Keimträgerversuch in Reagenzgläsern mit Stopfen. Dafür wurden die 20 mm x 10 mm großen Keimträger zunächst einmal quer zur Holzmaserung halbiert. Aufgrund des je nach Holzart unterschiedlichen Härtegrads sowie wegen der teils stark ausgeprägten Holzmaserung erfolgte das Halbieren aller Keimträger mit einer Kneifzange. Dies ermöglichte einen gleichmäßigen Druck auf der gesamten Breite des Keimträgers, ohne dabei Materialverlust oder Einrisse zu verursachen.

Die jeweils zusammengehörigen Keimträgerhälften wurden in ein Reagenzglas mit Stopfen überführt und bei 121 °C und 2,8 MPa für 1,5 Stunden autoklaviert. Anschließend wurden die Reagenzgläser in einen Trockenschrank überführt und bei 85 °C für fünf Stunden getrocknet. Falls aufgrund einer unvollständigen Trocknung noch Restflüssigkeit in einem Reagenzglas vorhanden war oder der enthaltene Keimträger optisch als feucht einzuordnen war, wurden diese Reagenzgläser aussortiert und die enthaltenen Keimträgerhälften verworfen.

4.3.2.2 Beimpfung

Das Beimpfen der Keimträger erfolgte mit der Virus-Prüfsuspension aus der Virusvermehrung, versetzt mit der Belastungssubstanz. Ein Viruskryoröhrchen mit EV-E oder NDV wurde der Tiefkühltruhe entnommen und zügig durch Handwärme aufgetaut. Ein Teil der Belastungssubstanz wurde mit neun Teilen der Virus-Prüfsuspension durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren vermischt. Die entstandene Belastung betrug nun 3 g BSA pro Liter Virus-Prüfsuspension, was gemäß den Prüfverfahren einer Verschmutzung niedrigen Grades entspricht.

Mindestens sieben (sechs prüfrelevant + Sicherheitszuschlag) sterile und bereits halbierte Keimträger einer Holzart wurden mit einer sterilen Pinzette in Petrischalen überführt. Dabei wurde darauf geachtet, die zusammengehörigen Hälften noch als solche identifizieren zu können, jedoch ohne direkten Kontakt zwischen den Plättchen herzustellen. Danach wurden jeweils 100 µl Virus-Prüfsuspension mit Belastungssubstanz auf ein Keimträgerpaar (50 µl auf 10 mm x 10 mm) pipettiert und so verteilt, dass die Oberfläche möglichst großflächig benetzt war.

4.3.2.3 Antrocknung

Das Antrocknen der beimpften Keimträger in den offenen Petrischalen erfolgte in einem mit Kieselgel bestückten Exsikkator unter Vakuum (ca. 80 kPa Unterdruck) bei Raumtemperatur. Aufgrund der unterschiedlichen Trocknungszeiten der verschiedenen Hölzer wurden diese in separaten Ansätzen verwendet und die benötigte Trocknungszeit individuell etabliert. Die Antrocknung wurde beendet, sobald mindestens sechs zusammengehörige Keimträgerpaare optisch als trocken zu erkennen waren. Dafür wurde das Vakuum vorsichtig aus dem Exsikkator entlassen und die Petrischalen entnommen. Überzählige sowie nicht vollständig angetrocknete Keimträger wurden aussortiert und verworfen. Die individuelle Trocknungszeit jedes Versuchs wurde aufgezeichnet.

4.3.2.4 Desinfektion

Für die Desinfektion wurden sechs zusammengehörige, angetrocknete Keimträgerpaare mit einer sterilen Pinzette in eine 6-Wellplatte überführt. Dabei wurden die zusammengehörigen Hälften jeweils gemeinsam in einer Vertiefung platziert. Es wurde darauf geachtet, dass kein Kontakt zwischen den beiden Plättchen bestand und die beimpfte Seite jeweils nach oben zeigte. Anschließend wurden die Vertiefungen mit 4 ml einer bioziden Grundchemikalie aufgefüllt. Jede Vertiefung wurde dabei mit einer unterschiedlichen Konzentration befüllt. Die jeweiligen Konzentrationen der bioziden Grundchemikalien wurden am Tag der Testung frisch mit WSH hergestellt und orientierten sich an den Konzentrationsabstufungen der DVG (DVG

2023b). Die Auswahl der Konzentrationen erfolgte anhand von Vorversuchen, damit in der Testung gewährleistet werden konnte, dass der Übergang von einer nicht wirksamen Desinfektion zu einer wirksamen Desinfektion darstellbar war und ggf. zytotoxische Konzentrationen berücksichtigt werden konnten.

Eine Vertiefung der 6-Wellplatte wurde nur mit 4 ml WSH aufgefüllt. Der zugehörige Keimträger ohne Kontakt zu einer verdünnten Grundchemikalie stellte die Grundlage für den späteren Referenztitel dar. Alle Keimträger wurden für eine Stunde bei 10 °C (und teils auch -10 °C) mit der verdünnten bioziden Grundchemikalie bzw. nur WSH (Kontrolle) in einem Klimaschrank inkubiert. Während dieser Einwirkzeit wurden Luftfeuchte, CO₂-Gehalt, Temperatur und Luftdruck aufgezeichnet.

4.3.2.5 Neutralisation und Desorption

Nach dem Ablauf der Einwirkzeit wurden die Keimträger mit sterilen Pinzetten aus der bioziden Grundchemikalie bzw. dem WSH entnommen. Zur Neutralisation der viruziden Wirkung der Grundchemikalien wurden die Holzplättchen in Zentrifugenröhrchen mit 9,9 ml des jeweiligen Erhaltungsmediums überführt. Dabei wurden die bereits halbierten Keimträger entlang ihrer Holzmaserung mit einer sterilen Schere in vier Teile zerteilt. Somit wurde der ursprüngliche Keimträger nun in acht Teile zerteilt. Nach jedem Keimträgerpaar wurden Pinzette und Schere gewechselt, um weder Viren noch Rückstände von einer höheren Desinfektionsmittelkonzentration auf andere Keimträger zu übertragen. Zur Desorption der Viren wurden die Holzstreifen in den Zentrifugenröhrchen mit dem jeweiligen Erhaltungsmedium durch ein Schüttelgerät aufgewirbelt und anschließend für 10 min in einem mit Eiswasser gefüllten Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurden die Proben für 15 min bei 1.600 g_N zentrifugiert, um feine Holzbestandteile und -fasern absinken zu lassen. Durch diesen Arbeitsschritt ergab sich eine Verdünnung der ursprünglich eingesetzten Virus-Prüfsuspension mit Belastungssubstanz von 1:100 (10⁻²).

4.3.2.6 Titration und Inkubation

Für die Titration einer Probe wurde jeweils eine halbe 96-Wellplatte im Querformat verwendet (siehe Abbildung 2). Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden mit 180 µl des jeweiligen Erhaltungsmediums befüllt, wobei die oberste Reihe unbefüllt blieb. Mit einer serologischen Pipette wurden mindestens 120 µl Probenflüssigkeit der Zentrifugenröhrchen in jeweils sechs Vertiefungen dieser obersten Reihe überführt. 20 µl aus dieser Reihe wurden in die nächste Verdünnungsreihe titriert, und anschließend wurde die Verdünnung mindestens zehnmals durch Auf- und Abpipettieren durchmischt. Somit betrug der Verdünnungsschritt 1:10. Anschließend erfolgte ein Pipettenspitzenwechsel, um Verdünnungsfehler zu vermeiden.

Diese Schritte wurden mit weiteren 1:10 Verdünnungen wiederholt, bis zu einer Gesamtvirusverdünnung von 10^{-8} in der vorletzten Reihe der Titrationsplatte. In die unterste Reihe der Titrationsplatte wurde keine Virusverdünnung überführt.

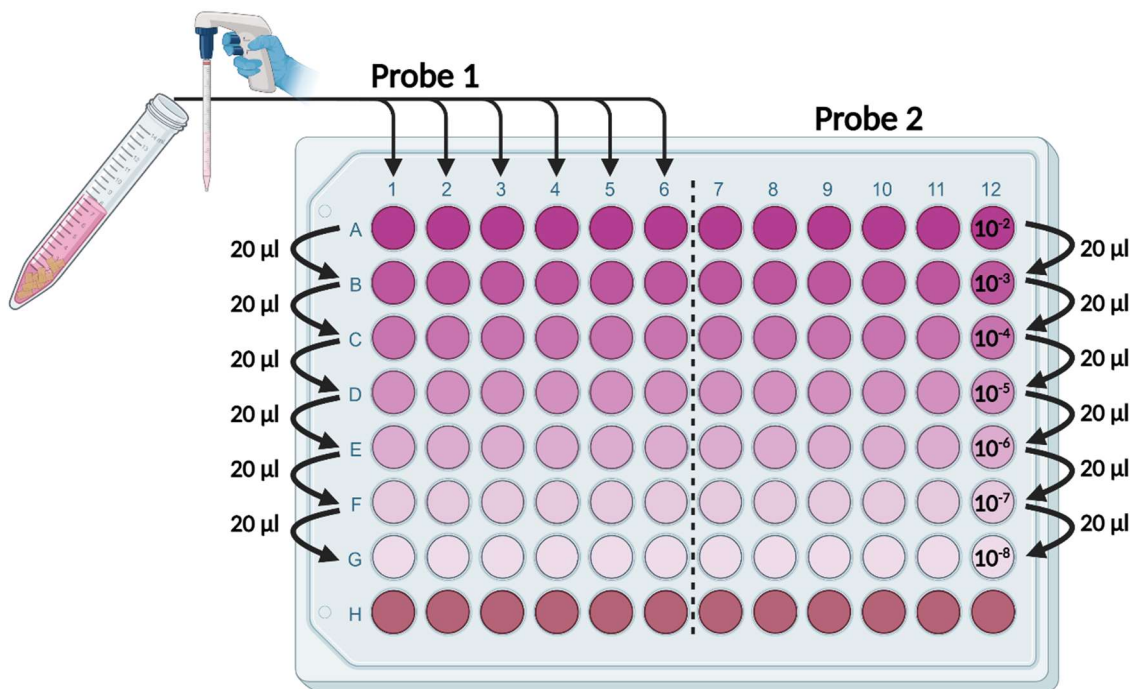


Abbildung 2: Titrationsschema auf einer 96-Wellplatte

Abbildung erstellt mit Biorender.com

Für die Inkubation einer Proben titration (sechs Vertiefungen mit den zugehörigen Verdünnungen) wurde jeweils eine halbe, mit MDBK- bzw. LMH-Zellen bewachsene 96-Wellplatte im Querformat verwendet. Aus jeder Vertiefung der Titrationsplatte wurden $100\ \mu\text{l}$ der Virustitration auf die Zellkulturplatte überführt. Vor dem Übertrag wurden die Zellkulturplatten unter dem Umkehrmikroskop auf ihre Konfluenz begutachtet und das Wachstumsmedium von den Zellen dekantiert. Das anschließende Überführen der jeweiligen verdünnten Probenflüssigkeit, beginnend mit der untersten Reihe der Titrationsplatte, erfolgte ohne einen Pipettenspitzenwechsel, da es sich um eine aufsteigende Verdünnungsreihe handelte. Die beimpften Zellkulturen wurden bei $37\ ^\circ\text{C}$ und $5\ \%$ CO_2 bis zur Auswertung im Brutschrank inkubiert.

4.3.2.7 Auswertung

Die Auswertung der Desinfektionsversuche auf den Mikrotiterplatten erfolgte für das EV-E sechs Tage und für das NDV fünf Tage nach dem Beimpfen der Zellkulturplatten. Unter dem Umkehrmikroskop wurde begutachtet, in wie vielen Vertiefungen innerhalb jeder Verdünnungsreihe der verschiedenen Proben der Zellrasen noch erhalten war oder durch

einen virusspezifischen CPE zerstört wurde. Die Zellen der Vertiefungen in der jeweils untersten Reihe ohne Zugabe einer Virustitration dienten als Zellkontrolle bzw. Negativkontrolle.

Die Berechnung des Virustiters erfolgte mit der Formel nach Spearman-Kärber (Kärber 1931; Spearman 1908).

$$m = x_k + d/2 - d \sum p_i$$

Dabei ist:

m der negative dekadische Logarithmus des Titers auf Basis des Prüfvolumens in den Vertiefungen, Angabe in $\log \text{KID}_{50}/\text{Volumen}$

x_k der Logarithmuswert der niedrigsten Verdünnungsstufe, bei dem alle Vertiefungen einer Verdünnungsreihe einen CPE aufweisen

d der Logarithmuswert des Verdünnungsfaktors

p_i die beobachtete Reaktionsrate

$\sum p_i$ die Summe der Reaktionsrate von x_k bis zur höchsten Verdünnungsstufe

Die rechnerische Nachweisgrenze des Verfahrens, bei dem alle Vertiefungen der niedrigsten Verdünnungsstufe einen CPE aufwiesen, lag bei der Verwendung von 100 μl Testflüssigkeit je Vertiefung und einer Initialverdünnung von 1:100 (10^{-2}) im Zentrifugenröhrchen als auch in der obersten Reihe der Titrationsverdünnung bei 3,5 $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Unter der Annahme, dass in vorgenannter Verdünnungsstufe keine Vertiefung einen virusspezifischen CPE aufzeigte, wurde der Virustiter mit $\leq 2,5 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ angesetzt. Der Titer wurde mit \leq angegeben, da nur angenommen wurde, dass die rechnerisch nächstniedrigere Verdünnungsstufe einen CPE in allen Vertiefungen aufgewiesen hätte. Dies traf auch zu, sofern die niedrigste Verdünnungsstufe nur in einem Teil der Vertiefungen einen CPE aufwies.

Um die Virusreduktion der jeweiligen Konzentration der bioziden Grundchemikalie zu berechnen, wurde der jeweilige Logarithmuswert des Testtiters vom Logarithmuswert des Referenztiters der Viruskontrolle abgezogen. Dieser Referenztiter wurde auf Grundlage des Keimträgers berechnet, welcher über die Einwirkzeit in WSH lag. Sofern der Testtiter unterhalb der rechnerischen Nachweisgrenze lag, wurde das berechnete Titerreduktionsergebnis mit \geq der ermittelten Reduktion angesetzt.

Der Prüfversuch wurde als erfolgreich gewertet, wenn durch die unterschiedlichen Konzentrationsabstufungen der bioziden Grundchemikalie der Übergang von einer nicht wirksamen Desinfektion zu einer wirksamen Desinfektion dargestellt werden konnte. Als eine

wirksame Desinfektion wurde hierbei die Reduktion des Keimgehalts um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen angesehen. Somit betrug der minimal benötigte Referenztitel der Probe im WSH $6,5 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$. Die jeweilige Testung wurde in drei Ansätzen an verschiedenen Tagen durchgeführt bzw. wiederholt. Die jeweils höchste notwendige Konzentration der Grundchemikalie der drei erfolgreichen Ansätze (Titerreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen darstellbar) wurde konservativ als die endgültig wirksame Konzentration der jeweiligen Grundchemikalie definiert.

Für Prüfansätze, bei denen eine Reduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen aufgrund von Zytotoxizität oder eines zu geringen Referenztiters nicht darstellbar war (geprüft durch Vorversuche), wurde auf eine erweiterte Methode zurückgegriffen.

4.3.2.8 Erweiterte Methoden

4.3.2.8.1 Reduktion der Zytotoxizität

Einige Konzentrationen der bioziden Grundchemikalien lösten nach den Arbeitsschritten der Neutralisation, Desorption und Titration noch zytotoxische Effekte auf den Zellkulturen aus. Diese zytotoxisch wirkenden Konzentrationen wurden über Vortests identifiziert. Da die zytotoxischen Effekte auf den Zellkulturen dem CPE der Viren ähnelten, konnten bestimmte Titrationsverdünnungen nicht mehr gemäß der Methodik unter 4.3.2.6 ausgewertet werden. Um die Zytotoxizität um eine dekadische Logarithmusstufe zu reduzieren und so schwach zytotoxisch wirkende Titrationsverdünnungen noch sicher auswerten zu können, wurde folgende Methode genutzt:

Diejenigen schwach zytotoxisch wirkenden Titrationsverdünnungen aus der jeweiligen Reihe der Titrationsplatte (Abbildung 2) wurden nicht auf eine 96-Well-Zellkulturplatte überführt, sondern in jeweils sechs Vertiefungen einer konfluent bewachsenen 12-Well-Zellkulturplatte. Vor dem Übertrag wurden die Mikrotiterplatten unter dem Umkehrmikroskop auf ihre Konfluenz geprüft. Danach wurde das Wachstumsmedium von den Zellen dekantiert, die Vertiefungen mit 900 μl des jeweiligen Erhaltungsmediums vorbefüllt und anschließend 100 μl der theoretisch schwach zytotoxisch wirkenden Titrationsverdünnung hinzugegeben. Die Zytotoxizität wurde somit um den Faktor 10 reduziert, bei gleichbleibender Virusmenge. Die beimpften Zellkulturplatten wurden bei 37 °C und 5 % CO_2 bis zur Auswertung inkubiert. Die Auswertung erfolgte zusammen mit den beimpften 96-Wellplatten.

4.3.2.8.2 Absenken der Nachweisgrenze

Aufgrund hoher Virustiterverluste bei der Verwendung bestimmter Keimträger war die Darstellbarkeit der Reduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen nicht mehr

gewährleistet. Dieser Effekt des hohen Titerverlusts war auch bereits beim Referenzkeimträger ohne Desinfektionsmittelzusatz erkennbar. Um dennoch eine wirksame Desinfektion nachweisen zu können, wurde durch folgende Methode die Nachweisgrenze um eine dekadische Logarithmusstufe herabgesetzt:

Zusätzlich zum normalen Verfahren der Titration und Auswertung wurde ein größeres Probenvolumen untersucht. Hierfür wurde Probenflüssigkeit direkt aus den Zentrifugenröhrchen entnommen und jeweils 1 ml in sechs Vertiefungen einer konfluent bewachsenen 12-Well-Zellkulturplatte überführt. Vor dem Übertrag wurden die Mikrotiterplatten unter dem Umkehrmikroskop auf einen konfluenten Bewuchs geprüft. Danach wurde das Wachstumsmedium von den Zellen dekantiert und die Prüfsuspension auf den Zellrasen überführt. Durch die Verzehnfachung des Probenvolumens und damit verbunden der Virusmenge verringerte sich die Nachweisgrenze des Verfahrens sowie in dem Zusammenhang auch der minimal benötigte Referenztiter der Probe im WSH um eine dekadische Logarithmusstufe. Die beimpften Zellkulturplatten wurden bei 37 °C und 5 % CO₂ bis zur Auswertung inkubiert. Die Auswertung erfolgte zusätzlich zu den beimpften 96-Wellplatten. Der erweiterte Ansatz war nur mit niedrigen Konzentrationen der Grundchemikalien durchführbar, welche keine Zytotoxizität aufwiesen.

4.4 Langzeitbeobachtungen

Um die biozide Wirkung der verschiedenen Keimträger an sich zu bestimmen, wurden Langzeitbeobachtungen zur Tenazität durchgeführt. Diese erfolgten ohne den Einsatz eines Desinfektionsmittels bzw. einer Grundchemikalie. Die Methodik richtete sich wie in den Desinfektionsversuchen nach den gängigen Prüfrichtlinien und Normen unter 4.3.1.

Als Ausgangsmaterial wurde neben den fünf Holzkeimträgern noch ein Keimträger aus Stahl in die Testung mit einbezogen. Die Vorbehandlung der Holzkeimträger erfolgte identisch wie unter 4.3.2.1 beschrieben. Die Stahlkeimträger wurden vor der Verwendung für eine Stunde in eine Tensidlösung (Decon 90®, 5 %) gegeben und dadurch gereinigt. Anschließend wurden die Plättchen mehrfach mit demineralisiertem Wasser abgespült und danach entfettet. Für diesen Prozess wurden die Stahlplättchen für 15 min in 2-Propanol gegeben und nochmals mit demineralisiertem Wasser abgespült. Das nachfolgende Autoklavieren und Trocknen erfolgte identisch zu den Holzkeimträgern, jedoch ohne den Stahlkeimträger zu halbieren.

Für einen Langzeitversuch wurden 27 Keimträger je Holzart sowie 54 Stahlkeimträger (zwei verschiedene Ansätze mit je 27 Keimträgern) verwendet. Die Auswertung erfolgte zu neun unterschiedlichen Testzeitpunkten. An jedem Testzeitpunkt wurden jeweils 3 der 27 Keimträger aus dem Versuch entnommen und bewertet.

Das Beimpfen der verschiedenen Keimträger erfolgte, wie unter 4.3.2.2 beschrieben, mit EV-E oder NDV, wobei die Stahlkeimträger mit jeweils 100 µl Virus-Prüfsuspension mit Belastungssubstanz beimpft wurden. Jede Keimträgerart lag auf separaten und sterilen Unterlagen ohne Abdeckung. Das nachfolgende Antrocknen der beimpften Holzkeimträger sowie der einen Hälfte der Stahlkeimträger (im Folgenden: „Stahl“) erfolgte zusammen im Exsikkator, welcher mit Kieselgel bestückt war. Der verschlossene Exsikkator wurde dafür für einen Tag Trocknungszeit bei 10 °C im Klimaschrank gelagert. Nach der Trocknung wurden die Keimträger zur Langzeitlagerung in die Vertiefungen von 6-Wellplatten mit Deckel überführt und diese im Klimaschrank bei 10 °C gelagert.

Zusätzlich wurde die zweite Hälfte der Stahlkeimträger (im Folgenden: „Stahl*“) aufgrund der Inkubationsbedingungen mit einem anderen Verfahren behandelt. Hierbei wurden die beimpften Stahlkeimträger im Exsikkator, welcher mit Kieselgel bestückt war, unter Vakuum (ca. 80 kPa Unterdruck) bei Raumtemperatur vollständig getrocknet. Danach wurden diese Keimträger ebenfalls in die Vertiefungen von 6-Wellplatten mit Deckel überführt. Die Zwischenräume und ungenutzten Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden mit Kieselgel befüllt. Nachfolgend wurden die Platten mit einer Verschlussfolie sowie selbstklebender Aluminiumfolie möglichst luftdicht versiegelt. Die Langzeitlagerung erfolgte zusammen mit den unversiegelten 6-Wellplatten im Klimaschrank bei 10 °C.

Über Vorversuche wurden die Gesamtdauer und die zeitliche Abstufung der Langzeitbeobachtungen für das jeweilige Testvirus festgelegt. Die Virusrückgewinnung von den Keimträgern zum jeweiligen Testzeitpunkt sowie die Auswertung der Versuche erfolgten wie unter 4.3.2.5 bis 4.3.2.7 beschrieben. Ebenfalls wurde die unter 4.3.2.8.2 beschriebene erweiterte Methode genutzt, um die Nachweisgrenze bei geringem Restvirusgehalt zu senken. Eine Ausnahme von der Methodik wurde für die Stahlkeimträger angewendet. Diese wurden unzerteilt in das jeweilige Erhaltungsmedium überführt. Die Auswertung erfolgte zu neun Testzeitpunkten jeweils im Dreifachansatz. Dementsprechend wurden für jeden Prüfzeitpunkt drei Keimträger aus dem Versuch entnommen und bewertet.

Die erste Auswertung erfolgte am Tag des Umsetzens der Keimträger aus dem Exsikkator in die 6-Wellplatten bzw. am Tag nachdem die Stahlkeimträger (Stahl*) versiegelt wurden. Dieser Tag wurde als der Tag der Trocknung bzw. Tag „Null“ der Versuche definiert. Für EV-E erfolgte die weitere Auswertung im 7-Tage-Rhythmus nach der Trocknung bzw. zu späteren Auswertezeitpunkten im 14-Tage- oder 28-Tage-Abstand. Für NDV erfolgte die Auswertung im 5-Tage-Rhythmus nach dem Tag der Trocknung. Zusätzlich erfolgte bei beiden Prüfansätzen eine Auswertung drei Tage nach der Trocknung, um die Titerverluste zu Beginn des Prüfzeitraums genauer zu erfassen.

Die Berechnung der Virusreduktion erfolgte im Kontrast zum Initialtiter in Suspension. Zur Ermittlung des Initialtiters wurden im Dreifachansatz je 100 µl der in den Langzeitbeobachtungen verwendeten Virus-Prüfsuspension mit Belastungssubstanz direkt in 9,9 ml Erhaltungsmedium aufgenommen und anschließend, wie unter 4.3.2.6 bis 4.3.2.7 beschrieben, titriert und ausgewertet. Für jeden Prüfzeitpunkt in den Langzeitbeobachtungen wurde die durchschnittliche Virusreduktion des Dreifachansatzes auf Grundlage der Logarithmuswerte berechnet und bewertet.

4.5 Statistik und Darstellung

Zur Prüfung auf statistisch signifikante Unterschiede der Ergebnisse wurde die Software R Version 4.3.1 für Windows verwendet.

Für den statistischen Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit wurden aufgrund der begrenzten Anzahl der Datenpunkte die Werte konservativ als nicht normalverteilt angenommen. Entsprechend wurde mit nicht-parametrischen Testverfahren gearbeitet.

Bei der Analyse der wirksamen Konzentrationen der Desinfektionsversuche wurden für den Vergleich von nur jeweils zwei Gruppen der Mann-Whitney-U-Test angewendet, während der Kruskal-Wallis-Test bei dem Vergleich von mehr als zwei Gruppen zum Einsatz kam. Letzterer Test wurde auch verwendet, um die jeweiligen Trocknungszeiten miteinander zu vergleichen.

Der statistische Vergleich der Titerreduktionen in den Langzeitbeobachtungen sowie der Titerverluste durch Aufbringen, Antrocknung und Desorption, im Vorfeld der eigentlichen Desinfektionsversuche erfolgte jeweils mit den Logarithmuswerten der Ergebnisse. Der Kruskal-Wallis-Test wurde hier ebenfalls als Prüftest verwendet.

Als Signifikanzniveau für nachzuweisende Unterschiede aller statischen Prüfungen wurde ein p -Wert von 0.05 definiert.

Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit der Software Graphpad Prism Version 9.0.0 für Windows.

5. Ergebnisse

5.1 Visualisierung des zytopathischen Effektes

Zur Visualisierung des zytopathischen Effektes wurden die Zellkulturen digital fotografiert. Die Abbildungen stellen jeweils den nativen Zellrasen (Abbildung 3 und Abbildung 6), die beginnende Lyse (Abbildung 4 und Abbildung 7) sowie den komplett lysierten Zellrasen mit dem virusspezifischen CPE (Abbildung 5 und Abbildung 8) dar. Für die Aufnahmen wurden Zellkulturen in einer 12-Wellplatte verwendet, bei einer 10x Vergrößerung.



Abbildung 3: Native MDBK-Zellen

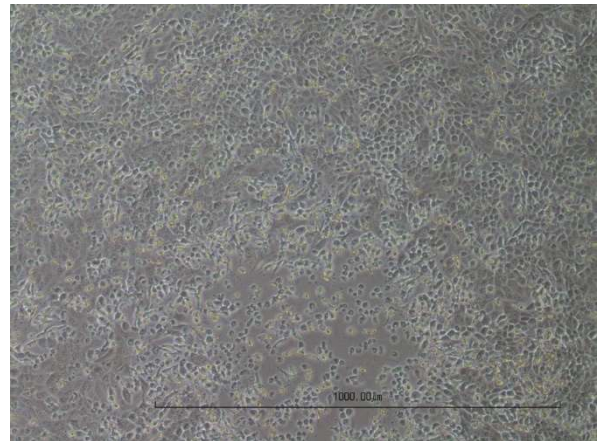


Abbildung 4: Beginnende Lyse der MDBK-Zellen nach Infektion mit EV-E

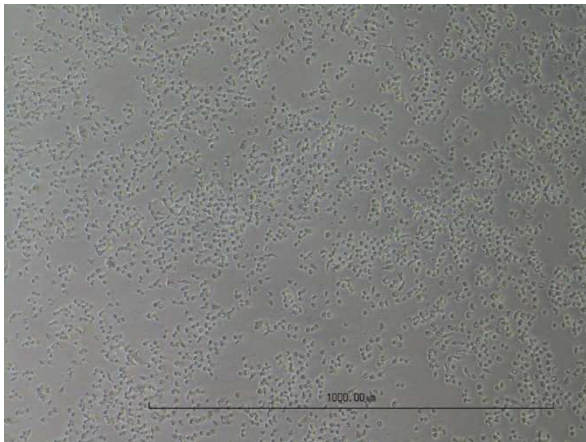


Abbildung 5: Vollständig lysierte MDBK-Zellen nach Infektion mit EV-E



Abbildung 6: Native LMH-Zellen

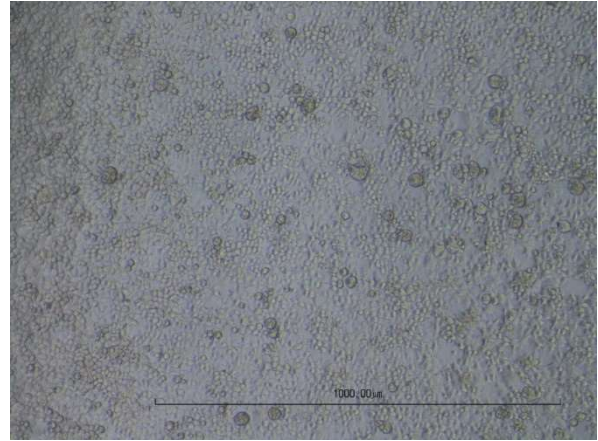


Abbildung 7: Beginnende Lyse der LMH-Zellen nach Infektion mit NDV, mit einzelnen Riesenzellen

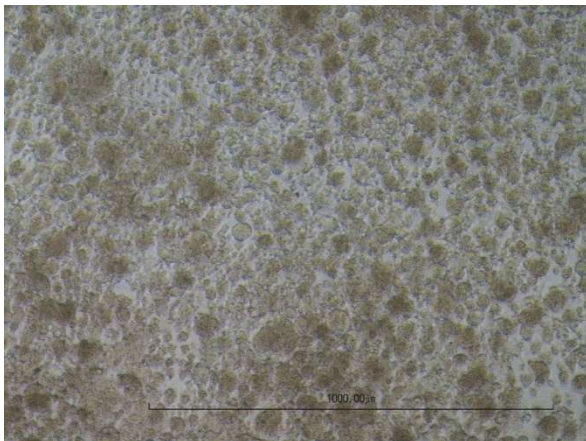


Abbildung 8: Vollständig lysierte LMH-Zellen nach Infektion mit NDV, deutliche Riesenzellbildung

5.2 Parameter des Versuchsablaufs

Durch die unterschiedlichen Charakteristika der verschiedenen Hölzer ergaben sich in den Desinfektionsversuchen Unterschiede in der jeweiligen Trocknungszeit (Abbildung 9) und im Trocknungsverhalten der Hölzer. Hinsichtlich der Trocknungszeit stellten sich die beiden Laubhölzer als eher schnell trocknend dar. Im Durchschnitt benötigte Pappelholz 30 min und Buchenholz 44 min, um zu trocknen. Die Nadelhölzer zeigten dagegen eine deutlich längere Trocknungszeit. Kiefernholz benötigte durchschnittlich 72 min bis zur Trocknung, Fichtenholz 85 min und Douglasienholz 109 min. Die Trocknungszeiten der unterschiedlichen Holzarten wiesen statistisch signifikante Unterschiede auf (p -Wert: < 0.0001). Das Trocknungsverhalten der verschiedenen Hölzer zeigte, dass beim Pappelholz konsistent alle Keimträger nach der

Trocknungszeit angetrocknet waren. Bei den anderen Hölzern waren jeweils mehrere (20 % bis 40 %) Keimträger nach der individuellen Trocknungszeit optisch noch als feucht einzustufen. Letztere konnten vom weiteren Versuchsablauf ausgeschlossen werden, da der Versuch mit einem Sicherheitsüberhang an Keimträgern begonnen wurde.

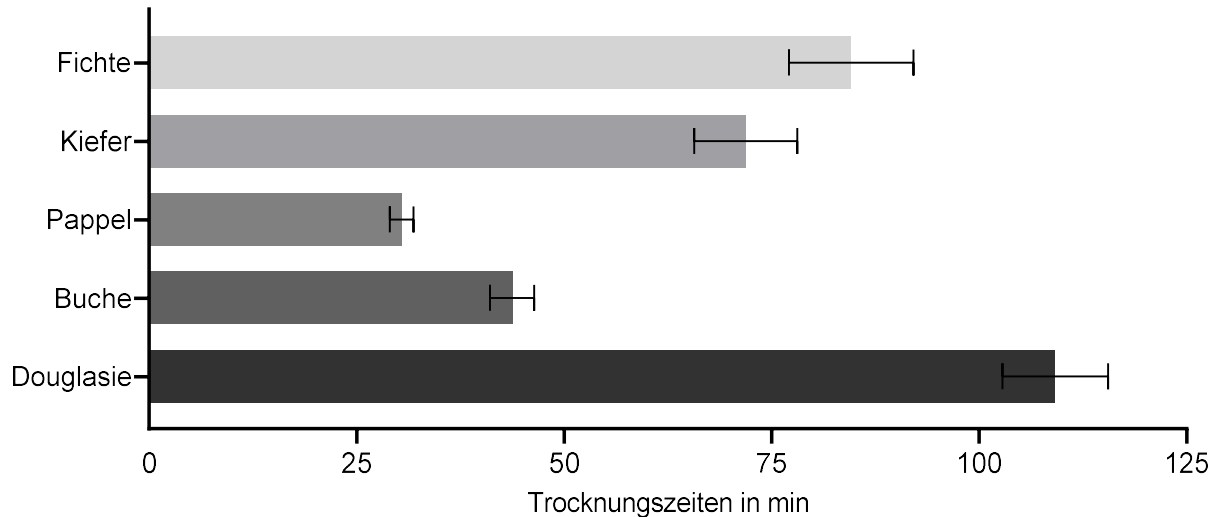


Abbildung 9: Durchschnittliche Trocknungszeiten der Hölzer im Exsikkator unter Vakuum bei Raumtemperatur mit Standardabweichungen

In Abhängigkeit von der Holzart zeigten sich unterschiedlich ausgeprägte Virustiterverluste, die durch Aufbringen, Antrocknung und Desorption vom Keimträger entstanden sind (Abbildung 10). Die Verluste wurden durch die Differenz zwischen dem Logarithmuswert des Initialtiters mit Belastungssubstanz aus der jeweiligen Virusvermehrung und dem Logarithmuswert des Referenztiters (Keimträger in WSH) ersichtlich. Der Titer einer Virusvermehrung wurde dabei in Suspension wie unter 4.4 beschrieben bestimmt. Der durchschnittliche Virustiterverlust, unabhängig von Holzart, Prüfvirus und Prüftemperatur, lag bei $0,88 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$. Bei der Prüftemperatur von $10 \text{ }^\circ\text{C}$ zeigten sich zwischen den jeweiligen Holzarten signifikante Unterschiede, sowohl für das EV-E (p -Wert: < 0.001) als auch für das NDV (p -Wert: < 0.01). Bei dem EV-E und der Prüftemperatur von $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ fielen die Ergebnisse nach Holzart nicht signifikant verschieden aus (p -Wert: 0.09).

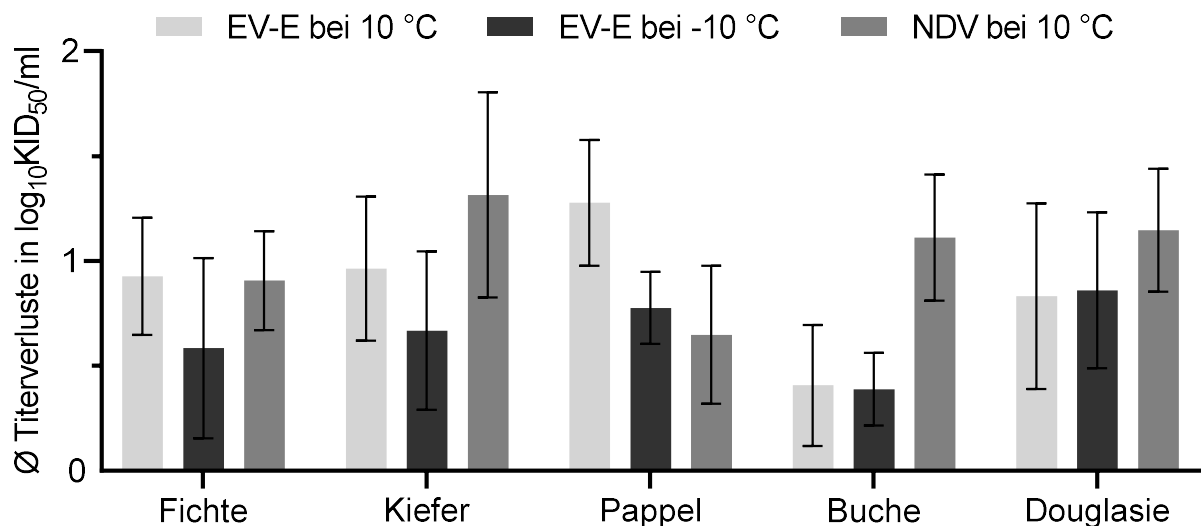


Abbildung 10: Durchschnittliche Titerverluste des Referenztiters zum Initialtiter in Suspension mit Standardabweichungen

Während der Einwirkzeit des Desinfektionsmittels wurden die Klimawerte im Klimaschrank kontinuierlich aufgezeichnet. Für die Testungen bei 10 °C ergaben die Messungen folgende Durchschnittswerte: Temperatur: 10 °C, relative Luftfeuchtigkeit: 89 %, CO₂-Konzentration: 447 ppm, Luftdruck: 1013 hPa. Die Durchschnittswerte für die Testungen bei -10 °C betragen: Temperatur: -9,5 °C, relative Luftfeuchtigkeit: 72,5 %, CO₂-Konzentration: 398,6 ppm, Luftdruck: 1016,1 hPa. Die Klimaparameter für die Langzeitversuche bei 10 °C entsprachen jenen der Desinfektionsmitteltestung.

5.3 Desinfektionsversuche

5.3.1 Keimträgerversuche mit Peressigsäure bei 10 °C

Die Peressigsäure erwies sich als wirksam gegenüber beiden viralen Erregern, zudem war eine erfolgreiche Desinfektion auf allen getesteten Holzarten möglich. EV-E zeigte dabei eine höhere Desinfektionsmittelresistenz als NDV, was sich in höheren erforderlichen Konzentrationen der Peressigsäure manifestierte. Unabhängig von der Holzart gab es in den wirksamen Konzentrationen zwischen den beiden Viren einen statistisch signifikanten Unterschied (p -Wert: < 0.0001).

Für das EV-E als Surrogatvirus für die unbehüllten Viren ergaben sich für eine wirksame Desinfektion auf den Holzoberflächen erforderliche Konzentrationen der Peressigsäure von 0,025 % bis 0,1 % (Abbildung 11). Bezüglich der höchsten wirksamen Konzentration der jeweils drei Wiederholungen (endgültige Konzentration), die konservativ als entsprechendes Ergebnis des Versuchsansatzes gewertet wurde, stellten sich Kiefer und Pappel mit jeweils 0,05 % des Peroxids als die Hölzer dar, welche die niedrigsten erforderlichen Konzentrationen

der Grundchemikalie benötigten. Die anderen Holzarten lagen knapp über diesen Werten mit 0,075 % für Fichte und Buche sowie 0,1 % für Douglasie. Die ermittelten Konzentrationen für die unterschiedlichen Holzarten waren nicht signifikant verschieden (p -Wert: 0.10). Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 bis Tabelle 10 auf den Seiten 93 bis 95 dargestellt.

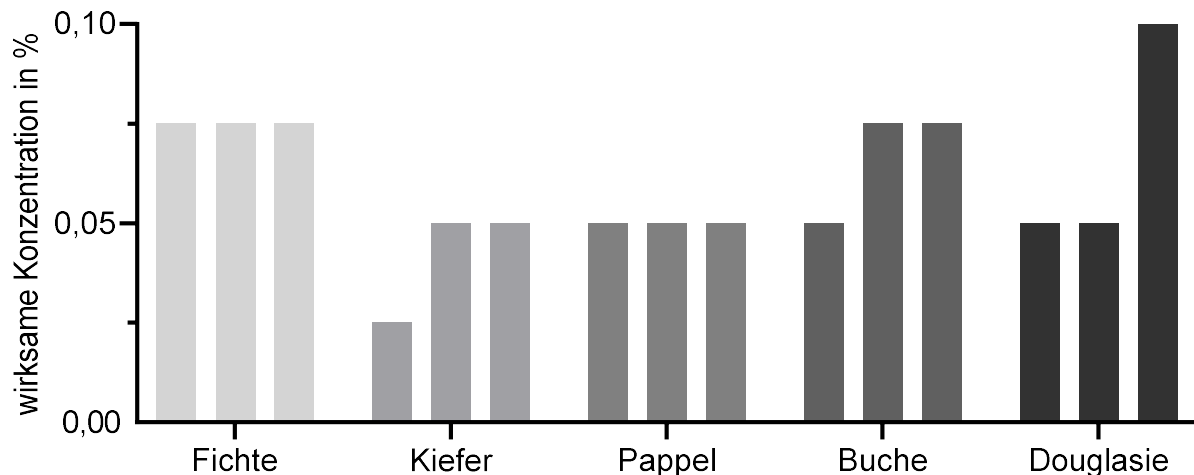


Abbildung 11: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

Für das NDV als Surrogatvirus für die behüllten Viren ergab sich eine Spanne der Konzentrationen von 0,001 % bis 0,025 % des Peroxids, die für eine wirksame Desinfektion erforderlich war (Abbildung 12). Kiefer stellte sich als diejenige Holzart dar, welche mit einer endgültigen Konzentration von 0,0025 % Peressigsäure die niedrigste Konzentration der Reinsubstanz für eine wirksame Desinfektion benötigte. Zur Kompensation des niedrigen Referenztiters der Versuche mit Kiefernholz wurde die unter 4.3.2.8.2 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Weiterhin wurde für diese Versuche mit Kiefer das hergestellte Volumen des WSH auf 250 ml erhöht, um die erforderlichen, sehr hohen Verdünnungen der Peressigsäure etablieren zu können. Die anderen Hölzer benötigten in den endgültigen Ergebnissen für eine wirksame Desinfektion höhere Konzentrationen der Grundchemikalie mit 0,01 % für Fichte und 0,025 % für Pappel, Buche und Douglasie. In den ermittelten Konzentrationen für das behüllte Virus ergaben sich signifikante Unterschiede (p -Wert: < 0.05) zwischen den Holzarten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 bis Tabelle 15 auf den Seiten 95 bis 97 dargestellt.

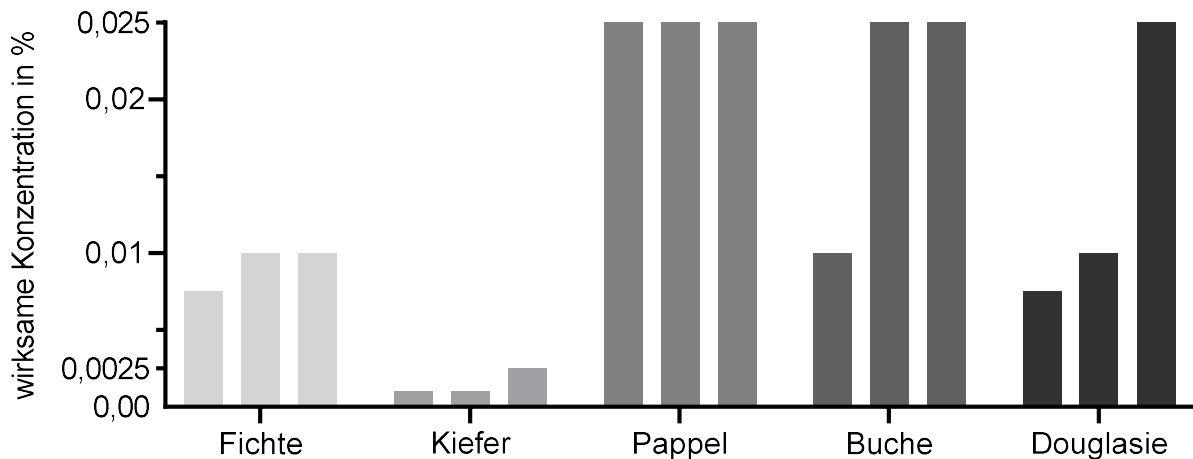


Abbildung 12: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

5.3.2 Keimträgerversuche mit Ameisensäure bei 10 °C

Die Ameisensäure erwies sich ebenfalls bei beiden viralen Erregern und allen geprüften Holzarten als wirksam. Die Desinfektionsmittelsensibilität der beiden Viren lag teilweise nahe beieinander. Für Fichte, Kiefer und Pappel stellte sich das EV-E als das Virus dar, welches die höheren Konzentrationen benötigte. Bei Buche war dies für das NDV der Fall. Für Douglasie ergaben sich ähnliche Werte beider Viren. Unabhängig von der Holzart gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied (p -Wert: 0.07) in den wirksamen Konzentrationen zwischen den beiden Viren.

Für das unbehüllte EV-E reichten die erforderlichen Konzentrationswerte für eine Keimreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen auf den verschiedenen Hölzern von 0,75 % bis 1,5 % der organischen Säure (Abbildung 13). Die Douglasie stellte sich hierbei als das Holz dar, welches mit 0,75 % die geringste Konzentration der Ameisensäure für die letztendlich wirksame Desinfektion benötigte. Kiefer und Buche lagen mit 1 % knapp darüber, ebenso wie Fichte und Pappel mit 1,5 %. Die ermittelten erforderlichen Konzentrationen für eine wirksame Desinfektion für das EV-E zeigten zwischen den unterschiedlichen Holzarten knapp keine signifikanten Unterschiede (p -Wert: 0.055). Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 bis Tabelle 20 auf den Seiten 98 bis 100 dargestellt.

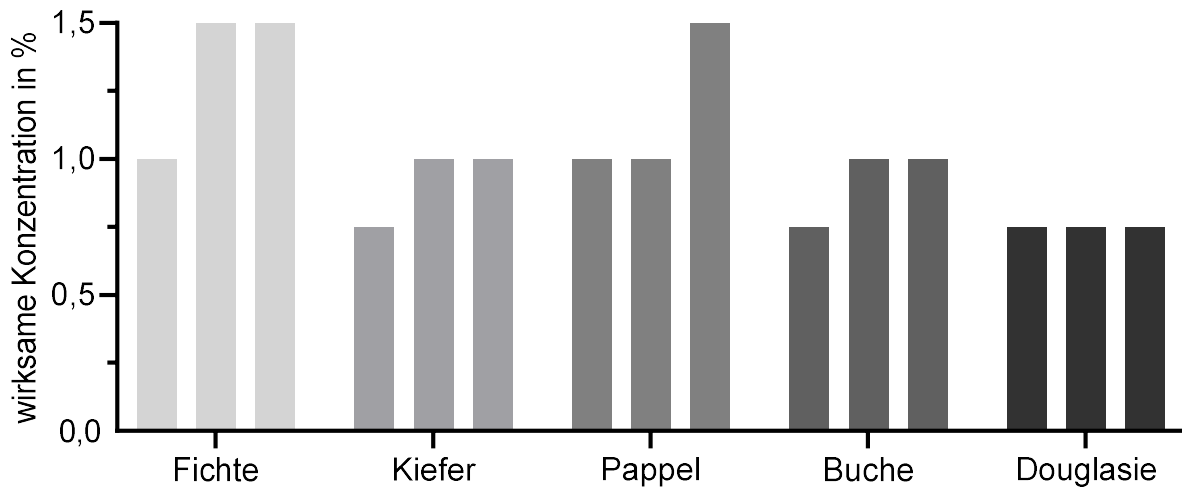


Abbildung 13: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

Für das behüllte NDV ergab sich eine Konzentrationsspanne von 0,25 % bis 2 % der Konzentrationen der Grundchemikalie, welche für eine wirksame Desinfektion erforderlich war (Abbildung 14). Allgemein wurde ersichtlich, dass die Nadelhölzer geringere Konzentrationen der Ameisensäure als die Laubhölzer benötigten. Das beste bzw. niedrigste Ergebnis der jeweils dreifachen Ausführung (endgültige Konzentration) ergaben die Versuche auf Kiefer mit einer Konzentration von 0,25 % Ameisensäure. Wie auch bei der Peressigsäure wurde für das Kiefernholz die unter 4.3.2.8.2 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Die anderen Nadelhölzer benötigten 0,5 % der Grundchemikalie auf Fichte und 0,75 % auf Douglasie. Die Laubhölzer benötigten für eine wirksame Desinfektion bei Pappel eine Konzentration von 1 % und bei Buche von 2 % der Reinsubstanz. Die ermittelten erforderlichen Konzentrationen zwischen den unterschiedlichen Hölzern in den Desinfektionsversuchen waren statistisch signifikant verschieden (p -Wert: < 0.05). Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 bis Tabelle 25 auf den Seiten 100 bis 102 dargestellt.

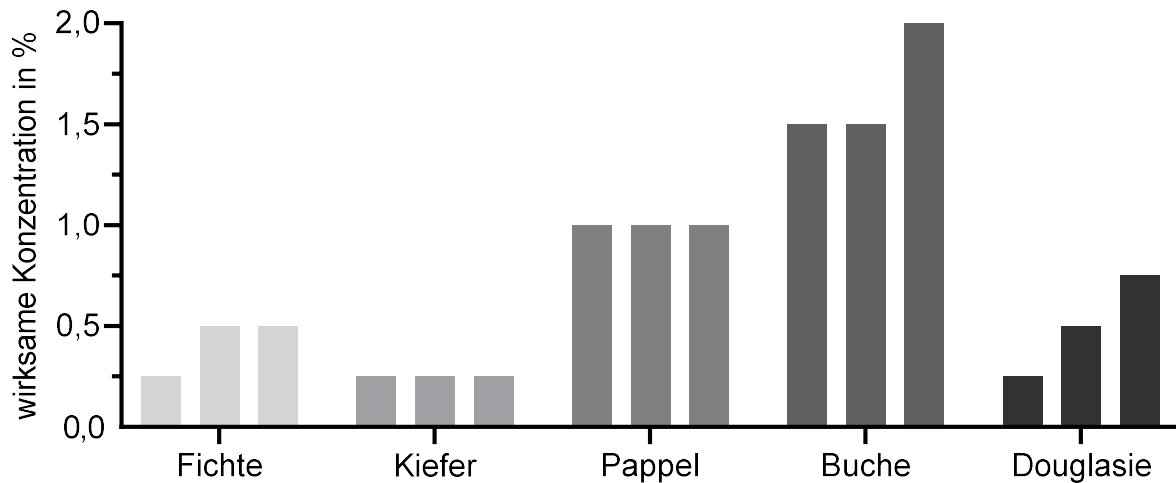


Abbildung 14: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

5.3.3 Keimträgerversuche mit Glutaraldehyd bei 10 °C

Glutaraldehyd zeigte im Gegensatz zu den anderen beiden Grundchemikalien keine allgemeine Wirksamkeit. In den durchgeführten Versuchen wurden die Kriterien für eine wirksame Desinfektion nur für das behüllte Surrogatvirus NDV, nicht jedoch für das unbehüllte Surrogatvirus EV-E erreicht.

Für das EV-E konnte nur eine bedingte Wirksamkeit des Glutaraldehyds festgestellt werden. Eine Erregerreduktion um vier dekadische Logarithmusstufen war in keinem der durchgeführten Versuche zu verzeichnen (Abbildung 15). Untersucht wurden hierbei Konzentrationen von 1 % bis zu 10 % der Reinsubstanz. Unabhängig von der getesteten Holzart war meist nur eine Reduktion um zwei bis drei dekadische Logarithmusstufen im Vergleich zum Referenztitert möglich. Wegen der zytotoxischen Effekte des Glutaraldehyds auf die Zellkultur wurde die unter 4.3.2.8.1 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Die Titerreduktionen auf den verschiedenen Hölzern waren innerhalb der jeweiligen Konzentration nicht signifikant verschieden voneinander (p -Werte: von 0.08 bis 0.86). Die Ergebnisse sind in Tabelle 26 bis Tabelle 30 auf den Seiten 103 bis 105 dargestellt.

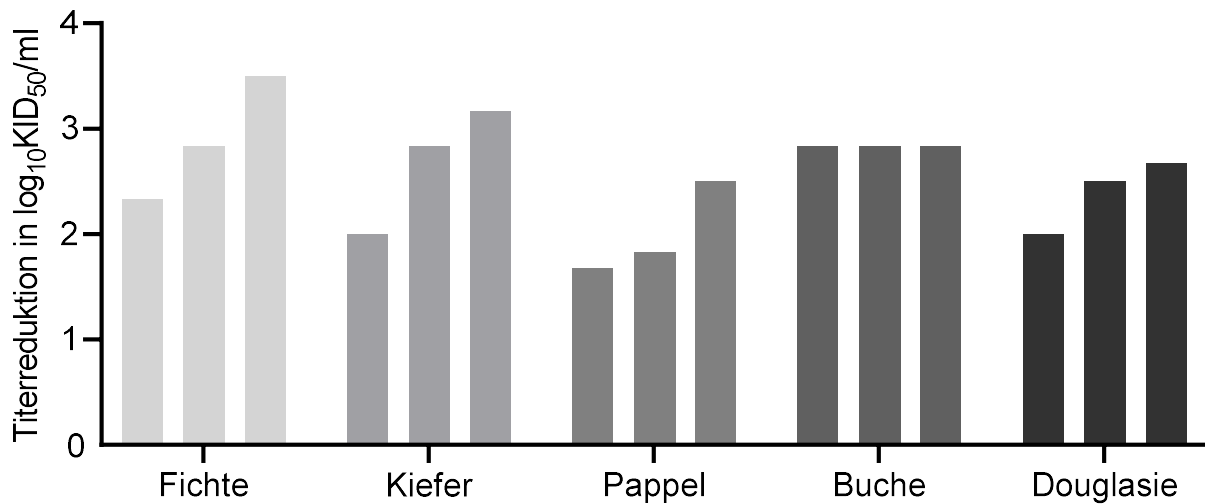


Abbildung 15: Titerreduktion des EV-E durch 10 % Glutaraldehyd bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

Für eine wirksame Desinfektion des NDV ergaben sich Konzentrationswerte von 0,075 % bis 1,5 % des Aldehyds auf den unterschiedlichen Hölzern (Abbildung 16). Wie auch bei der Ameisensäure zeigte sich hier ebenso, dass für eine wirksame Desinfektion auf den Nadelhölzern geringere Konzentrationen erforderlich waren als auf den Laubhölzern. Vor allem auf Kiefernholz erwies sich das Glutaraldehyd mit einer sehr niedrigen endgültigen Konzentration von 0,1 % als wirksam. Wie auch bei der Peressigsäure und Ameisensäure wurde für Kiefernholz die unter 4.3.2.8.2 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Die anderen beiden getesteten Nadelhölzer benötigten in den endgültigen Ergebnissen 0,75 % und die beiden Laubhölzer 1,5 % des Aldehyds. Wegen zytotoxischer Effekte der jeweiligen Glutaraldehydkonzentration auf die Zellkultur wurde bei allen getesteten Holzarten außer der Kiefer die unter 4.3.2.8.1 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Zwischen den verschiedenen Holzarten ergaben sich in den ermittelten Konzentrationen für das behüllte Virus signifikante Unterschiede (p -Wert: < 0.05). Die Ergebnisse sind in Tabelle 31 bis Tabelle 35 auf den Seiten 105 bis 107 dargestellt.

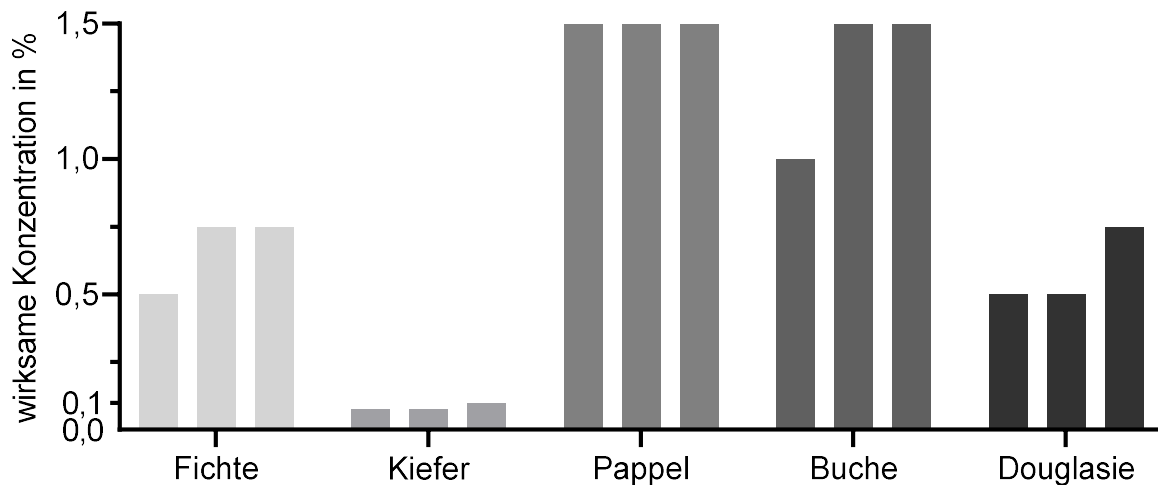


Abbildung 16: Konzentration von Glutaraldehyd für eine wirksame Desinfektion des NDV bei 10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

5.3.4 Keimträgerversuche bei -10 °C

Die Desinfektionsversuche bei -10 °C erfolgten nur für das EV-E, da sich dieses Virus in den Versuchen bei 10 °C unter den genutzten Surrogatviren als das limitierende Virus darstellte. Dies zeigte sich in den jeweils höheren bzw. gleich hohen, benötigten endgültigen Konzentrationen der Grundchemikalien für eine erfolgreiche Desinfektion (mit der Ausnahme von Ameisensäure auf Buchenholz).

Bei der Peressigsäure reichten die erforderlichen Konzentrationen für eine wirksame Desinfektion von 0,25 % bis 0,75 % des Peroxids (Abbildung 17). Die niedrigsten Konzentrationswerte für die endgültig wirksame Desinfektion ergaben sich für Fichtenholz und Pappelholz mit 0,25 % der Reinsubstanz. Danach folgen Kiefer und Douglasie mit jeweils 0,5 % sowie Buche mit 0,75 %. Aufgrund der nun höheren Konzentrationen der Peressigsäure kam es zum Auftreten von zytotoxischen Effekten auf die Zellkultur. Für die zytotoxischen Konzentrationen wurde daher die unter 4.3.2.8.1 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Zwischen den ermittelten Werten für eine erfolgreiche Desinfektion auf den unterschiedlichen Holzarten ergaben sich signifikante Unterschiede (p -Wert: < 0.05). Die Ergebnisse sind in Tabelle 36 bis Tabelle 40 auf den Seiten 108 bis 110 dargestellt.

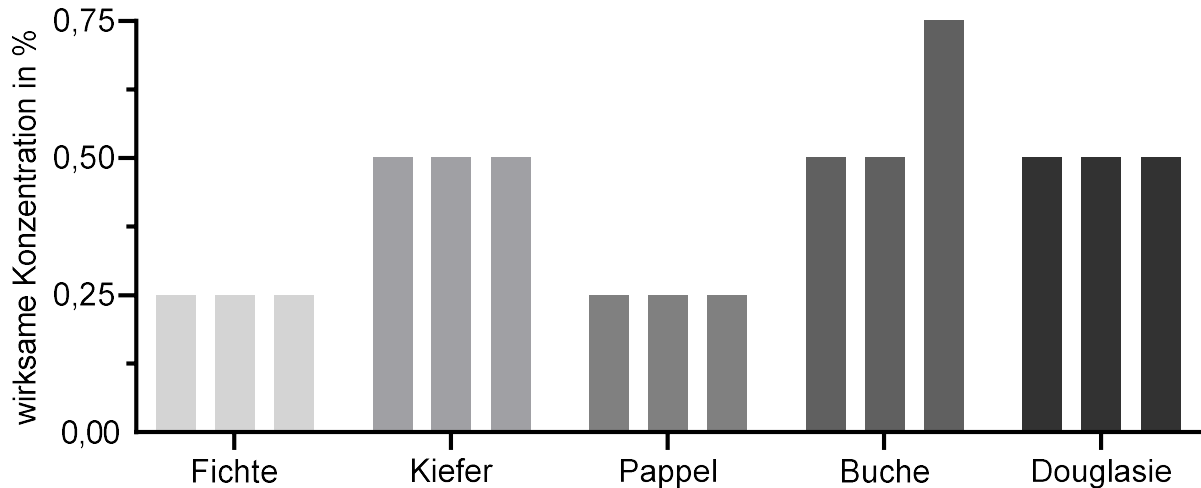


Abbildung 17: Konzentration von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei -10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

Die Konzentrationen der Grundchemikalie der Testung bei -10 °C zeigten insgesamt einen signifikanten Unterschied (p -Wert: < 0.0001) im Vergleich zu den entsprechenden Werten bei 10 °C (Abbildung 18).

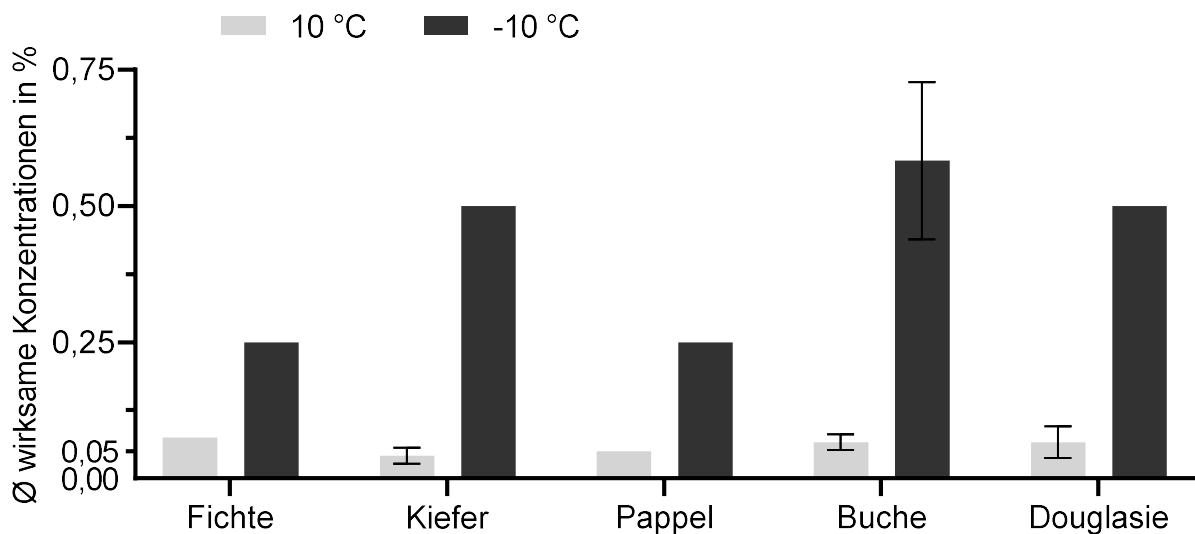


Abbildung 18: Vergleich der durchschnittlichen Konzentrationen von Peressigsäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E nach der Prüftemperatur mit Standardabweichungen

Für die Ameisensäure ergab sich eine Konzentrationsspanne von 2,5 % bis 5 % der organischen Säure, welche für eine wirksame Desinfektion notwendig war (Abbildung 19). Fichte, Pappel und Buche stellten sich als die Hölzer dar, welche mit der letztendlichen Konzentration von 3 % der Reinsubstanz die geringsten Desinfektionsmittelkonzentrationen benötigten. Die anderen Hölzer folgten mit 4 % für Douglasienholz und 5 % für Kiefernholz. Aufgrund der hohen eingesetzten Konzentrationen der Ameisensäure und den damit

verbundenen toxischen Effekten wurde bei den Versuchen bei -10 °C ebenfalls die unter 4.3.2.8.1 beschriebene erweiterte Methode angewandt. Es ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Holzarten (p -Wert: < 0.05) in den Ergebnissen für eine wirksame Desinfektion. Die Ergebnisse sind in Tabelle 41 bis Tabelle 45 auf den Seiten 110 bis 112 dargestellt.

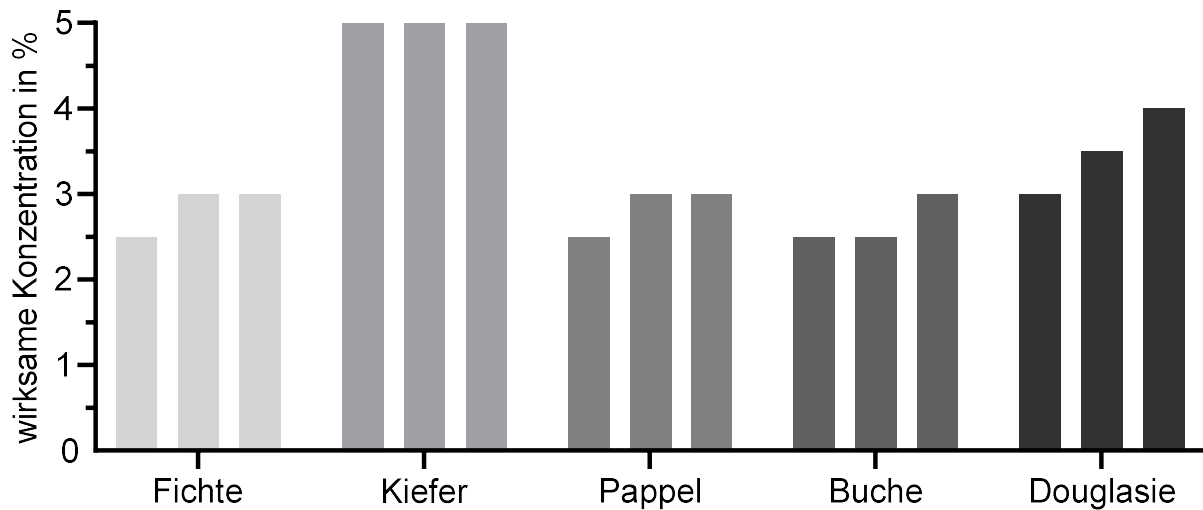


Abbildung 19: Konzentration von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E bei -10 °C in jeweils drei Versuchsansätzen

Die erforderlichen Konzentrationen der Reinsubstanz bei -10 °C waren insgesamt signifikant verschieden (p -Wert: < 0.0001) im Vergleich zu denen der Testung bei 10 °C (Abbildung 20).

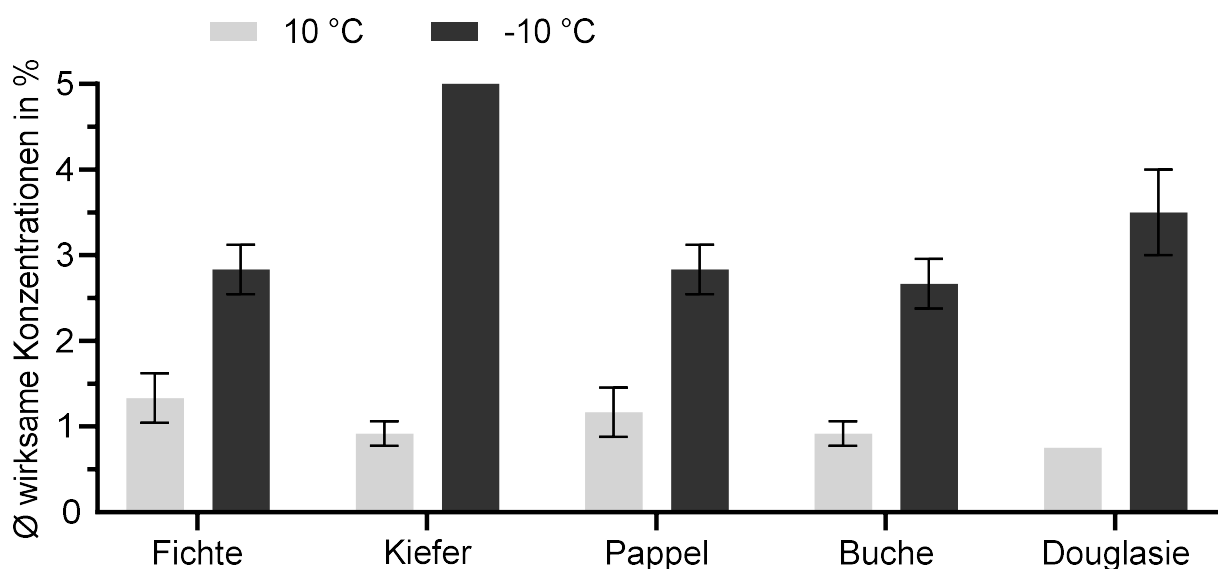


Abbildung 20: Vergleich der durchschnittlichen Konzentrationen von Ameisensäure für eine wirksame Desinfektion des EV-E nach der Prüftemperatur mit Standardabweichungen

Für Glutaraldehyd wurden keine Desinfektionsversuche bei -10 °C durchgeführt. Aufgrund der fehlenden Wirksamkeit des Aldehyds auf das unbehüllte Virus bei 10 °C (siehe 5.3.3) und des beschriebenen Kältefehlers des Glutaraldehyds (Michels et al. 2023; Böhm 2002a) wurde davon ausgegangen, dass bei -10 °C ebenfalls keine Wirksamkeit vorliegt.

5.4 Langzeitbeobachtungen

Bei beiden getesteten Prüfviren kam es aufgrund der hohen Luftfeuchtigkeit im Klimaschrank (siehe 5.2) zu dem Phänomen, dass sich auf der Stahlprobe (Stahl) nach der initialen Trocknung Kondenswasser auf der Prüffläche bildete und diese so über den gesamten Zeitraum nicht abgetrocknet ist. Bei der alternativ getesteten Probe (Stahl*) konnte dagegen eine Kondenswasserbildung durch das Versiegeln der Platten mit enthaltenem Kieselgel verhindert werden. Dadurch konnten auch Versuchsergebnisse für abgetrockneten Stahl ermittelt werden.

In den Langzeitbeobachtungen zur Tenazität auf den verschiedenen Oberflächen mit dem EV-E konnte beginnend ab Tag 28 ein statistisch signifikanter Unterschied (p -Wert: < 0.05) der Titerreduktionen innerhalb der Holzarten detektiert werden (Abbildung 21). Die insgesamt beste intrinsisch biozide Wirkung zeigte das Douglasienholz. Nach zwei Wochen des Versuchsablaufs erreichte die durchschnittliche Titerreduktion hierbei mit $4,28 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ das Ergebnis einer wirksamen Desinfektion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen. Nach sechs Wochen konnten keine Viren mehr auf dem Douglasienholz nachgewiesen werden, und die Reduktion betrug aufgrund des Initialtiters und der Nachweisgrenze $\geq 6,22 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Dieses Ergebnis hielt über den gesamten weiteren Prüfversuch an. Das nächstbeste Ergebnis erzielte der Stahlkeimträger Stahl*. Hierbei konnte ebenfalls nach zwei Wochen das Ergebnis einer erfolgreichen Desinfektion mit einer Titerreduktion von $4,50 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ erreicht werden. Nach 12 Wochen waren keine Viren mehr nachweisbar und die Reduktion betrug $\geq 6,61 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Das höhere Reduktionsergebnis am Punkt der Nachweisgrenze als bei dem Douglasienholz hing damit zusammen, dass die Proben von Stahl* in einem gesonderten Versuch angesetzt wurden, und daher auch mit einem anderen Initialtiter aus der Virusvermehrung. Danach folgten die Ergebnisse von Fichten-, Kiefern- und Buchenholz. Fichtenholz konnte in dem Versuchsablauf über ca. vier Monate den Status einer erfolgreichen Desinfektion erreichen. Kiefer- und Douglasienholz verfehlten diesen knapp. Nach Woche 16 betrug die Titerreduktion auf Fichtenholz $4,06 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$, auf Kiefernholz $3,94 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ und auf Buchenholz $3,83 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Das Pappelholz wies nur eine geringe Virusreduktion über den gesamten Prüfdurchlauf auf. Die Virusreduktion nach Woche 16 betrug $2,17 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Das schlechteste Ergebnis nach Ablauf des Gesamtversuchs fand sich für die Stahlprobe (Stahl).

Die Titerreduktion des EV-E betrug hier nach 16 Wochen nur 0,44 $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Allerdings ist dabei zu beachten, dass während des Prüfverlaufs (vor allem am Anfang) die Titerreduktion teils deutlich höher ausfiel. Da es allerdings ausgeschlossen ist, dass sich die Viren auf den Keimträgern vermehrt haben, ist hierbei von Artefakten auszugehen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 46 auf der Seite 113 dargestellt.

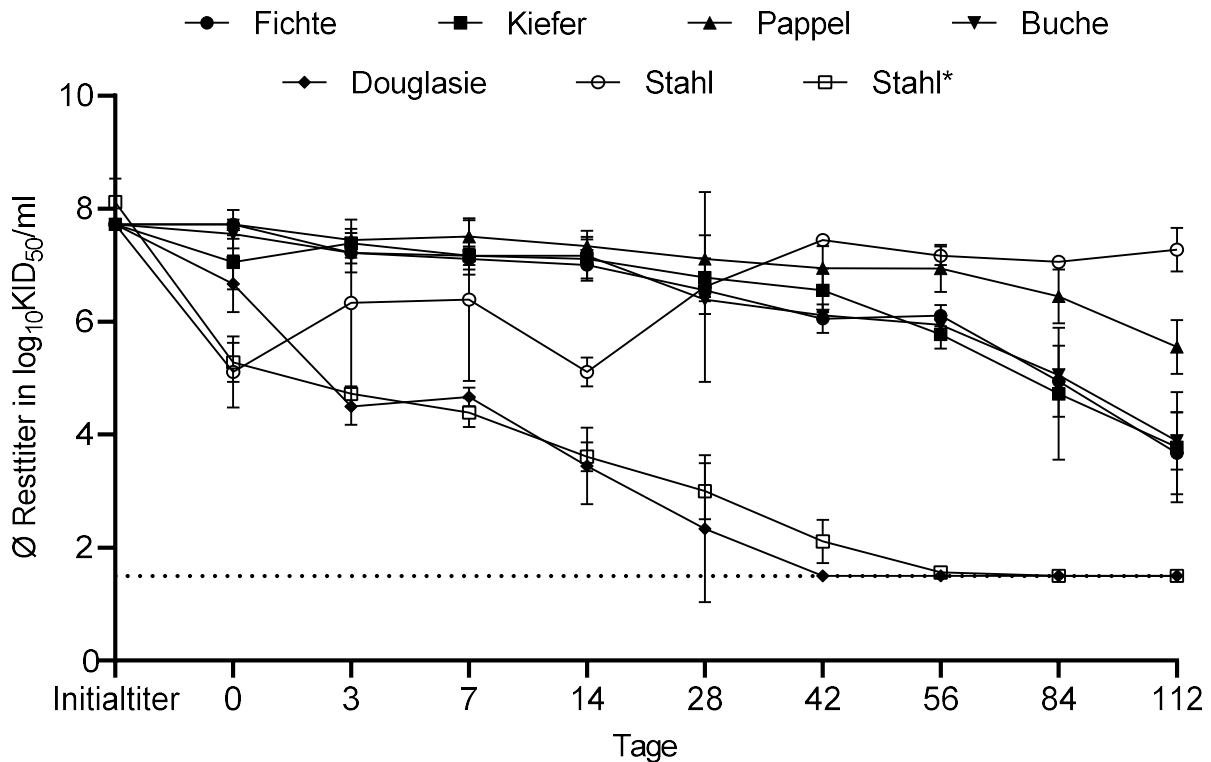


Abbildung 21: Durchschnittliche Titerreduktion von EV-E bei 10 °C auf verschiedenen Oberflächen mit Standardabweichungen

In den Langzeitversuchen mit dem NDV auf verschiedenen Oberflächen konnte, beginnend ab dem Tag der Trocknung (Tag Null), ein statistisch signifikanter Unterschied (p -Wert: < 0.05) der Titerreduktionen innerhalb der Holzarten detektiert werden (Abbildung 22). Insgesamt zeigte Kiefernholz die beste intrinsisch biozide Wirkung. Bereits an dem Tag der Trocknung betrug die Titerreduktion hierbei 4,17 $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Dies würde dem Ergebnis einer wirksamen Desinfektion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen entsprechen. Nach fünf Tagen konnten keine Viren mehr quantitativ auf den Kieferkeimträgern nachgewiesen werden, und die Titerreduktion betrug in Abhängigkeit des Initialtiters und der Nachweisgrenze $\geq 7,33 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Dieses Ergebnis war anhaltend, denn in den weiteren Auswertungen bis zum Tag 35 konnten zu keinem Zeitpunkt mehr Viren auf den Kieferkeimträgern nachgewiesen werden. Die nächstbesten Ergebnisse erzielten die anderen beiden Nadelhölzer Fichte und Douglasie. Hierbei konnte das Ergebnis einer erfolgreichen Desinfektion ab Tag 3 festgestellt werden, mit einer Keimreduktion von $\geq 4,72 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ auf dem Fichtenholz und

4,33 $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ auf dem Douglasienholz. Ab Tag 15 wurde die maximale Titerreduktion ($\geq 7,33 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$) unter Berücksichtigung der Nachweisgrenze erreicht. Somit konnten keine Restviren mehr auf den beiden Keimträgerarten nachgewiesen werden. Als nächstes folgten die Ergebnisse der beiden Laubhölzer Buche und Pappel. Bei dem Buchenholz konnte das Ergebnis der wirksamen Desinfektion ab Tag 3 mit einer Reduktion um $\geq 4,94 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ beobachtet werden, bei der Pappel ab Tag 5 mit einer Reduktion um $4,39 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Nicht mehr quantitativ nachweisbar war das NDV ab Tag 25 auf Buchenholz und ab Tag 30 auf Pappelholz. Nun folgten die Ergebnisse der Stahltestung (Stahl). Titterschwankungen und -varianzen waren für das NDV weniger deutlich ausgeprägt als für das EV-E. Das Ergebnis einer erfolgreichen Desinfektion erreichte die Stahlprobe ab Tag 15 mit einer Reduktion von $4,72 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Am Ende der Versuchslaufzeit an Tag 35 konnte quantitativ noch ein Restvirusgehalt auf den Stahlplättchen verzeichnet werden. Die Titerreduktion zu diesem Zeitpunkt betrug $\geq 7,06 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Das mit Abstand schlechteste Ergebnis zeigte dagegen die Testung mit dem alternativen Stahlkeimträger (Stahl*). Die Virusreduktion über den gesamten Prüfzeitraum hinweg betrug an Tag 35 nur $1,78 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$. Dabei ist zu beachten, dass an Tag Null die Reduktion bereits $1,17 \log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$ betrug und somit über die folgenden 35 Tage nur eine geringfügige Titerreduktion stattfand. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 47 auf der Seite 114 dargestellt.

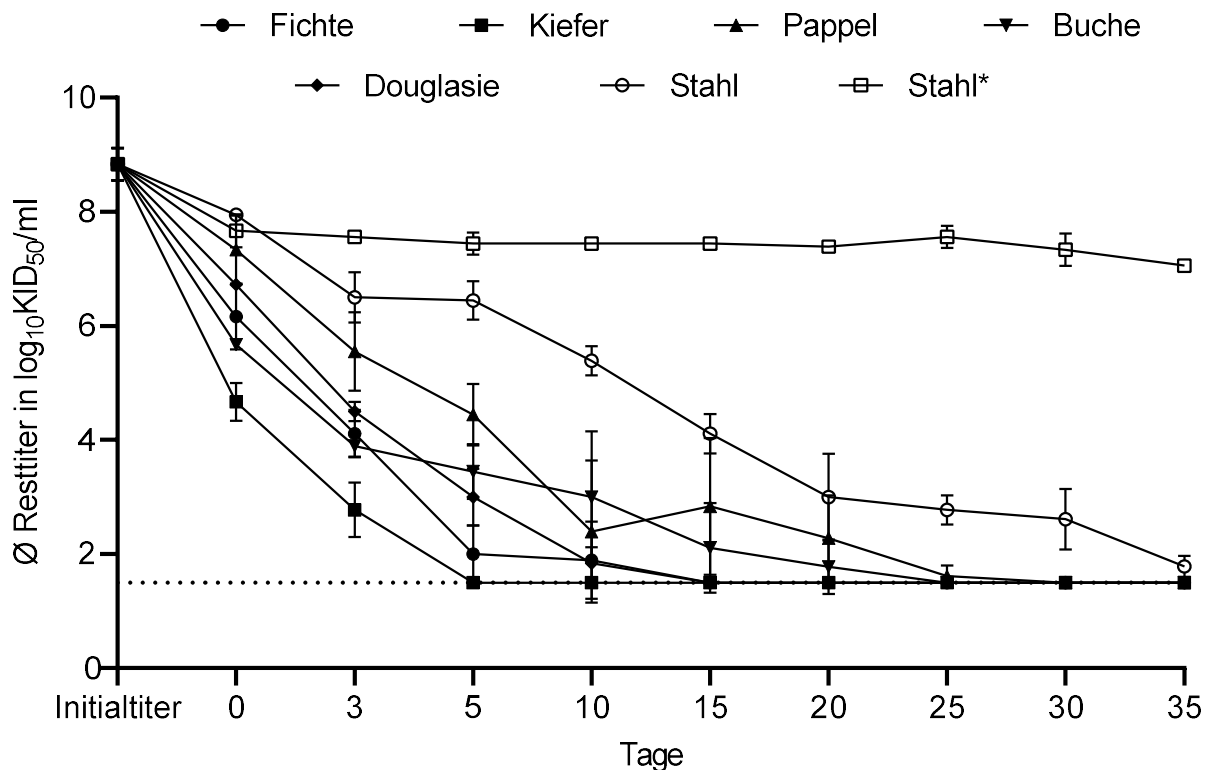


Abbildung 22: Durchschnittliche Titerreduktion von NDV bei 10 °C auf verschiedenen Oberflächen mit Standardabweichungen

6. Diskussion

6.1 Desinfektionsversuche mit unbehüllten Viren

Das Enterovirus E hat sich als sehr gut geeignet für die Durchführung der Desinfektionsversuche mit unbehüllten Viren erwiesen. Das Virus ließ sich in permanenten Zellkulturen in hohen Titern vermehren und durch den spezifischen CPE gut nachweisen. Auch hielten sich die Virusverluste des Referenztiters durch Trocknung und Desorption in einem akzeptablen Rahmen. Diese sehr gute Eignung des EV-E als Testvirus wurde auch in anderen Arbeiten entsprechend bestätigt (Pirschel 2015; Al-Khleif 2008; Köhler 2006; Bremer 2003). Ebenfalls besitzt es eine hohe Relevanz als Prüfvirus, da es einerseits eines der beiden unbehüllten Prüfviren der DVG-Prüfrichtlinien (DVG 2017b) darstellt und zudem als Prüfvirus in einer europäischen Norm (CEN 2015) verankert ist.

In den Desinfektionsversuchen bei 10 °C hat sich gezeigt, dass die verschiedenen Hölzer wirksam mit Peressigsäure und Ameisensäure desinfiziert werden konnten. Es wurden dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den wirksamen Konzentrationen auf den verschiedenen Hölzern innerhalb der beiden Grundchemikalien festgestellt. Aufgrund individueller Unterschiede in der Methodik (Keimträger, Belastungssubstanz, Prüftemperatur, Einwirkzeit, Auswertungsverfahren) sind die Ergebnisse nur bedingt mit den Resultaten aus der Literatur vergleichbar.

Bei der Peressigsäure waren nicht signifikant verschiedene Konzentrationen von 0,05 % bis 0,1 % auf den unterschiedlichen Holzarten als endgültig wirksam anzusehen. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Pirschel (2015) sowie Al-Khleif (2008). Im Keimträgertest auf Pappelholz nach der DVG-Methodik genügten durchschnittlich 0,1 % Peressigsäure für eine Keimreduktion des EV-E um mehr als vier dekadische Logarithmusstufen nach 30 min Einwirkzeit bzw. 0,05 % nach 60 min und 0,01 % nach 120 min (Pirschel 2015). Im Suspensionsversuch ohne Keimträger wurden 0,01 % Peressigsäure benötigt, um EV-E ohne eine Belastungssubstanz nach 30 min wirksam zu desinfizieren (Al-Khleif 2008). In Versuchen mit einer Belastungssubstanz stieg die Konzentration auf 0,05 % an, allerdings bei einer Einwirkzeit von nur 15 min (Al-Khleif 2008). Suspensionsversuche mit Peressigsäure zur Desinfektion von EV-E unter Berücksichtigung der Desinfektionstemperatur wurden von Bremer (2003) durchgeführt. Hierbei ergab sich, dass 0,01 % des Peroxids in den Versuchen mit Belastungssubstanz für die durchschnittliche Keimreduktion um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen bei 20 °C eine Einwirkzeit von 30 min benötigte, während sich die Zeitspanne bei 10 °C auf 60 min erhöhte sowie bei 4 °C auf 120 min. Die Versuche wurden auch ohne Belastungssubstanz durchgeführt, hierbei halbierte sich die jeweils benötigte

Einwirkzeit. Auch Rheinbaben und Wolff (2002) beschäftigten sich mit der Inaktivierung des EV-E. Sie beschreiben eine Virusreduktion von EV-E um mehr als fünf Zehnerpotenzen durch 0,2 % Peressigsäure nach 10 min Applikationsdauer. Kramer et al. (2008a) machen ähnliche Angaben, wobei die Autoren die irreversibel inaktivierende Wirkung ($> 4 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) von 0,2 % Peressigsäure gegen Enteroviren innerhalb einiger Minuten beschreiben. Von Martin et al. (2013) wurden Keimträgerversuche mit EV-E und der Zugabe von Peressigsäure als Desinfektionsmittel durchgeführt. Die Virusreduktion durch 0,025 % Peressigsäure nach 30 min bei 20 °C inklusive einer Belastungssubstanz betrug auf einer Stahloberfläche $\geq 3,1 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ und auf einer Polypropylenoberfläche $\geq 2,62 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$. Lediglich in Suspensionsversuchen wurde in dieser Studie eine wirksame Desinfektion des Enterovirus, repräsentiert durch eine Reduktion des Virustiters um $4,38 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$, bei 30 min Einwirkzeit, 10 °C und einer Belastung von 0,3 g BSA pro Liter, erzielt.

Bei der Ameisensäure waren nicht signifikant verschiedene Konzentrationen von 0,75 % bis 1,5 % auf den unterschiedlichen Holzarten als endgültig wirksam anzusehen. Pirschel (2015) erzielte in den Versuchen auf Pappelholz ähnliche Ergebnisse. Hierbei waren durchschnittlich Konzentrationen von 0,5 % Ameisensäure bei 120 min Einwirkzeit, 1 % bei 60 min und 1,5 % bei 30 min erforderlich, um eine Virusreduktion von EV-E um mindestens vier dekadische Logarithmusstufen zu bewirken. Nach Rheinbaben und Wolff (2002) wurde eine wirksame Desinfektion des Virus durch Ameisensäure im DVG-Keimträgertest nach 30 min mit einer Konzentration von 1 % bzw. im Suspensionstest durch 0,5 % nach 15 min erreicht. Ähnliche Angaben macht auch Wekerle (1988). Die Ergebnisse der Versuche beschreiben eine wirksame Desinfektion des EV-E durch 0,5 % Ameisensäure nach 30 min im Keimträgertest (Pappelholz) und nach 15 min im Suspensionstest. Weitere Angaben zum Verhalten des Virus in Suspensionsversuchen ohne sowie auch mit einer Belastungssubstanz macht Al-Khleif (2008). Hier wurde gezeigt, dass 1 % der organischen Säure für eine viruswirksame Desinfektion nach einer Zeitspanne von 15 min benötigt wurde. Bremer (2003) berücksichtigte zusätzlich den Temperaturfaktor in den durchgeführten Suspensionsversuchen mit Ameisensäure für EV-E. In Versuchen mit einer Belastungssubstanz waren 0,5 % der Reinsubstanz nötig, um bei 20 °C nach einer Stunde eine wirksame Desinfektion zu erreichen. Bei niedrigeren Temperaturen von 10 °C bzw. 4 °C erhöhte sich die benötigte Konzentration auf jeweils 1 %. Der Einfluss der Temperatur in Keimträgerprüfungen unter Verwendung von Pappelholz wurde auch von Yilmaz und Kaleta (2003a) untersucht. In jeweils dreifacher Wiederholung zeigte sich, dass 1 % Ameisensäure bei 20 °C eine Einwirkzeit von einer Stunde für eine wirksame Desinfektion des EV-E benötigte. Eine entsprechende Zeit konnte bei 10 °C nur mit der doppelten Konzentration der organischen Säure von 2 % erreicht werden. Die

Autoren führten auch Suspensionsversuche durch, bei denen sich die Einwirkzeit teilweise auf nur 15 min verringerte.

Mit der Grundchemikalie Glutaraldehyd konnte keine wirksame Desinfektion des unbehüllten EV-E erreicht werden. Getestet wurden dabei Konzentrationen bis zu 10 %, was deutlich über dem Praxisstandard liegt. Pirschel (2015) kam in den Laborversuchen mit dem Aldehyd zu ähnlichen Ergebnissen. In den durchgeführten Untersuchungen zu EV-E auf Pappelholz konnte der Autor mit Konzentrationen bis zu 2 % Glutaraldehyd und einer Einwirkzeit bis zu zwei Stunden noch nicht einmal eine reproduzierbare Titerreduktion über drei dekadische Logarithmusstufen erzielen. Rhee et al. (2022c) untersuchten die Desinfizierbarkeit von EV-E durch Glutaraldehyd mittels Suspensionsversuchen. In den Versuchen konnte ebenfalls keine viruswirksame Desinfektion nachgewiesen werden. Die durchschnittlich ermittelte Virusreduktion durch 8 % der Grundchemikalie betrug lediglich $2,72 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$. Mahnel (1979) beschreibt ebenfalls, dass Enteroviren eine auffallend hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Aldehyden zeigen. In den gelisteten Desinfektionsmitteln der DVG wird ersichtlich, dass kein Handelspräparat mit Glutaraldehyd als alleiniger Wirkstoff eine Zulassung für den Bereich der unbehüllten Viren (mit u. a. EV-E als Prüfvirus) besitzt (DVG 2023a). Basierend auf den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen und den Ergebnissen aus der Literatur ist anzunehmen, dass die unzureichende Wirksamkeit des Glutaraldehyds in Bezug auf das Enterovirus E nicht mit der zu desinfizierenden Oberfläche, hier speziell Holzart, zusammenhängt, sondern generell eine unzureichende Wirksamkeit der Grundchemikalie gegenüber diesem Virus besteht.

6.2 Desinfektionsversuche mit behüllten Viren

Das Newcastle Disease Virus hat sich als gut geeignet für die Desinfektionsversuche mit behüllten Viren erwiesen. Die standardgemäß eingesetzte Variante der Virusvermehrung in embryonierten Bruteiern und der Virusnachweis in primären Einschichtzellkulturen erfordern einen hohen Arbeitsaufwand. Wie von Schmidt (2015) gezeigt, lässt sich das DVG-Prüfvirus aber auch in permanenten Zellkulturen züchten und nachweisen, was die Testung deutlich vereinfacht. Entsprechend wurde im Rahmen der hier vorgestellten Versuche verfahren. In den permanenten Zellkulturen ließ sich das Virus in hohen Titern vermehren und durch den spezifischen CPE gut nachweisen. Die Virusverluste des Referenztiters durch Trocknung und Desorption hielten sich in einem vertretbaren Rahmen, mit Ausnahme der Versuche auf Kiefernholz. NDV besitzt eine hohe Relevanz als Prüfvirus, da es eines der beiden behüllten Prüfviren der DVG-Prüfrichtlinien darstellt (DVG 2017b). Die Eignung als Testvirus wurde auch in anderen Arbeiten bestätigt (Schmidt 2015; Al-Khleif 2008; Köhler 2006).

In den Desinfektionsversuchen bei 10 °C wurde deutlich, dass sich die verschiedenen Hölzer wirksam mit Peressigsäure, Ameisensäure und Glutaraldehyd desinfizieren ließen. Für jede Grundchemikalie fanden sich dabei signifikante Unterschiede in den erforderlichen Konzentrationen für die verschiedenen Holzarten. Bei allen drei Reinsubstanzen zeigte sich auch, dass im Allgemeinen bei den Nadelhölzern niedrigere Konzentrationen für eine wirksame Desinfektion benötigt wurden als bei den Laubhölzern. Dies galt insbesondere für das Kiefernholz, welches eine bis zu 15-fach niedrigere Konzentration benötigte als einzelne Laubhölzer. Diese vorteilhaften Ergebnisse der Nadelhölzer sind wahrscheinlich auf die Holzinhaltsstoffe (Gerbsäuren, Harze, Tannine) und das diesbezüglich sensible, behüllte Prüfvirus zurückzuführen. Aufgrund individueller Unterschiede in der Methodik (Keimträger, Belastungssubstanz, Prüftemperatur, Einwirkzeit, Auswerteverfahren) sind die Ergebnisse nur bedingt mit den Resultaten aus der Literatur vergleichbar.

Bei der Peressigsäure waren Konzentrationen von 0,0025 % bis 0,025 % auf den verschiedenen Holzarten als endgültig wirksam anzusehen, wobei signifikante Unterschiede festgestellt wurden. Die Ergebnisse für das Pappelholz (0,025 %) decken sich weitestgehend mit den Ergebnissen von Schmidt (2015). Die Autorin untersuchte die Desinfizierbarkeit von NDV auf Pappelholz, wobei das Prüfvirus im Brutei und alternativ in Zellkultur vermehrt wurde. Zielstellung war eine Keimreduktion um nur mindestens drei dekadische Logarithmusstufen, da höhere Reduktionen aufgrund der Nachweisgrenze und des Referenztiters oft nicht darstellbar waren. Die Versuche ergaben, dass das Virus aus dem Brutei 0,05 % Peressigsäure benötigte, um eine durchschnittliche Virusreduktion von $> 3,45 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ zu erreichen. Für das Virus aus der Zellkultur waren 0,025 % der Grundchemikalie erforderlich, um eine durchschnittliche Virusreduktion von $> 3,6 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ zu bewirken. Die Einwirkzeit betrug jeweils 30 min, bei einer Temperatur von 20 °C und einer niedrigen Eiweißbelastung. Al-Khleif (2008) führte dagegen Suspensionsversuche mit dem NDV und Peressigsäure durch. Hier zeigte sich, dass 0,005 % der Reinsubstanz nach 30 min NDV ohne eine Eiweißbelastung wirksam ($\geq 4 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) inaktivieren konnte. Mit Verdopplung der Konzentration (0,01 %) benötigte das Peroxid nur noch fünf Minuten für den Vorgang. In den Versuchen mit einer Belastungssubstanz wurde ersichtlich, dass mit 0,05 % der Grundchemikalie eine fünffach höhere Konzentration erforderlich war, um die Wirksamkeit entsprechend der Definition weiterhin bereits nach 5 min Einwirkzeit zu gewährleisten. Nach Kramer et al. (2008a) sind 0,2 % Peressigsäure nötig, um eine Desinfektion bezüglich NDV innerhalb von nur wenigen Sekunden zu erreichen.

Bei der Ameisensäure waren signifikant verschiedene Konzentrationen von 0,25 % bis 2 % auf den Holzarten als endgültig wirksam anzusehen. Vergleichbare Untersuchungen mit dem Einsatz der Reinsubstanz auf Keimträgern sind für NDV in der Literatur nicht vorhanden. Al-

Khleif (2008) führte mit NDV Suspensionsversuche durch, um die desinfizierende Wirkung von Ameisensäure zu beurteilen. Ohne zusätzliche Belastungssubstanz reduzierten 0,5 % der Grundchemikalie den Virustiter nach 30 min um $4,25 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$. Mit Verdopplung der Konzentration (nun 1 %) benötigte die Ameisensäure für den Prozess der wirksamen Desinfektion nur noch 5 min. Unter Zugabe einer Belastungssubstanz verlängerte sich die erforderliche Einwirkzeit für eine als wirksam zu erachtende Virusreduktion (erzielt wurden erneut $4,25 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$) durch 1 % der organischen Säure wieder auf 30 min. Nach Rheinbaben und Wolff (2002) inaktiviert Ameisensäure das NDV nach 5 min bei einer Konzentration von 2 % der organischen Säure bzw. nach 15 min bei 1 %. Nähere Angaben zu den Versuchsbedingungen wurden von den Autoren nicht gemacht.

Bei dem Glutaraldehyd waren signifikant verschiedene Konzentrationen von 0,1 % bis 1,5 % auf den unterschiedlichen Holzarten als endgültig wirksam zu betrachten. Schmidt (2015) untersuchte die Desinfizierbarkeit von NDV auf Pappelholz, wobei die Virusvermehrung im Brutei und alternativ in Zellkultur erfolgte. Wie auch bei den Versuchen mit der Peressigsäure war das Ziel eine Keimreduktion um mindestens drei dekadische Logarithmusstufen, da höhere Reduktionen aufgrund des Referenztiters und wegen der inhärenten Nachweisgrenze nicht darstellbar waren. Die Versuche ergaben, dass eine Konzentration von 0,25 % Glutaraldehyd benötigt wurde, um den Titer von NDV je nach Art der Virusvermehrung um durchschnittlich $> 3,25 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ bzw. $> 3,65 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ zu reduzieren. Die Einwirkzeit betrug jeweils 30 min bei 20 °C und einer niedrigen Eiweißbelastung. Die im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit deutlich niedrigeren Konzentrationen auf dem Pappelholz hängen wahrscheinlich mit der Prüftemperatur zusammen, da Glutaraldehyd einen ausgeprägten Kältefehler besitzt (Michels et al. 2023; Böhm 2002a). Die Wirksamkeit von Glutaraldehyd auf das NDV in Suspensionsversuchen wurde von Rhee et al. (2022b) untersucht. Das Ergebnis war hierbei, dass durch 0,4 % des Aldehyds bei einer hohen organischen Belastung, 30 min Einwirkzeit und einer Temperatur von 4 °C eine reproduzierbare, wirksame Desinfektion erfolgte.

6.3 Desinfektionsversuche bei -10 °C

Die Desinfektionsversuche bei -10 °C erfolgten mit dem EV-E, da dieses Virus auf den Keimträgern bei 10 °C in der Regel höhere Konzentrationen benötigte als das NDV und damit als limitierend erachtet wurde. Durch den Zusatz des Frostschutzmittels Ethylenglykol konnte die Methodik identisch zu den Versuchen bei 10 °C erfolgen. Die Ergebnisse wiesen bei beiden getesteten Grundchemikalien einen signifikanten Unterschied bezüglich der erforderlichen Konzentrationen zwischen den verwendeten Holzarten auf.

Das beste Ergebnis erzielte die Peressigsäure. In den Versuchen bei -10 °C waren Konzentrationen von 0,25 % bis 0,75 % auf den Holzarten als endgültig wirksam anzusehen. Dies entspricht ungefähr den handelsüblichen Konzentrationen. Dieses gute Ergebnis beruht auf dem geringen Kältefehler des Peroxids (Schliesser 1981). Nach Jones et al. (1967) ist unter Zusatz von Frostschutzmitteln eine Anwendung der Peressigsäure bis zu -40 °C möglich.

Auch die Ameisensäure ermöglichte bei -10 °C noch eine wirksame Desinfektion. In den Versuchen bei -10 °C waren Konzentrationen von 3 % bis 5 % auf den Holzarten als endgültig wirksam anzusehen. Diese eher hohen Konzentrationen sind mit dem Kältefehler der organischen Säure erklärbar, welcher durch Lächele (1990) herausgearbeitet wurde. Nach Hölzle et al. (2023) sind organische Säuren unterhalb von 10 °C nicht mehr als alleinige Wirkkomponente anwendbar.

Zusammenfassend entsprechen die Versuchsergebnisse der Desinfektionsmitteltestung mit einer Prüftemperatur von -10 °C den Ergebnissen von Schliesser (1981). Hier wurde beschrieben, dass bei Temperaturen unterhalb des Gefrierpunkts die besten Desinfektionsergebnisse mit Peressigsäure erzielt wurden. Organische Säuren (u. a. Ameisensäure) wurden als weniger effektiv, aber dennoch wirksam eingestuft. Für Formalin als Vertreter der Aldehyde wurden die schlechtesten Ergebnisse beschrieben, mit einer Wirkung, die erst nach tagelanger Einwirkzeit einsetzte. Bremer (2003) führte ebenfalls Desinfektionsmitteltestungen unter Berücksichtigung der Temperatur durch, allerdings nur bis zu 4 °C als niedrigste Prüftemperatur. Bei dieser Temperatur sind die Auswirkungen des Kältefehlers noch nicht so deutlich wie bei einer Testung unterhalb des Gefrierpunkts. Dennoch entsprechen die Ergebnisse in letztgenannter Untersuchung zur Inaktivierung von EV-E der Wirksamkeitsreihenfolge hinsichtlich der Reinsubstanzen nach Schliesser (1981) und denen der vorliegenden Arbeit.

6.4 Langzeitbeobachtungen

Das Ziel der Langzeitbeobachtungen zur Tenazität war es, die intrinsisch biozide Wirkung der Keimträger an sich, ohne Einwirkung von Desinfektionsmitteln, zu bestimmen. Dabei fiel zunächst auf, dass EV-E eine deutlich höhere Tenazität als NDV auf den Holzkeimträgern besaß. Dieses Ergebnis spiegelt die Resultate der durchgeführten Desinfektionsmitteltestungen wieder und entspricht der Regel, dass unbehüllte Viren im Allgemeinen eine höhere Resistenz gegenüber Umgebungseinflüssen aufweisen als behüllte Viren (Bodenschatz 2022; Kramer 2022; Schubert 2016; Schliesser 1981). Im Vergleich der Ergebnisse der Holzkeimträger zu den eingesetzten Stahlkeimträgern zeigte sich, dass die Hölzer teilweise eine bessere Virusreduktion aufwiesen als der Stahl. Dieses Ergebnis

entspricht der von Thiel (1978) beschriebenen sehr guten Langzeitdesinfektionswirkung von hölzernen Stallbauelementen im Vergleich zur eher schlechten Wirkung von Metalloberflächen. Die unterschiedlichen Ergebnisse der verschiedenen Hölzer sind wahrscheinlich auf die individuellen Holzeigenschaften (Tabelle 5) zurückzuführen. Die Versuchsbedingungen sind aufgrund der hohen relativen Luftfeuchtigkeit während der Einlagerung (Ø 89 %) nur bedingt mit Praxisbedingungen vergleichbar.

Tabelle 5: Holzeigenschaften nach Grosser und Teetz (1998)

	Fichte	Kiefer	Pappel	Buche	Douglasie
Ø Rohdichte¹	0,43 g/cm ³	0,49 g/cm ³	0,43 g/cm ³	0,68 g/cm ³	0,47 g/cm ³
Ø Rohdichte²	0,47 g/cm ³	0,52 g/cm ³	0,47 g/cm ³	0,72 g/cm ³	0,51 g/cm ³
pH-Wert	5,0	5,1	5,8	5,1 - 5,4	3,3 - 4,2
Extraktstoffgehalt	2,3 %	9 %	N/A	1,5 %	6 %

¹bei 0 % Holzfeuchtigkeit ²bei 15 % Holzfeuchtigkeit

Für das unbehüllte Enterovirus E wurde die hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen, welche Olszewska et al. (2008), Biermann et al. (1990) oder Steiger (1986) darlegten, bestätigt. Eine Ausnahme unter den Hölzern stellte das Douglasienholz dar, bei welchem ein deutlicher biozider Effekt auf EV-E beginnend schon ab dem dritten Versuchstag sichtbar wurde. Dieser Effekt steht wahrscheinlich in Zusammenhang mit dem niedrigen pH-Wert des Douglasienholzes (Tabelle 5). Nach Rheinbaben und Wolff (2002) ist das EV-E im pH-Bereich von 4 bis 8 unempfindlich. Die weiteren positiven Effekte der Holzinhaltstoffe (Gerbsäuren, Harze, Tannine) sowie die hygroskopische Wirkung der porösen Oberfläche würden auch auf anderen Holzoberflächen zum Tragen kommen und sind kein alleinstellendes Merkmal der Douglasie. Die anderen Holzoberflächen wiesen jedoch im Gegensatz zu der Douglasie eine deutlich langsamere Titerreduktion auf. Dass allerdings dieser positive Effekt des Douglasienholzes nicht auch bei den Desinfektionsversuchen mit dem EV-E ersichtlich wurde, könnte dadurch erklärt werden, dass der biozide Effekt der Douglasie erst verzögert einzusetzen scheint. Am Tag nach dem Abtrocknen der beimpften Keimträger (Tag Null) waren die Titerreduktionswerte auf den verschiedenen Holzarten noch relativ ähnlich zueinander. Die ebenfalls gute und kontinuierliche Titerreduktion über die Zeit auf der Probe von Stahl* kann durch die technisch forcierte Trocknung des Virus erklärt werden, die zur Vermeidung einer Rehydrierung mit Kondenswasser im Klimaschrank und damit zur Simulation von Praxisbedingungen (mit guter Lüftung) für die Stahloberfläche implementiert wurde. Ohne diese spezifischen Maßnahmen kam es bei der alternativ geprüften Stahlprobe (Stahl) nach der initialen Antrocknung aufgrund von Kondenswasserbildung durch die hohe Luftfeuchtigkeit im Klimaschrank zu der erneuten und über den gesamten Prüfzeitraum

andauernden Ausbildung einer Flüssigkeitsschicht auf der Oberfläche. Die Titerreduktion nach etwa vier Monaten war auf dieser Probe (Stahl) nur sehr gering, was zu den Erfahrungen von Rheinbaben und Wolff (2002) passt, nach denen das EV-E in wässriger Umgebung bei 4 °C über einen Zeitraum von zwei Jahren stabil bleibt. Auch Olszewska et al. (2008) haben nachgewiesen, dass EV-E nach 135 Tagen in einer wässrigen Umgebung bei 4 °C nahezu keinerlei Einbußen bezüglich des Virustiters zeigt. Die deutlichen Schwankungen des Virustiters über die Zeit und die größeren Varianzunterschiede innerhalb der Prüfzeitpunkte der Stahlprobe in dem ersten Teil der Versuchsauswertungen (siehe Abbildung 21), lassen sich wahrscheinlich durch Trocknungsartefakte während des Antrocknens im Exsikkator, welcher im Klimaschrank stand, erklären. Randständige Keimträger sind auf der Unterlage besser und schneller angetrocknet als solche, die eher mittig gelagert wurden.

Da nach Rhee et al. (2022c) das EV-E ein Surrogatvirus für das Virus der Maul- und Klauenseuche (MKS) darstellt, lassen sich die Wiederbelegungszeiten nach der Schlussdesinfektion für diese Tierseuche hinsichtlich ihrer biologischen Plausibilität näherungsweise mit den durchgeführten Tenazitätsversuchen abgleichen. Nach der MKS-Verordnung kann die Wiederbelegung von Ställen frühestens drei Monate nach Abnahme der Schlussdesinfektion erfolgen bzw. auch schon früher in Verbindung mit klinischen Untersuchungen (BMEL 2017). Nach einem Zeitraum von etwa drei Monaten betrug die durchschnittliche Virusreduktion schon ohne den Einsatz eines Desinfektionsmittels auf den Bauhölzern Fichte, Kiefer und Buche $2,67 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ bis $3,0 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$, was ein gutes Ergebnis darstellt. Ein sehr gutes Ergebnis erzielten Douglasienholz und trockener Stahl (Stahl*) mit einer unter Berücksichtigung der Nachweisgrenze wahrscheinlich vollständigen Virusinaktivierung nach dieser Zeit. In diesem Sinne ist davon auszugehen, dass die rechtlichen Vorgaben für die MKS durch eine Kombination aus Reinigung und Desinfektion sowie anschließendem Leerstand ein vernachlässigbares Risiko für eine anschließende Wiederbelegung gewährleisten.

Für das behüllte Newcastle Disease Virus konnten die Unterschiede nach den Holzarten aus den Desinfektionsmitteltestungen in den Langzeitbeobachtungen zur Tenazität bestätigt werden. Die Nadelhölzer, insbesondere das Kiefernholz, führten in kürzerer Zeit zu einer Virusinaktivierung als die Laubhölzer. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich durch den höheren Gehalt an Holzinhaltstoffen (Tabelle 5) wie Gerbsäuren, Harze oder Tannine zu erklären. Das besonders gute Ergebnis der Kiefer könnte zudem auf die größeren und in deutlich höherer Anzahl vorhandenen Harzkanäle (Grosser 2007; Schütt und Stimm 2006) zurückzuführen sein. Wie schon von Thiel (1978) beschrieben, zeigten alle untersuchten Hölzer im Vergleich zu den beiden Stahlansätzen eine schnellere Titerreduktion, was wahrscheinlich durch hygroskopische Effekte und die enthaltenen Holzinhaltstoffe erklärt

werden kann. Diese Effekte kamen bei der Stahlprobe (Stahl) nicht zum Tragen. Die Virusreduktion setzte hier langsamer ein und der Resttiter lag am Ende des Prüfzeitraums knapp oberhalb der Nachweisgrenze. Dies entspricht der Beschreibung von Kaaden (2002), nach der NDV je nach Umgebungstemperatur in infizierten Ställen 30 bis 35 Tage infektiös bleibt. Auch Frölich et al. (1992) geben für die Überlebenszeit von NDV in Käfighaltungen mit 18 bis 36 Tagen eine ähnliche Zeitspanne an. Bei der Probe Stahl* war über den gesamten Prüfzeitraum im Vergleich zu allen anderen Keimträgerarten nur eine sehr geringe Virusreduktion zu verzeichnen. Wie von Steiger (1986) beschrieben, kann NDV in einem angetrockneten und dadurch geschützten Zustand über einen längeren Zeitraum seine Infektiosität erhalten. Auch Kaaden (2002) erwähnt das Phänomen, dass die Infektiosität des Virus durch Eintrocknung über Jahre hinweg erhalten bleiben kann.

Tierseuchenrechtlich ist die Wiederbelegungszeit nach einem Ausbruch der Newcastle Krankheit mit frühestens 30 Tagen nach Abschluss und Abnahme der Desinfektion festgelegt (BMELV 2005). Es konnte in den vorgestellten Versuchen gezeigt werden, dass selbst ohne vorherige Desinfektion nach vorgenanntem Zeitraum auf allen getesteten Bauhölzern mit großer Wahrscheinlichkeit (die Einschränkung hier aufgrund der Nachweisgrenze) keine infektiösen Viren mehr vorhanden waren, während auf der feuchten Stahloberfläche (Stahl) noch Restinfektiosität und auf der getrockneten Stahloberfläche (Stahl*) noch ein sehr hoher Resttiter nachweisbar war. In diesem Sinne ist davon auszugehen, dass die rechtlichen Vorgaben für die Newcastle Krankheit durch eine Kombination aus Reinigung und Desinfektion sowie anschließendem Leerstand ein vernachlässigbares Risiko für eine anschließende Wiederbelegung gewährleisten. Ein besonderes Augenmerk hinsichtlich der Reinigung und Desinfektion verdienen Stallbereiche mit verbautem Stahl, auf denen NDV sich in einem getrockneten und dadurch geschützten Zustand befinden kann.

6.5 Zusammenfassende Diskussion der bioziden Grundchemikalien

Als „Desinfektionsmittel“ wurden in dieser Arbeit biozid wirksame Grundchemikalien verwendet. Intention hierfür war die Gewährleistung einer besseren Vergleichbarkeit untereinander und mit Ergebnissen aus der Literatur, da diese Reinsubstanzen im Gegensatz zu Handelspräparaten keine Komponentenmischung darstellen oder mit Tensiden versetzt sind. Somit können die dargestellten Ergebnisse nur bedingt auf die Handelspräparate der DVG-Liste übertragen werden. Sollten die Ergebnisse dieser Arbeit doch mit den Werten der DVG (DVG 2023a) verglichen werden, ist darauf zu achten, dass die angegebenen Konzentrationen der DVG sich auf bereits verdünnte Grundchemikalien beziehen. Vor einem Vergleich müssten diese Konzentrationen entsprechend rechnerisch korrigiert werden. Mit Konzentrationsangaben zu Reinsubstanzen aus der Literatur lassen sich die Ergebnisse

dieser Arbeit jedoch gut abgleichen, da in der Desinfektionsmitteltestung relevante Prüfviren (DVG 2017b) verwendet wurden, die auch in anderen literaturanhängigen Untersuchungen zum Einsatz kamen und zudem als Surrogate fungieren.

Peressigsäure erwies sich in dieser Arbeit als das wirksamste Desinfektionsmittel. Auf allen Prüfoberflächen konnte eine wirksame Desinfektion erreicht werden. Zudem zeichnete sich das Peroxid, wie auch von Kramer (2022) beschrieben, durch eine schnelle Wirkungsweise und eine vergleichsweise geringe Beeinflussung durch Umgebungsparameter aus. Nach Schubert (2016) ist Peressigsäure seit Jahren in der Landwirtschaft zur Desinfektion von Flächen, Gegenständen und Apparaturen etabliert. Auch Ticháček (1972) empfiehlt Peressigsäure zum großflächigen bzw. großräumigen Einsatz in landwirtschaftlichen Betrieben. Kramer et al. (2008a) kategorisieren Peressigsäure als den idealen mikrobiziden und viruziden Wirkstoff. Hinsichtlich der praxisbezogenen Desinfektion empfiehlt Böhm (2002a) Konzentrationen zwischen 0,1 % und 1 % des Wirkstoffs zur Flächendesinfektion in der Landwirtschaft, ohne dabei nähere Angaben über das Erregerspektrum zu machen. Kramer et al. (2008a) geben die Verwendung von 0,2 % Peressigsäure als Desinfektionsmittel in der Tierhaltung an. Auch Schliesser (1981) gibt mit 0,2 % bis 0,4 % der Grundchemikalie für den Einsatz in der Grobdesinfektion ähnliche Werte an. Ticháček (1972) nennt eine Konzentrationsspanne von 0,01 % bis 2 % der Reinsubstanz zur Desinfektion von Gegenständen aus Holz, Kunststoff oder Metall. Im Tierseuchenfall wird allgemein eine Konzentration von 0,4 % Peressigsäure als Oberflächendesinfektionsmittel mit einer Mindesteinwirkzeit von einer Stunde empfohlen (Scheinemann et al. 2023).

Auch Ameisensäure stellte sich in dieser Arbeit als ein wirksames Desinfektionsmittel heraus. Auf allen Prüfflächen konnte eine wirksame Desinfektion erreicht werden. Allerdings fielen die Ergebnisse der erforderlichen Konzentrationen der Prüfung bei -10 °C relativ hoch aus. Der hohe Kältefehler der organischen Säuren nach Böhm (2002a) oder Lächele (1990) wurde somit entsprechend bestätigt. Böhm (2002a) beschreibt die Anwendung der Ameisensäure vor allem im Stallbereich, insbesondere für die Flächendesinfektion. Nach dessen Angaben wird die organische Säure in Konzentrationen von 2 % bis 4 % angewendet. Kramer et al. (2008c) beschreiben ebenfalls den Einsatz der Grundchemikalie in der Stalldesinfektion. Hierbei werden in Abhängigkeit des Erregers Konzentrationen von 1 % bis 4 % mit zwei Stunden Einwirkzeit genannt. Im Tierseuchenfall wird allgemein der Einsatz von 4 % Ameisensäure mit einer Mindesteinwirkzeit von zwei Stunden zur Flächendesinfektion empfohlen (Hölzle et al. 2023).

Glutaraldehyd erwies sich in dieser Arbeit als ein nur teilweise wirksames Desinfektionsmittel. Eine wirksame Desinfektion wurde bei 10 °C für das behüllte Virus erreicht, nicht aber für das

unbehüllte Prüfvirus. Aufgrund des sehr hohen Kältefehlers nach Michels et al. (2023) oder Böhm (2002a) ist allerdings davon auszugehen, dass bei -10 °C auch bei dem behüllten Virus keine Wirksamkeit mehr vorhanden wäre. Kramer et al. (2008b) beschreiben die viruzide Wirkung des Aldehyds in Konzentrationen von 0,5 % bis 2 %, in Abhängigkeit der zu inaktivierenden Viren. Verwendet wird Glutaraldehyd nach den Autoren als Bestandteil in Flächendesinfektionsmitteln, insbesondere in Kombination mit anderen Aldehyden oder sonstigen Zusätzen. Die Aussage, dass Glutaraldehyd in Kombination mit anderen Wirkstoffen erfolgreich eingesetzt werden kann, findet sich mehrfach in der Literatur wieder (Kramer 2022; Schubert 2016; Kramer et al. 2008b; Böhm 2002a; Steiger 1986; Schliesser 1981). Im Tierseuchenfall wird der Einsatz einer Glutaraldehydlösung allgemein empfohlen, wenn es sich bei den Seuchenerregern um Bakterien bzw. Bakteriensporen handelt, nicht jedoch bei Viren (Michels et al. 2023).

6.6 Zusammenfassende Diskussion der hölzernen Keimträger

In dieser Arbeit wurden die Desinfizierbarkeit verschiedener Holzkeimträger sowie Langzeitbeobachtungen auf Holz- und Stahlkeimträgern dargestellt. Bei den durchgeführten Untersuchungen lag ein verstärkter Fokus auf den hölzernen Keimträgern, da das BMEL (2021) empfiehlt, den natürlichen Baustoff Holz verstärkt beim Ausbau von landwirtschaftlichen Betriebsgebäuden zu berücksichtigen. Die hygienischen Eigenschaften traditioneller Bauhölzer und zukünftig relevanter Bauhölzer wurden aufgrund dessen untersucht. Ein weiterer Aspekt für die Schwerpunktlegung auf die Holzkeimträger war, dass nach Böhm (2002a) der Keimträgerversuch auf porösen Oberflächen als der wichtigste Wirksamkeitstest für Desinfektionsmittel im Tierhaltungsbereich anzusehen ist. Die Untersuchungen ergaben, dass sich die feingesägten Bauhölzer in Abhängigkeit von Temperatur und Art der Desinfektionsmittelgrundsubstanzen wirksam desinfizieren ließen. Die Nadelhölzer, allen voran das Kiefernholz, zeigten insgesamt die besten Ergebnisse. Diese Nadelhölzer sind in großem Umfang im deutschen Waldbestand vorhanden (BMEL 2018a) und werden auch effektiv für die Errichtung landwirtschaftlicher Betriebsgebäude genutzt (Bär 2022; Engler 2021; Jiang et al. 2019; Dietsch et al. 2018). Eine zukünftige Nutzung von Holz als Baumaterial kann aus der hygienischen Sicht zumindest nach den hier dargestellten Untersuchungen und Ergebnissen weiterhin erfolgen bzw. weiter ausgebaut werden.

Die unterschiedlichen Konzentrationen der Grundchemikalien auf den geprüften Hölzern sind vermutlich auf den spezifischen Gehalt an Holzinhaltstoffen (Tabelle 5) zurückzuführen. Im Vorfeld wurden alle Keimträger autoklaviert, da für die Laborversuche eine sterilisierte Oberfläche notwendig war (CEN 2020; 2019; DVG 2017b). Nach der Beschreibung von Esteves et al. (2011) gehen durch diese thermische Behandlung viele der ursprünglichen

Extraktstoffe verloren. Dieser Effekt war auch in den Versuchen der vorliegenden Arbeit anhand der bräunlich verfärbten Restflüssigkeit in nicht vollständig getrockneten Reagenzgläsern nach dem Prozessschritt des Autoklavierens (siehe 4.3.2.1) erkennbar. Unter Praxisbedingungen ist davon auszugehen, dass sich die Holzinhaltsstoffe noch deutlicher auf das Ergebnis auswirken würden, sofern diese in Abhängigkeit der Holzalterung noch vorhanden sind. Zytotoxische Effekte der Holzinhaltsstoffe wie von Mark et al. (1995) beschrieben, konnten in dieser Arbeit nicht beobachtet werden.

Hinsichtlich der Titerverluste durch Antrocknung und Desorption (Abbildung 10) unterschieden sich die geprüften Keimträger nur in geringem Umfang. Dies stimmt nicht mit der Beschreibung von Rheinbaben und Wolff (2002) überein. Nach den Autoren erwiesen sich einige Holzoberflächen (u. a. Kiefer oder Buche) mit sehr hohen Titerverlusten als nicht geeignet für Desinfektionsversuche. Pappelholz wird von den Autoren als Ausnahme genannt, mit vertretbaren Titerverlusten (bei u. a. EV-E oder NDV) zwischen 0,5 und 1,25 Zehnerpotenzen in Bezug auf den Initialtiter. Die durchschnittlichen Titerverluste in den durchgeführten Untersuchungen der vorliegenden Arbeit fielen unabhängig von der Holzart (außer NDV auf Kiefernholz) in die von Rheinbaben und Wolff (2002) angegebene Spanne oder lagen knapp darunter. In den Untersuchungen von Pirschel (2015) an Pappelholzkeimträgern wurden nach einer Trocknungszeit von 30 min im Exsikkator durchschnittliche Titerverluste je nach Virusspezies zwischen $0,3 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ und $1 \log_{10} \text{KID}_{50}/\text{ml}$ festgestellt. Damit bewegen sich auch diese Ergebnisse in zuvor genannter Spanne. In den Trocknungszeiten (Abbildung 9) wurde ersichtlich, dass die Laubhölzer, vor allem das Pappelholz, durch die rasche (und auch konsistente) Abtrocknung einen Vorteil gegenüber den Nadelhölzern in der Versuchsdurchführung boten. Diese relativ lange Trocknungsdauer der Nadelhölzer ist über den Hoftüpfelverschluss bei getrockneten Hölzern der Kieferngewächse (u. a. Fichte, Kiefer oder Douglasie) zu erklären. Dieser reversible Verschluss entsteht durch die Anlagerung des kreisförmig verdickten Torus an den Porus von Parenchymzellen oder Tracheiden (Rosenthal et al. 2010). Die kurze und konsistente Trocknung speziell des Pappelholzes könnte dazu geführt haben, dass sich dieses als Prüfkeimträger etabliert hat (CEN 2019; DVG 2017b). Bereits in der ersten Version der DVG-Richtlinie in den 1970er-Jahren wurde Pappelholz als hölzerner Keimträger aufgeführt (DVG 1975).

Yilmaz und Kaleta (2003b) beschreiben, dass sich Pappelholz im Vergleich zu verschiedenen Filtermaterialien besser als Prüfkeimträger eignet. Nach den Autoren wäre die Desinfektionsmittelprüfung zwar an diesen industriell gefertigten, porösen Materialien besser standardisierbar, aber aufgrund von hohen Virustiterverlusten nicht effektiv durchführbar. Neben den kurzen Trocknungszeiten sprechen nach den vorliegenden Untersuchungen auch weitere Eigenschaften für die Nutzung von Pappelholz, nicht nur als Surrogat für poröse

Oberflächen im Allgemeinen, sondern auch speziell für die Hygienisierung anderer Hölzer. Zum einen wirkte sich das Pappelholz in den Langzeitbeobachtungen am geringsten auf den Virustiter aus, was eine spezifische und weitestgehend unverfälschte Beurteilung der Wirksamkeit der in den Desinfektionstestungen eingesetzten Mittel erlaubt. Zum anderen benötigte das Pappelholz in den Desinfektionsmitteltestungen der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu den anderen Hölzern zumeist die höchsten Konzentrationen der getesteten Reinsubstanzen für eine wirksame Desinfektion. Daher könnte es als limitierende Holzart für die Ermittlung wirksamer Konzentrationen auf Holz im Allgemeinen betrachtet werden.

Die Desinfektion poröser Stalloberflächen umfasst aber nicht nur Holzoberflächen. Untersuchungen von Stoy (1983) ergaben, dass sich in der landwirtschaftlichen Tierhaltung Beton als poröse Matrix sowohl in der Reinigung als auch in der Desinfektion als das eigentliche hygienische Problem herausstellte. Nach den Versuchen der Autorin zur Reinigung ließ sich der Gesamtkeimgehalt von Holz um etwa eine dekadische Logarithmusstufe mehr reduzieren als derjenige von Beton. Auch in den anschließenden Desinfektionsversuchen fiel die Reduktion auf Holz noch einmal etwa um den gleichen, vorgenannten Faktor günstiger aus. Auch die DVG ist sich der Problematik des Betons bewusst (Böhm 1999). Der Grund, warum dennoch an Holzprüfkeimträgern als Surrogat für poröse Oberflächen festgehalten wurde, liegt einerseits an der schlechten Standardisierbarkeit von Betonkeimträgern und andererseits an der Beeinflussung der Ergebnisse durch das Herauslösen von Inhaltsstoffen aus frisch hergestellten und somit unzureichend abgebundenen Betonplättchen (Böhm 1999). Auch Mahnel und Kunz (1976) beschreiben diese Nachteile von Zementplättchen als Prüfkeimträger. In ihren Untersuchungen kam es schon während der Antrocknungsphase auf den Zementplättchen zu einer umfangreichen bis vollkommenen Virusinaktivierung. Letzteres schrieben die Autoren den vermutlich viruzid wirkenden, herausgelösten Chemikalien zu und erachteten daher Betonkeimträger als gänzlich ungeeignet. Den Faktor des pH-Wertes führten die Autoren nicht mit an. Dieser wurde in Untersuchungen zur Hygienisierbarkeit von Betonkeimträgern durch Gabbert et al. (2020) näher beleuchtet. Die Autoren bezogen sich in ihren Testungen auf den pH-Wert von frisch hergestelltem sowie gealtertem Beton. Nach Grubb et al. (2007) besitzt frischer Beton einen stark basischen pH-Wert von etwa 13, während der pH-Wert an der freiliegenden Oberfläche von gealtertem Beton durch den Prozess der Karbonatisierung auf etwa 8,5 abfällt. Die Untersuchungen von Gabbert et al. (2020) ergaben, dass der pH-Wert der Betonmatrix einen größeren Einfluss als der Faktor der Porosität auf die Rückgewinnung der Viren aus den Keimträgern und die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel hatte. Auch zeigten die Autoren, dass der innere pH-Wert von 60 Jahre altem Beton, der aus einer Bohrung entnommen wurde, einen pH-Wert von > 12 aufwies und somit immer noch stark alkalisch wirkte, was weiterhin einen Einfluss auf die Ergebnisse hätte.

Mahnel und Kunz (1976) überprüften in ihrer Studie auch die Eignung weiterer poröser Keimträger für die Desinfektionsmitteltestung. In den Teilversuchen zur Antrocknung, den Titerverlusten durch das Einlegen der Keimträger in Flüssigkeit und der eigentlichen Desinfektion stellte sich der Pappelkeimträger als die geeignetste Matrix heraus. Rheinbaben und Wolff (2002) berichten ebenfalls über deutliche Titerverluste auf anderen Keimträgern im Vergleich zum Pappelholz. Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse in der Literatur, der Etablierung in Prüfrichtlinien und Prüfnormen, der Eignung als Surrogat für andere Hölzer in Desinfektionsmitteltestungen und Langzeitbeobachtungen nach den vorgestellten Untersuchungen sowie der praktikablen Methodik sollte weiterhin an der Verwendung von Pappelholz als poröser Prüfkeimträger festgehalten werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Beständigkeit bzw. Dauerhaftigkeit von Stalloberflächen, die mit Chemikalien in Berührung kommen. Nach Schliesser (1975) ist Holz gegenüber den Einwirkungen von Desinfektionsmitteln als sehr widerstandsfähig anzusehen. Genauer geht der Autor insbesondere noch auf die Wirkung von Peressigsäure auf Holzoberflächen ein. Diese wird ebenfalls als nicht schädigend beschrieben.

In der Methodik unterscheiden sich die Keimträgerversuche von der Anwendung in der Praxis unter anderem in der Art und Weise, wie die Oberfläche der Desinfektionsmittellösung ausgesetzt wird. In den vorgestellten Untersuchungen nach DVG (2017b) wurden die beimpften Keimträger für eine Stunde in eine Desinfektionsmittelsuspension vollständig eingelegt, während die Oberfläche im Rahmen der Desinfektionspraxis eher nur kurzzeitig benetzt wird. Diesen Unterschied haben auch Borneff et al. (1975) angeführt, weshalb die Autoren dem Keimträgertest nur eine begrenzte Aussagekraft zuschreiben. Eine Klärung, in welchem Umfang die Ergebnisse standardisierter Prüfverfahren auf praktische Gegebenheiten übertragen werden können, wäre über die Durchführung von Praxis- bzw. Feldversuchen möglich, wie sie in der Phase 3 des europäischen Komitees 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ vorgesehen sind (Schubert 2016).

7. Zusammenfassung

Inaktivierung von Viren auf Holzoberflächen in der landwirtschaftlichen Tierhaltung: Effektivität chemischer Desinfektionsmittel sowie Langzeitbeobachtungen

In den durchgeführten Laborversuchen wurde die Inaktivierung von viralen Erregern auf Keimträgern verschiedener Holzarten untersucht. Dabei wurden unterschiedliche Ansätze verwendet, um einerseits die Hygienisierung durch ein Desinfektionsmittel zu überprüfen sowie andererseits die Tenazität der Erreger über einen bestimmten Zeitraum zu analysieren.

In den Desinfektionsprüfungen mit chemischen Grundchemikalien wurde gezeigt, dass sich intaktes, feingesägtes Bauholz mit geringer Rautiefe wirksam desinfizieren lässt. Die Reinsubstanz Peressigsäure stellte sich über alle Versuche gesehen als wirksamstes Desinfektionsmittel heraus. Abschließend kann unabhängig vom Erreger und der Holzart eine Konzentration von 0,1 % bei einer Temperatur von 10 °C und einer Einwirkzeit von einer Stunde empfohlen werden. Bei einer Temperatur von -10 °C wird eine Konzentration von 0,75 % empfohlen. Die Grundchemikalie Ameisensäure zeigte ebenfalls eine gute viruzide Wirksamkeit. Bei einer Einsatztemperatur von 10 °C und einer Einwirkdauer von einer Stunde kann unabhängig von der Holzart und dem viralen Erreger eine Konzentration von 2 % empfohlen werden. Bei einer Temperatur von -10 °C erhöhte sich diese Konzentration auf 5 %, was über gängigen Praxisstandards liegt. Für die Grundsubstanz Glutaraldehyd konnte nur eine begrenzte viruzide Wirkung festgestellt werden. Zur Desinfektion von behüllten Viren wird eine Konzentration von 1,5 % empfohlen, bei einer Einwirkzeit von einer Stunde und einer Temperatur von 10 °C.

In den Langzeitbeobachtungen wurden signifikante Unterschiede zwischen den geprüften Hölzern mit geringer Rautiefe sowie Unterschiede zu den Stahlkontrollen festgestellt. Bei den Versuchen mit dem unbehüllten Virus stellte sich heraus, dass Douglasienholz den Erreger am schnellsten inaktivierte, während dies bei dem behüllten Virus für Kiefernholz der Fall war. Diese positiven Effekte der hölzernen Keimträger lassen sich vermutlich auf ihre hygroskopischen Eigenschaften sowie auf die im Holz enthaltenen Stoffe wie Gerbsäuren, Harze und Tannine zurückführen. Diese Wirkungen bieten Potenzial für weitere Untersuchungen, einschließlich der Prüfung mit anderen extraktstoffreichen Holzarten wie beispielsweise Eichenholz.

Ebenfalls sollte in weiteren Studien die Desinfektionsmitteltestung in Praxis- bzw. Feldversuchen abschließend überprüft werden, um eine Übertragbarkeit der Ergebnisse aus den standardisierten Laborversuchen auf reale Stallbedingungen abzusichern.

8. Summary

Inactivation of viruses on wood surfaces in animal husbandry: Effectiveness of chemical disinfectants and long-term observations

In laboratory tests, the inactivation of viral pathogens on different types of wood germ carriers was investigated experimentally. Different approaches were used to check the hygienisation by a disinfectant and to analyse the tenacity of the pathogens over a certain period of time.

In the disinfection tests with basic chemical agents, it was shown that intact, fine-sawn timber with low roughness can be disinfected effectively. The pure substance peracetic acid was found to be the most effective disinfectant across all tests. In conclusion, a concentration of 0.1 % at a temperature of 10 °C and an exposure time of one hour can be recommended, irrespective of the viral pathogen and the type of wood. At a temperature of -10 °C, a concentration of 0.75 % is recommended. The base chemical formic acid also showed good virucidal activity. At an application temperature of 10 °C and an exposure time of one hour, a concentration of 2 % can be recommended, regardless of the wood species and the viral pathogen. At a temperature of -10 °C, this concentration increased to 5 %, which is above common practice standards. For the basic substance glutaraldehyde, only a limited virucidal effect was found. For disinfection of enveloped viruses, a concentration of 1.5 % is recommended, with an exposure time of one hour at a temperature of 10 °C.

In the long-term observations, significant differences were found between the tested timber with low roughness and also differences from the steel control. In the tests with the non-enveloped virus, Douglas-fir wood was found to inactivate the pathogen most rapidly, while this was the case for the enveloped virus with pine wood. These positive effects of the wooden germ carriers can probably be attributed to their hygroscopic properties as well as to the substances contained in the wood, such as tannic acids or resin. These effects offer potential for further research, including testing with other extractives-rich wood species such as oak.

Likewise, in further studies, disinfectant testing should be conclusively verified in practical or field trials to ensure that the results from standardised laboratory tests can be transferred to real stable conditions.

9. Literaturverzeichnis

- Aas G (2006): Die Schwarzpappel (*Populus nigra*) – zur Biologie einer bedrohten Baumart. LWF Wissen, 52, S. 7–12
- Aas G (2007): Systematik, Verbreitung und Morphologie der Waldkiefer (*Pinus sylvestris*). LWF Wissen, 57, S. 7–11
- Aas G (2008): Die Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) in Nordamerika: Verbreitung, Variabilität und Ökologie. LWF Wissen, 59, S. 7–11
- Aas G (2017): Die Fichte (*Picea abies*): Verwandtschaft, Morphologie und Ökologie. LWF Wissen, 80, S. 13–19
- Aas G (2022): Die Rotbuche (*Fagus sylvatica*): Verwandtschaft, Morphologie, Verbreitung und Ökologie. LWF Wissen, 86, S. 7–14
- Al-Khleif A (2008): Entwicklung eines quantitativen Keimträgertests zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen animale Viren im Lebensmittelbereich. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen
- Al-Khleif A, Baljer G, Herbst W (2009): Prüfung von Bioziden auf Wirksamkeit gegen animale Viren nach EU-Norm im Hinblick auf die Auswahl eines geeigneten Testvirus. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 122, S. 58–62. doi: 10.2376/0005-9366-122-58
- Althoff J, Freise J, Göggerle S, Hermes M, Kassel A, Teuber H (2023): Technische Regeln und Normen der Schädlingsbekämpfung. 4. Auflage, Lehrte: Beckmann Verlag GmbH & Co. KG - ISBN 978-3-910518-01-8
- Bankowski R A und Kinjo J (1965): Tissue-culture systems with Newcastle disease virus and relationship of antigenicity to immunogenicity among strains. Avian Dis, 9, S. 157–170
- Bär K (2022): Auf die Planung kommt es an - Landwirtschaftliches Bauen mit Holz. Bauernzeitung, 63, S. 19
- BAuA (2023): Biozidprodukte im Entscheidungsverfahren. Liste der Biozidprodukte, die in Deutschland aufgrund eines laufenden Entscheidungsverfahrens auf dem Markt bereitgestellt und verwendet werden dürfen. Abgerufen am: 26.09.2023 um 11.21 Uhr, von https://www.baua.de/DE/Themen/Chemikalien-Biostoffe/Chemikalienrecht/Biozide/pdf/Biozidprodukte-im-Entscheidungsverfahren.pdf?__blob=publicationFile&v=20
- Biermann U, Herbst W, Schliesser T (1990): Untersuchungen zur Widerstandsfähigkeit von bovinem Enterovirus und Aujeszkyvirus in Rindergülle bei verschiedenen Lagerungstemperaturen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 103, S. 88–90

Biermayer G und Tretter S (2016): Wie viel Fichte geht noch im Klimawandel? LWF aktuell, 23, S. 44–49

Blas-Machado U, Saliki J T, Sánchez S, Brown C C, Zhang J, Keys D, Woolums A, Harvey S B (2011): Pathogenesis of a *Bovine Enterovirus-1* Isolate in Experimentally Infected Calves. Vet Pathol, 48, S. 1075–1084. doi: 10.1177/0300985810395728

BMEL (2014a): Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern. Abgerufen am: 17.10.2023 um 15.08 Uhr, von <https://tsis.fli.de/GlobalTemp/202310171506506111.pdf>

BMEL (2014b): Schweinehaltungshygieneverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 2. April 2014 (BGBl. I S. 326), die zuletzt durch Artikel 134 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626) geändert worden ist

BMEL (2017): MKS-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Juli 2017 (BGBl. I S. 2666, 3245, 3526)

BMEL (2018a): Der Wald in Deutschland. Ausgewählte Ergebnisse der dritten Bundeswaldinventur. Abgerufen am: 11.10.2023 um 16.17 Uhr, von https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/Broschueren/bundeswaldinventur3.pdf?__blob=publicationFile&v=6

BMEL (2018b): Tiergesundheitsgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 21. November 2018 (BGBl. I S. 1938), das zuletzt durch Artikel 2 des Gesetzes vom 21. Dezember 2022 (BGBl. I S. 2852) geändert worden ist

BMEL (2019): Übersicht zum Tierseuchenrecht. Abgerufen am: 29.09.2023 um 17.03 Uhr, von <https://www.bmel.de/DE/themen/tiere/tiergesundheit/tierseuchen/tierseuchenrecht-uebersicht.html>

BMEL (2021): Charta für Holz 2.0. Abgerufen am: 11.10.2023 um 10.32 Uhr, von https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/Broschueren/ChartafuerHolz20.pdf?__blob=publicationFile&v=7

BMELV (2005): Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest und die Newcastle-Krankheit (Geflügelpest-Verordnung In der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3538)

BMELV (2006): Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2006 (BGBl. I S. 2043), die zuletzt durch Artikel 1a der Verordnung vom 29. Januar 2021 (BGBl. I S. 146) geändert worden ist

- BMELV (2011): Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (BGBl. I S. 1404), die zuletzt durch Artikel 4 der Verordnung vom 31. März 2020 (BGBl. I S. 752) geändert worden ist
- BMU (2021): Biozidrechts-Durchführungsverordnung vom 18. August 2021 (BGBl. I S. 3706)
- BMUNR (2013): Chemikaliengesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 28. August 2013 (BGBl. I S. 3498, 3991), das zuletzt durch Artikel 115 des Gesetzes vom 10. August 2021 (BGBl. I S. 3436) geändert worden ist
- Bodenschatz W (2022): Grundbegriffe der medizinischen Mikrobiologie. In: Kompaktwissen Desinfektion/Hrsg.: Bodenschatz W. 3. Auflage, S. 24-59, Hamburg: Behr's Verlag - ISBN 978-3-89947-170-0
- Böhm R (1986): Organische Säuren als Desinfektionsmittel. Fleischwirtschaft, 66, S. 976–979
- Böhm R (1999): Welche Mittel auswählen? - Desinfektion von Stallanlagen. DGS Magazin, 22, S. 29–34
- Böhm R (2002a): Grundlagen der Reinigung und Desinfektion. In: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredlungswirtschaft/Hrsg.: Strauch D und Böhm R. 2. Auflage, S. 19-63, Stuttgart: Enke Verlag - ISBN 3-7773-1796-9
- Böhm R (2002b): Reinigung und Desinfektion in der Haltung von Wiederkäuern und Schweinen. In: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredlungswirtschaft/Hrsg.: Strauch D und Böhm R. 2. Auflage, S. 65-118, Stuttgart: Enke Verlag - ISBN 3-7773-1796-9
- Borneff J, Werner H, van de Voorde H, Reybrouck G (1975): Kritische Beurteilung der Prüfmethode für chemische Desinfektionsmittel und -verfahren. Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene, 160, S. 590–600
- Bremer P (2003): Untersuchungen zur viruziden Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln bei verschiedenen Temperaturen. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen
- Brosinger F (2017): Fichte – ja gerne, aber mit Vernunft! LWF Wissen, 80, S. 6–11
- Burnet F M (1943): Human infection with the virus of Newcastle disease of fowls. Med J Aust, 2, S. 313–314. doi: 10.5694/j.1326-5377.1943.tb51217.x
- CEN (2014a): DIN EN 10088-1: Nichtrostende Stähle - Teil 1: Verzeichnis der nichtrostenden Stähle: Beuth Verlag GmbH. 2014-12. doi: 10.31030/2102106

CEN (2014b): DIN EN 10088-2: Nichtrostende Stähle - Teil 2: Technische Lieferbedingungen für Blech und Band aus korrosionsbeständigen Stählen für allgemeine Verwendung: Beuth Verlag GmbH. 2014-12. doi: 10.31030/2102107

CEN (2015): DIN EN 14675: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1): Beuth Verlag GmbH. 2015-06. doi: 10.31030/2250608

CEN (2019): DIN EN 16437: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2): Beuth Verlag GmbH. 2019-12. doi: 10.31030/3068764

CEN (2020): DIN EN 17122: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich auf nicht-porösen Oberflächen - Prüfverfahren und Anforderungen - Phase 2, Stufe 2: Beuth Verlag GmbH. 2020-02. doi: 10.31030/3086093

CEN (2021): DIN EN 12353: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Aufbewahrung von Prüforganismen für die Prüfung der bakteriziden (einschließlich Legionella), mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden und viruziden (einschließlich Bakteriophagen) Wirkung: Beuth Verlag GmbH. 2021-11. doi: 10.31030/3209227

Dauermann A und Enneking U (2019): Einstellungen deutscher LandwirtInnen zum Holzeinsatz beim Stallbau. AJARS, 29, S. 177–183. doi: 10.15203/OEGA_29.21

Dederich L und Witzel E (2006): Beispielhafte Betriebsgebäude mit Holz gebaut. Landtechnik, 61, S. 394–396. doi: 10.15150/LT.2006.1146

Destatis (2017): Land- und Forstwirtschaft, Fischerei. Betriebe mit Waldflächen. Abgerufen am: 11.10.2023 um 11.05 Uhr, von https://www.destatis.de/DE/Themen/Branchen-Unternehmen/Landwirtschaft-Forstwirtschaft-Fischerei/Wald-Holz/Publikationen/Downloads-Wald-und-Holz/betriebe-waldflaechen-2030211169004.pdf?__blob=publicationFile

Destatis (2022a): Baufertigstellungen von Wohn- und Nichtwohngebäuden (Neubau) nach überwiegend verwendetem Baustoff. Abgerufen am: 11.10.2023 um 10.07 Uhr, von https://www.destatis.de/DE/Themen/Branchen-Unternehmen/Bauen/Publikationen/Downloads-Bautaetigkeit/baufertigstellungen-baustoff-pdf-5311202.pdf?__blob=publicationFile

Destatis (2022b): Baugenehmigungen von Wohn- und Nichtwohngebäuden nach überwiegend verwendetem Baustoff. Abgerufen am: 11.10.2023 um 10.05 Uhr, von https://www.destatis.de/DE/Themen/Branchen-Unternehmen/Bauen/Publikationen/Downloads-Bautaetigkeit/baugenehmigungen-baustoff-pdf-53111107.pdf?__blob=publicationFile

Destatis (2022c): Land- und Forstwirtschaft, Fischerei. Bodennutzung der Betriebe. Abgerufen am: 11.10.2023 um 11.06 Uhr, von https://www.destatis.de/DE/Themen/Branchen-Unternehmen/Landwirtschaft-Forstwirtschaft-Fischerei/Publikationen/Bodennutzung/bodennutzung-2030212227004.pdf?__blob=publicationFile

Dietsch P, Jiang Y, Winter S (2018): Landwirtschaftliches Bauen mit Holz – vorbeugender chemischer Holzschutz zwangsläufig notwendig? IHF, 24, S. 325–338

DIN (2008): DIN 68365: Schnittholz für Zimmererarbeiten - Sortierung nach dem Aussehen - Nadelholz: Beuth Verlag GmbH. 2008-12. doi: 10.31030/1464046

Doyle T M (1927): A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus. J Comp Pathol Ther, 40, S. 144–169

DVG (1975): Prüfung an Viren. In: Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin/Hrsg.: DVG e. V., S. 33-46

DVG (1988): Prüfung an Viren. In: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel/Hrsg.: DVG e. V. 2. Auflage, S. 21-27, Gießen: DVG e. V. - ISBN 3-924851-22-0

DVG (2000): Prüfung an Viren. In: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel/Hrsg.: DVG e. V. 3. Auflage, S. 18-23, Gießen: DVG e. V. - ISBN 3-930511-80-0

DVG (2007): Prüfung an Viren. In: Richtlinien für die Prüfung von Desinfektionsverfahren und chemischen Desinfektionsmitteln/Hrsg.: DVG e. V. 4. Auflage, S. 18-23, Gießen: DVG Service GmbH - ISBN 978-3-939902-44-7

DVG (2017a): Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Anhang. Abgerufen am: 03.08.2023 um 13.24 Uhr, von https://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/V.6_Anhang_7Nov2017.pdf

DVG (2017b): Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Viruzidie. Abgerufen am: 03.08.2023 um 13.21, von <https://www.desinfektion->

[dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/V.4_Viruzidie_7Nov2017.pdf](https://www.dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/V.4_Viruzidie_7Nov2017.pdf)

DVG (2023a): DVG-Desinfektionsmittelliste für den Tierhaltungsbereich. Abgerufen am: 10.09.2023 um 10.42 Uhr, von <https://www.desinfektion-dvg.de/index.php?id=2150>

DVG (2023b): Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung, Bakterizidie. Abgerufen am: 03.08.2023 um 13.57 Uhr, von https://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/V.1_Bakterizidie_25Jun2023.pdf

ECHA (2013): CLH report Proposal for Harmonised Classification and Labelling. Substance Name: Glutaraldehyde. Abgerufen am: 26.09.2023 um 10.30 Uhr, von <https://echa.europa.eu/documents/10162/63ebd735-272a-af0b-16e1-d8788d36df0b>

ECHA (2021a): CLH report Proposal for Harmonised Classification and Labelling. International Chemical Identification: Formic Acid... %. Abgerufen am: 26.09.2023 um 10.36 Uhr, von <https://echa.europa.eu/documents/10162/4c0b02bd-1612-421f-d9dc-772c377fdf7b>

ECHA (2021b): CLH report Proposal for Harmonised Classification and Labelling. International Chemical Identification: peracetic acid ...%. Abgerufen am: 26.09.2023 um 10.28 Uhr, von <https://echa.europa.eu/documents/10162/1ba6e1b3-72f4-efd3-f8a0-11f5ed5fcef8>

ECHA (2023): Biocidal Active Substances. Abgerufen am: 27.07.2023 um 15.00 Uhr, von <https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>

Eisfeld J-G (2006): Wie ich als Förster die Pappeln lieben lernte. LWF Wissen, 52, S. 66–68

Engler K (2021): Ein Schweinestall aus Holz?! Landwirt, S. 32–35

Esteves B, Videira R, Pereira H (2011): Chemistry and ecotoxicity of heat-treated pine wood extractives. Wood Sci Technol, 45, S. 661–676. doi: 10.1007/s00226-010-0356-0

Europäische Kommission (2014): Delegierte Verordnung (EU) Nr. 1062/2014 der Kommission vom 4. August 2014 über das Arbeitsprogramm zur systematischen Prüfung aller in Biozidprodukten enthaltenen alten Wirkstoffe gemäß der Verordnung (EU) Nr. 528/2012 des Europäischen Parlaments und des Rates. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2022/825 der Kommission vom 17. März 2022: Amtsblatt der Europäischen Union. 10.10.2014, S. L 294/1

Europäische Kommission (2015): Durchführungsverordnung (EU) 2015/1759 der Kommission vom 28. September 2015 zur Genehmigung von Glutaraldehyd als alten

Wirkstoff zur Verwendung in Biozidprodukten der Produktarten 2, 3, 4, 6, 11 und 12:
Amtsblatt der Europäischen Union. 02.10.2015, S. L 257/19

Europäische Kommission (2016): Durchführungsverordnung (EU) 2016/672 der Kommission vom 29. April 2016 zur Genehmigung von Peressigsäure als alten Wirkstoff zur Verwendung in Biozidprodukten der Produktarten 1, 2, 3, 4, 5 und 6: Amtsblatt der Europäischen Union. 30.04.2016, S. L 116/3

Europäische Kommission (2019a): Delegierte Verordnung (EU) 2020/687 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften für die Prävention und Bekämpfung bestimmter gelisteter Seuchen. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2023/751 der Kommission vom 30. Januar 2023: Amtsblatt der Europäischen Union. 03.06.2020, S. L 174/64

Europäische Kommission (2019b): Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2023/1570 der Kommission vom 23. Mai 2023: Amtsblatt der Europäischen Union. 03.06.2020, S. L 174/211

Europäische Kommission (2021): Durchführungsverordnung (EU) 2021/934 der Kommission vom 9. Juni 2021 mit besonderen Maßnahmen zur Bekämpfung der klassischen Schweinepest. Zuletzt geändert durch Durchführungsverordnung (EU) 2021/2158 der Kommission vom 6. Dezember 2021: Amtsblatt der Europäischen Union. 10.06.2021, S. L 204/18

Europäische Kommission (2023): Durchführungsverordnung (EU) 2023/594 der Kommission vom 16. März 2023 mit besonderen Seuchenbekämpfungsmaßnahmen in Bezug auf die Afrikanische Schweinepest und zur Aufhebung der Durchführungsverordnung (EU) 2021/605. Zuletzt geändert durch Durchführungsverordnung (EU) 2023/1590 der Kommission vom 1. August 2023: Amtsblatt der Europäischen Union. 17.03.2023, S. L 79/65

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2004a): Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2021/382 der Kommission vom 3. März 2021: Amtsblatt der Europäischen Union. 30.04.2004, S. L 139/1

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2004b): Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. Zuletzt geändert durch Delegierte

Verordnung (EU) 2023/166 der Kommission vom 26. Oktober 2022: Amtsblatt der Europäischen Union. 30.04.2004, S. L 139/55

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2008): Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2023/1434 der Kommission vom 25. April 2023: Amtsblatt der Europäischen Union. 31.12.2008, S. L 353/1

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2012): Verordnung (EU) Nr. 528/2012 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Mai 2012 über die Bereitstellung auf dem Markt und die Verwendung von Biozidprodukten. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2021/807 der Kommission vom 10. März 2021: Amtsblatt der Europäischen Union. 26.06.2012, S. L 167/1

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2016): Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit (Tiergesundheitsrecht). Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2018/1629 der Kommission vom 25. Juli 2018: Amtsblatt der Europäischen Union. 31.03.2016, S. L 84/1

Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union (2018): Verordnung (EU) 2018/848 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 30. Mai 2018 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen sowie zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates. Zuletzt geändert durch Delegierte Verordnung (EU) 2023/207 der Kommission vom 24. November 2022: Amtsblatt der Europäischen Union. 14.06.2018, S. L 150/1

Falk W, Engel M, Mette T, Klemmt H-J (2022): Die Zukunft der Buche – zwischen Rückeroberung und Rücksterben. LWF Wissen, 86, S. 35–43

Felbermeier B und Mosandl R (2002): *Fagus sylvatica*. In: Enzyklopädie der Holzgewächse. Handbuch und Atlas der Dendrologie/Hrsg.: Roloff A et al., Landsberg am Lech: Ecomed - ISBN 3609720301

FLI (2020): Newcastle-Krankheit (ND): Amtliche Methode und Falldefinition. Abgerufen am: 06.09.2023 um 11.48 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00025600/TS20-Newcastle-Krankheit-2020-09-29.pdf

FLI (2023): Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen. Abgerufen am: 29.09.2023 um 16.42 Uhr, von <https://desinfektions-rl.fli.de/de/home>

Freise J, Pfeffer M, Lorenz K, Michels I, Menge C (2023): Entwesung. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 09.10.2023 um 11.58 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052117/FLI-2-Entwesung-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Frölich M, Cortez de Jäckel S, Selhorst T (1992): Tenazität von Newcastle-Disease-Virus (LaSota) in den Exkrementen von Legehennen in unterschiedlichen Haltungssystemen. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 99, S. 494–499

Gabbert L R, Neilan J G, Rasmussen M (2020): Recovery and chemical disinfection of foot-and-mouth disease and African swine fever viruses from porous concrete surfaces. J Appl Microbiol, 129, S. 1092–1101. doi: 10.1111/jam.14694

Grosser D (2006): Das Holz der Pappeln – Eigenschaften und Verwendung. LWF Wissen, 52, S. 56–61

Grosser D (2007): Das Holz der Kiefer – Eigenschaften und Verwendung. LWF Wissen, 57, S. 67–73

Grosser D und Teetz W (1998): Einheimische Nutzhölzer (Loseblattsammlung). 1. Auflage, Bonn: Centrale Marketing-Gesellschaft der deutschen Agrarwirtschaft

Grubb J A, Limaye H S, Kakade A M (2007): Testing pH of concrete. Concr Int, 29, S. 78–83

Gür S, Yapkiç O, Yilmaz A (2008): Serological survey of bovine enterovirus type 1 in different mammalian species in Turkey. Zoonoses Public Health, 55, S. 106–111. doi: 10.1111/j.1863-2378.2007.01095.x

Hafez M H und Böhm R (2002): Reinigung und Desinfektion in der Geflügelwirtschaft. In: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredlungswirtschaft/Hrsg.: Strauch D und Böhm R. 2. Auflage, S. 123-152, Stuttgart: Enke Verlag - ISBN 3-7773-1796-9

Hamblin C, Knowles N J, Hedger R S (1985): Isolation and identification of bovid enteroviruses from free-living wild animals in Botswana. Vet Rec, 116, S. 238–239. doi: 10.1136/vr.116.9.238

Hölzle L E, Philipp W, Michels I, Menge C (2023): Chemische Desinfektionsmittel: Ameisensäure, Zitronensäure und andere organische Säuren. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.:

Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 21.09.2023 um 13.40 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052134/FLI-5-3-3-7-Chemische-Desinfektionsmittel-organische-Saeuren-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Hoy S (2016): Reinigung und Desinfektion. In: Nutztierhaltung und -hygiene/Hrsg.: Hoy S, Gauly M, Krieter J. 2. Auflage, S. 256-268, Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer - ISBN 978-3-8252-4369-2

Hughes L E und Ryan M D (2008): Enteroviruses of Animals. In: Encyclopedia of Virology/Hrsg.: Mahy B M J und Regenmortel M H V van. 3. Auflage, Amsterdam: Acad. Press - ISBN 0-12-373935-7

ICTV *Paramyxoviridae* Study Group (2016): Adding one (1) new species and renaming of twelve (12) species in the genus *Avulavirus*. Abgerufen am: 06.09.2023 um 10.50 Uhr, von https://ictv.global/ictv/proposals/2016.001a,bM.A.v2.Avulavirus_spren.pdf

ICTV *Paramyxoviridae* Study Group (2018): Re-organization of the family *Paramyxoviridae*. Abgerufen am: 06.09.2023 um 10.52 Uhr, von <https://ictv.global/ictv/proposals/2018.011M.A.v1.Paramyxoviridae.zip>

ICTV *Paramyxoviridae* Study Group (2022): Rename all species in the family to comply with the ICTV-mandated binomial format (*Mononegavirales: Paramyxoviridae*). Abgerufen am: 06.09.2023 um 11.20 Uhr, von https://ictv.global/ictv/proposals/2021.026M.Paramyxoviridae_sprename.zip

ICTV *Picornaviridae* Study Group (2011): In the genus *Enterovirus*, family *Picornaviridae*, create 2 new species, named *Enterovirus F* and *Enterovirus G*, respectively, and rename 10 existing species. Abgerufen am: 01.09.2023 um 11.47 Uhr, von <https://ictv.global/ictv/proposals/2011.018a,bV.A.v2.Enterovirus-Sp,Ren.pdf>

IHO (2023): IHO-Desinfektionsmittelliste für Flächendesinfektion der Tierhygiene. Abgerufen am: 19.09.2023 um 10.23 Uhr, von <https://www.desinfektionsmittelliste.de/Home/Produktliste/9>

Jiang L, Bao Q, He W, Fan D-M, Cheng S-M, López-Pujol J, Chung M G, Sakaguchi S, Sánchez-González A, Gedik A, Li D-Z, Kou Y-X, Zhang Z-Y (2022): Phylogeny and biogeography of *Fagus* (Fagaceae) based on 28 nuclear single/low-copy loci. *J Syst Evol*, 60, S. 759–772. doi: 10.1111/jse.12695

Jiang Y, Dietsch P, Winter S (2019): Landwirtschaftliche Nutzgebäude aus Holz. *LWF aktuell*, 25, S. 53–55

Jiménez-Clavero M A, Escribano-Romero E, Mansilla C, Gómez N, Córdoba L, Roblas N, Ponz F, Ley V, Sáiz J-C (2005): Survey of bovine enterovirus in biological and environmental

- samples by a highly sensitive real-time reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol*, 71, S. 3536–3543. doi: 10.1128/AEM.71.7.3536-3543.2005
- Jones L A, Hoffman R K, Phillips C R (1967): Sporicidal activity of peracetic acid and beta-propiolactone at subzero temperatures. *Appl Microbiol*, 15, S. 357–362. doi: 10.1128/am.15.2.357-362.1967
- Kaaden O-R (2002): Viruskrankheiten der Tiere. In: *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre/Hrsg.: Rolle M und Mayr A*. 7. Auflage, S. 145-375, Stuttgart: Enke - ISBN 3-7773-1795-0
- Kaleta E F und Baldauf C (1988): Newcastle disease in free-living and pet birds. In: *Newcastle disease/Hrsg.: Alexander D J*. 2. Auflage, S. 197-246, Norwell: Kluwer Academic Publishers - ISBN 0-89838-392-7
- Kalter S S (1960): Animal "Orphan" Enteroviruses. *Bull World Health Organ*, 22, S. 319–337
- Kärber G (1931): Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmakol*, 162, S. 480–483. doi: 10.1007/BF01863914
- Köhler C (2006): Untersuchungen zur Änderung der DVG-Desinfektionsmittelrichtlinien (Viruzidie). Leipzig: Universität Leipzig
- Konnert M, Ruetz W, Schirmer Randolph (2008): Fragen zum forstlichen Vermehrungsgut bei Douglasie. *LWF Wissen*, 59, S. 22–26
- Kramer A (2022): Chemische Desinfektion. In: *Kompaktwissen Desinfektion/Hrsg.: Bodenschatz W*. 3. Auflage, S. 155-211, Hamburg: Behr's Verlag - ISBN 978-3-89947-170-0
- Kramer A, Reichenwagen S, Heldt P, Widulle H, Nürnberg W (2008a): Oxidantien. In: *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung/Hrsg.: Kramer A und Assadian O*. 6. Auflage, S. 713-745, Stuttgart: Georg Thieme Verlag - ISBN 978-3-13-141121-1
- Kramer A, Reichenwagen S, Widulle H, Heldt P, Nürnberg W (2008b): Aldehyde. In: *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung/Hrsg.: Kramer A und Assadian O*. 6. Auflage, S. 670-686, Stuttgart: Georg Thieme Verlag - ISBN 978-3-13-141121-1
- Kramer A, Reichenwagen S, Widulle H, Nürnberg W, Heldt P (2008c): Organische Carbonsäuren. In: *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung/Hrsg.: Kramer A und Assadian O*. 6. Auflage, S. 690-710, Stuttgart: Georg Thieme Verlag - ISBN 978-3-13-141121-1

Kraneveld F C (1926): Over een in Ned.-Indië heersche ziele onder het pluimvee. Ned Indisch BI Diergeneesk, 38, S. 448–450

Kroiher F und Schmitz F (2015): Baumarten-Atlas zur dritten Bundeswaldinventur (BWI 2012). Abgerufen am: 16.10.2023 um 10.33 Uhr, von [https://literatur.thuenen.de/digbib_extern/dn055892.pdf?Text=Y.1%20Kroiher,%20Schmitz,%20Baumartenatlas%20zur%20dritten%20Bundeswaldinventur%20\(BWI2012\)%20%20%20%20%20\(in%20nat%20C3%20BCrlichen%20Waldgesellschaften\)&prRolle=public&prInv=BWI2012&prKapitel=16.01&mpXicode=9999](https://literatur.thuenen.de/digbib_extern/dn055892.pdf?Text=Y.1%20Kroiher,%20Schmitz,%20Baumartenatlas%20zur%20dritten%20Bundeswaldinventur%20(BWI2012)%20%20%20%20%20(in%20nat%20C3%20BCrlichen%20Waldgesellschaften)&prRolle=public&prInv=BWI2012&prKapitel=16.01&mpXicode=9999)

Kunin C M und Minuse E (1957): New bovine viral agents isolated in Michigan. Public Health Rep (1896), 72, S. 251–252

Kunin C M und Minuse E (1958): The isolation in tissue culture, chick embryo and suckling mice of filtrable agents from healthy dairy cattle. J Immunol, 80, S. 1–11

Lächele R (1990): Untersuchungen über die bakterizide Wirkung einiger Stalldesinfektionsmittel im Suspensionsversuch und praxisnahen Sprühdesinfektionsmodell unter Berücksichtigung der Faktoren Temperatur und Wasserhärte. München: Ludwig-Maximilians-Universität München

Mahnel H (1979): Resistenzunterschiede zwischen Viren verschiedener Gruppen gegenüber einigen chemisch-physikalischen Dekontaminationsverfahren. Infection, 7, S. 240–246. doi: 10.1007/BF01648934

Mahnel H und Kunz W (1976): Eignung von Keimträgern zur Prüfung von Desinfektionsmitteln gegenüber Virusarten. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 89, S. 138-142 & 149–152

Maris P (1995): Modes of action of disinfectants. Rev Sci Tech, 14, S. 47–55

Mark H F, Naram R, Singer J T, Rice R W, Bastan B, Beauregard L J, LaMarche P H (1995): Cytotoxicity and genotoxicity of wood drying condensate from Southern Yellow Pine: an in vitro study. Mutat Res, 342, S. 191–196. doi: 10.1016/0165-1218(95)90028-4

Martin H, Soumet C, Fresnel R, Morin T, Lamaudière S, Le Sauvage A L, Deleurme K, Maris P (2013): Comparison of the virucidal efficiency of peracetic acid, potassium monopersulfate and sodium hypochlorite on hepatitis A and enteric cytopathogenic bovine orphan virus. J Appl Microbiol, 115, S. 955–968. doi: 10.1111/jam.12297

McFerran J B (1962): Bovine Enteroviruses. Ann N Y Acad Sci, 101, S. 436–443. doi: 10.1111/j.1749-6632.1962.tb18883.x

Merz K, Niemann A, Torno S (2020): Bauen mit Laubholz. 1. Auflage, München: DETAIL Business Information GmbH - ISBN 978-3-95553-504-9

Michels I, Menge C, Philipp W (2023): Chemische Desinfektionsmittel: Aldehyde. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 22.09.2023 um 15.05 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052132/FLI-5-3-3-5-Chemische-Desinfektionsmittel-Aldehyde-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Mittrach B (1979): Dauerhaft mit Holz bauen. BLW, 8, S. 53

Moll T und Finlayson A V (1957): Isolation of cytopathogenic viral agent from feces of cattle. *Science*, 126, S. 401–402. doi: 10.1126/science.126.3270.401

Müller W, Schlenker G, Zucker B-A (2021): Kompendium der Tierhygiene. 6. Auflage, Berlin: Lehmanns Media - ISBN 978-3-96543-202-4

Nygaard P und Øyen B-H (2017): Spread of the Introduced Sitka Spruce (*Picea sitchensis*) in Coastal Norway. *Forests*, 8, S. 24. doi: 10.3390/f8010024

Obladen N, Dechering P, Skiadaresis G, Tegel W, Keßler J, Höllerl S, Kaps S, Hertel M, Dulamsuren C, Seifert T, Hirsch M, Seim A (2021): Tree mortality of European beech and Norway spruce induced by 2018-2019 hot droughts in central Germany. *Agric For Meteorol*, 307, S. 108482. doi: 10.1016/j.agrformet.2021.108482

Olszewska H, Paluszak Z, Jarzabek Z (2008): Survival of bovine enterovirus strain LCR-4 in water, slurry, and soil. *Bull Vet Inst Pulawy*, 52, S. 205–209

Philipp W, Hölzle L E, Michels I, Menge C (2023a): Chemische Desinfektionsmittel: Grundsätze zu Anforderungen und Anwendungen von Wirkstoffklassen. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 17.09.2023 um 12.56 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052142/FLI-5-3-3-Desinfektionsmittel-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Philipp W, Hölzle L E, Michels I, Menge C (2023b): Vorläufige Desinfektion. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 09.10.2023 um 13.25 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052119/FLI-3-2-vorlaeufige-Desinfektion-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Philipp W, Hölzle L E, Michels I, Menge C, Scheinemann H A, Reiche S (2023c): Laufende Desinfektion und Bereichsbildung. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut.

Abgerufen am: 09.10.2023 um 14.26 Uhr, von
https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052118/FLI-3-1-laufende-Desinfektion-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Philipp W, Hölzle L E, Michels I, Menge C, Scheinemann H A, Reiche S (2023d): Reinigung. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 03.10.2023 um 11.23 Uhr, von https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052121/FLI-4-Reinigung-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

Pirschel J C (2015): Untersuchungen zur Eignung verschiedener animaler Viren zur Prüfung der Viruzidie chemischer Desinfektionsmittel in der Nutztierhaltung. Leipzig: Universität Leipzig

Pontailier J Y, Ceulemans R, Guittet J (1999): Biomass yield of poplar after five 2-year coppice rotations. *Forestry (Lond)*, 72, S. 157–163

Prince R A, Liston A, Strauss S H (1998): Phylogeny and systematics of *Pinus*. In: Ecology and biogeography of *Pinus*/Hrsg.: Richardson D M. 1. Auflage, S. 49-68, Cambridge: Cambridge Univ. Press - ISBN 0-521-551765

Rat der Europäischen Union (1998): Richtlinie 98/58/EG des Rates vom 20. Juli 1998 über den Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017: Amtsblatt der Europäischen Union. 08.08.1998, S. L 221/23

Rat der Europäischen Union (1999): Richtlinie 1999/74/EG des Rates vom 19. Juli 1999 zur Festlegung von Mindestanforderungen zum Schutz von Legehennen. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017: Amtsblatt der Europäischen Union. 03.08.1999, S. L 203/53/7

Rat der Europäischen Union (2007): Richtlinie 2007/43/EG des Rates vom 28. Juni 2007 mit Mindestvorschriften zum Schutz von Masthühnern. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017: Amtsblatt der Europäischen Union. 12.07.2007, S. L 182/19

Rat der Europäischen Union (2008a): Richtlinie 2008/119/EG des Rates vom 18. Dezember 2008 über Mindestanforderungen für den Schutz von Kälbern. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017: Amtsblatt der Europäischen Union. 15.01.2009, S. L 10/7

Rat der Europäischen Union (2008b): Richtlinie 2008/120/EG des Rates vom 18. Dezember 2008 über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen. Zuletzt geändert durch

Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017: Amtsblatt der Europäischen Union. 18.02.2009, S. L 47/5

Rhee C H, Her M, Jeong W (2022a): Modified Vaccinia Virus Ankara as a Potential Biosafety Level 2 Surrogate for African Swine Fever Virus in Disinfectant Efficacy Tests. *Pathogens*, 11. doi: 10.3390/pathogens11030320

Rhee C H, Her M, Jeong W (2022b): Virucidal efficacy of potassium peroxymonosulfate, sodium dichloroisocyanurate, glutaraldehyde, and quaternary ammonium compounds against Newcastle disease virus. *J Prev Vet Med*, 46, S. 16–21. doi: 10.13041/jpvm.2022.46.1.16

Rhee C H, Park S-C, Her M, Jeong W (2022c): Surrogate Selection for Foot-and-Mouth Disease Virus in Disinfectant Efficacy Tests by Simultaneous Comparison of Bacteriophage MS2 and Bovine Enterovirus Type 1. *Viruses*, 14. doi: 10.3390/v14122590

Rheinbaben F von und Wolff M H (2002): Handbuch der viruswirksamen Desinfektionen. 1. Auflage, Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag - ISBN 3-540-67532-9

Richardson D M und Rundel P W (1998): Ecology and biogeography of *Pinus*: an introduction. In: Ecology and biogeography of *Pinus*/Hrsg.: Richardson D M. 1. Auflage, S. 3-46, Cambridge: Cambridge Univ. Press - ISBN 0-521-551765

Richter K und Ehmcke G (2017): Das Holz der Fichte – Eigenschaften und Verwendung. LWF Wissen, 80, S. 117–124

Röhle H, Hartmann K-U, Steinke C, Wolf H (2005): Wuchsleistung von Pappel und Weide im Kurzumtrieb. *AFZ-DerWald*, 60, S. 745–747

Roloff A (2006): Der Baum des Jahres 2006: die Schwarz-Pappel (*Populus nigra* L.) – Biologie, Ökologie, Verwendung. In: Die Schwarz-Pappel/Hrsg.: Ministerium für Ländliche Entwicklung, Umwelt und Verbraucherschutz des Landes Brandenburg. 1. Auflage, S. 8-14, Berlin: hendrik Bäßler verlag - ISBN 3-933352-65-7

Rosenthal M, Bäucker E, Bues C-T (2010): Holzaufbau und Tränkbarkeit: Zum Einfluss der Mikrostruktur des Holzes auf das Eindringverhalten von Flüssigkeiten. *Holz Zentralbl*, 34, S. 852–854

Scheinemann H A, Michels I, Menge C (2023): Chemische Desinfektionsmittel: Peressigsäure. In: Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen/Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut. Abgerufen am: 23.10.2023 um 16.08 Uhr, von

https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00052133/FLI-5-3-3-6-Chemische-Desinfektionsmittel-Peressigsaeure-RL-Desinfektion-V1-0.pdf

- Schißlbauer J, Bork K, Muser M, Klemmt H-J, Hahn A (2022): Waldschutzfragen und Aktuelles zur Vitalität der Buche in Bayern. LWF Wissen, 86, S. 44–56
- Schliesser T (1975): Tierarzt und Desinfektion. Tierärztl Umsch, 30, S. 319–324
- Schliesser T (1981): Grundlagen der Desinfektion. In: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft/Hrsg.: Schliesser T und Strauch D. 1. Auflage, S. 1-69, Stuttgart: Enke - ISBN 3-432-91641-8
- Schliesser T (2022): Desinfektionsmaßnahmen in der Veterinärmedizin. In: Kompaktwissen Desinfektion/Hrsg.: Bodenschatz W. 3. Auflage, S. 390-420, Hamburg: Behr's Verlag - ISBN 978-3-89947-170-0
- Schmidt F (2015): Etablierung neuer Richtlinien für die Desinfektionsmittelprüfung im Bereich Tierhaltung sowie für die tierärztliche Praxis. Leipzig: Universität Leipzig
- Schmidt P A (1998): Picea. In: Enzyklopädie der Holzgewächse. Handbuch und Atlas der Dendrologie/Hrsg.: Roloff A et al., Landsberg am Lech: Ecomed - ISBN 3609720301
- Schmidt P A (2002): Picea abies. In: Enzyklopädie der Holzgewächse. Handbuch und Atlas der Dendrologie/Hrsg.: Roloff A et al., Landsberg am Lech: Ecomed - ISBN 3609720301
- Schubert G F (2016): Leitfaden Desinfektion, Sterilisation und Entwesung. 10. Auflage, Hamburg: Behr's Verlag - ISBN 978-3-95468-405-2
- Schuldt B, Buras A, Arend M, Vitasse Y, Beierkuhnlein C, Damm A, Gharun M, Grams T E, Hauck M, Hajek P, Hartmann H, Hiltbrunner E, Hoch G, Holloway-Phillips M, Körner C, Larysch E, Lübke T, Nelson D B, Rammig A, Rigling A, Rose L, Ruehr N K, Schumann K, Weiser F, Werner C, Wohlgemuth T, Zang C S, Kahmen A (2020): A first assessment of the impact of the extreme 2018 summer drought on Central European forests. Basic Appl Ecol, 45, S. 86–103. doi: 10.1016/j.baae.2020.04.003
- Schütt P und Stimm B (2006): Pinus sylvestris. In: Enzyklopädie der Holzgewächse. Handbuch und Atlas der Dendrologie/Hrsg.: Roloff A et al., Landsberg am Lech: Ecomed - ISBN 3609720301
- Spearman C (1908): The method of 'right and wrong cases' ('constant stimuli') without Gauss's formulae. Br J Psychol, 2, S. 227–242. doi: 10.1111/j.2044-8295.1908.tb00176.x
- Sporkenbach-Höffler J, Wiegers K J, Dernick R (1983): Untersuchungen zum Mechanismus der Virusinaktivierung durch Persäuren. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B, 177, S. 469–481
- Steiger A (1986): Desinfektion. Tierärztliche Praxis. 1. Auflage, Jena: VEB Gustav Fischer

- Stoy F-J (1983): Über die Auswirkung der Hochdruckreinigung und -desinfektion mit unterschiedlichen Temperaturen auf den Keimgehalt von Stalloberflächen. Hohenheim: Universität Hohenheim
- Strauch D (1981): Reinigung und Desinfektion in der Rinder- und Schweinehaltung. In: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft/Hrsg.: Schliesser T und Strauch D, S. 70-306, Stuttgart: Enke - ISBN 3-432-91641-8
- Thiel N (1978): Bedeutung des Milieus bei der Stalldesinfektion. 1. Der Einfluss von Komponenten des Stallmilieus auf die Desinfektion. Prakt Tierarzt, 59, S. 850–862
- Ticháček B (1972): Peressigsäure. In: Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band 1/Hrsg.: Horn H, Přivora M und Weuffen W. 1. Auflage, S. 162-177, Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit
- Torno S (2022): Das Holz der Rotbuche: Eigenschaften und Verwendung. LWF Wissen, 86, S. 141–149
- Trauzettel B (1993): Untersuchungen über die Eignung organischer Säuren als Desinfektionsmittel für die Tierhaltung. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen
- TSIS (2023): Newcastle-Krankheit [ND]. Abgerufen am: 08.09.2023 um 13.24 Uhr, von https://tsis.fli.de/Reports/Info_SO.aspx?ts=013&guid=74e8267c-dec3-4931-a8d2-b268675ea1c7
- Ul-Rahman A, Ishaq H M, Raza M A, Shabbir M Z (2022): Zoonotic potential of Newcastle disease virus: Old and novel perspectives related to public health. Rev Med Virol, 32, S. e2246. doi: 10.1002/rmv.2246
- Walentowski H, Kölling C, Ewald J (2007): Die Waldkiefer – bereit für den Klimawandel? LWF Wissen, 57, S. 37–46
- Weinhold E und Köhler A (1972): Versuche am Newcastle Disease-Virus zur Erstellung eines Prüfungsschemas für viruzid wirkende chemische Desinfektionsmittel. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 85, S. 27–32
- Weisgerber H (2010): Populus. In: Enzyklopädie der Holzgewächse. Handbuch und Atlas der Dendrologie/Hrsg.: Roloff A et al., Landsberg am Lech: Ecomed - ISBN 3609720301
- Wekerle J (1988): Untersuchungen zur Wirkung organischer Säuren auf Viren. Tierarztl Umsch, 43, S. 646–654
- Weldon S L, Blue J L, Wooley R E, Lukert P D (1979): Isolation of Picornavirus from Feces and Semen from an Infertile Bull. J Am Vet Med Assoc, 174, S. 168–169

Weltorganisation für Tiergesundheit (2021): Technical disease cards: Newcastle Disease. Abgerufen am: 07.09.2023 um 15.49 Uhr, von <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/newcastle-disease-virus-wild-birdsinfection-with.pdf>

Wróbel M, Małaczewska J, Kaczorek-Łukowska E (2022): Antiviral Effect of Bovine Lactoferrin against Enterovirus E. *Molecules*, 27. doi: 10.3390/molecules27175569

Yilmaz A und Kaleta E F (2003a): Evaluation of virucidal activity of three commercial disinfectants and formic acid using bovine enterovirus type 1 (ECBO virus), mammalian orthoreovirus type 1 and bovine adenovirus type 1. *Vet J*, 166, S. 67–78. doi: 10.1016/S1090-0233(02)00269-1

Yilmaz A und Kaleta E F (2003b): Investigations on suitability of different materials for carriers to be used for virucidal testing of chemical disinfectants in the veterinary field. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 50, S. 461–465. doi: 10.1046/j.0931-1793.2003.00708.x

Zheng T (2007): Characterisation of two enteroviruses isolated from Australian brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand. *Arch Virol*, 152, S. 191–198. doi: 10.1007/s00705-006-0838-4

Zhu L, Xing Z, Gai X, Li S, San Z, Wang X (2014): Identification of a novel enterovirus E isolates HY12 from cattle with severe respiratory and enteric diseases. *PLoS One*, 9, S. e97730. doi: 10.1371/journal.pone.0097730

Zöllner H, Kramer A, Youssef P, Youssef U, Adrian V (1995): Orientierende Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von ausgewählten mikrobiziden Wirkstoffen. *Hyg Med*, 20, S. 401–417

10. Anhang

Tabelle 6: EV-E auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,00	
	0,01	4,67	2,33
	0,025	3,83	3,17
	0,05	$\leq 3,83$	$\geq 3,17$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
2	WSH	7,00	
	0,01	5,00	2,00
	0,025	4,33	2,67
	0,05	$\leq 3,50$	$\geq 3,50$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
3	WSH	7,33	
	0,01	5,67	1,67
	0,025	5,17	2,17
	0,05	5,00	2,33
	0,075	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 7: EV-E auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,17	
	0,0075	5,33	1,83
	0,01	5,67	1,50
	0,025	4,17	3,00
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
2	WSH	7,33	
	0,0075	5,33	2,00
	0,01	3,67	3,67
	0,025	$\leq 3,17$	$\geq 4,17$
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
3	WSH	7,00	
	0,0075	5,33	1,67
	0,01	4,83	2,17
	0,025	3,50	3,50
	0,05	$\leq 3,00$	$\geq 4,00$
	0,075	$\leq 2,67$	$\geq 4,33$

Tabelle 8: EV-E auf Pappelholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,83	
	0,01	5,50	1,33
	0,025	$\leq 3,00$	$\geq 3,83$
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
2	WSH	6,83	
	0,01	4,33	2,50
	0,025	4,00	2,83
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	7,00	
	0,01	5,67	1,33
	0,025	$\leq 3,50$	$\geq 3,50$
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$

Tabelle 9: EV-E auf Buchenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,50	
	0,01	5,33	2,17
	0,025	4,33	3,17
	0,05	4,67	2,83
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
2	WSH	7,67	
	0,01	5,67	2,00
	0,025	4,50	3,17
	0,05	$\leq 3,17$	$\geq 4,50$
	0,075	$\leq 2,67$	$\geq 5,00$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
3	WSH	7,33	
	0,01	5,67	1,67
	0,025	$\leq 3,67$	$\geq 3,67$
	0,05	$\leq 3,67$	$\geq 3,67$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 10: EV-E auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,50	
	0,01	6,00	1,50
	0,025	5,17	2,33
	0,05	$\leq 3,17$	$\geq 4,33$
	0,075	$\leq 2,83$	$\geq 4,67$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
2	WSH	6,83	
	0,01	6,00	0,83
	0,025	$\leq 3,33$	$\geq 3,50$
	0,05	4,00	2,83
	0,075	$\leq 3,33$	$\geq 3,50$
	0,1	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	7,67	
	0,01	6,17	1,50
	0,025	5,33	2,33
	0,05	$\leq 2,83$	$\geq 4,83$
	0,075	$\leq 3,33$	$\geq 4,33$
	0,1	$\leq 2,83$	$\geq 4,83$

Tabelle 11: NDV auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,67	
	0,0025	4,83	2,83
	0,005	4,50	3,17
	0,0075	4,67	3,00
	0,01	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
2	WSH	7,17	
	0,0025	5,00	2,17
	0,005	3,67	3,50
	0,0075	3,67	3,50
	0,01	$\leq 2,67$	$\geq 4,50$
	0,025	$\leq 2,67$	$\geq 4,50$
3	WSH	6,50	
	0,0025	4,33	2,17
	0,005	$\leq 3,50$	$\geq 3,00$
	0,0075	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	0,01	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$

Tabelle 12: NDV auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	6,00	
	0,00025	3,67	2,33
	0,0005	3,83	2,17
	0,00075	2,50	3,50
	0,001	$\leq 1,67$	$\geq 4,33$
	0,0025	$\leq 1,50$	$\geq 4,50$
2	WSH	5,83	
	0,00025	3,83	2,00
	0,0005	3,17	2,67
	0,00075	2,83	3,00
	0,001	$\leq 2,33$	$\geq 3,50$
	0,0025	$\leq 1,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	5,83	
	0,00025	3,50	2,33
	0,0005	3,67	2,17
	0,00075	3,00	2,83
	0,001	$\leq 1,50$	$\geq 4,33$
	0,0025	$\leq 1,50$	$\geq 4,33$

Tabelle 13: NDV auf Pappelholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,33	
	0,0025	5,33	2,00
	0,005	4,67	2,67
	0,0075	4,17	3,17
	0,01	$\leq 4,00$	$\geq 3,33$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
2	WSH	6,50	
	0,0025	4,33	2,17
	0,005	4,00	2,50
	0,0075	3,83	2,67
	0,01	$\leq 2,67$	$\geq 3,83$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
3	WSH	6,50	
	0,0025	$\leq 3,67$	$\geq 2,83$
	0,005	$\leq 3,50$	$\geq 3,00$
	0,0075	3,67	2,83
	0,01	$\leq 2,83$	$\geq 3,67$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$

Tabelle 14: NDV auf Buchenholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,17	
	0,0025	4,83	2,33
	0,005	4,83	2,33
	0,0075	5,67	1,50
	0,01	3,50	3,67
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
2	WSH	7,83	
	0,0025	5,50	2,33
	0,005	5,33	2,50
	0,0075	4,00	3,83
	0,01	4,83	3,00
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
3	WSH	7,17	
	0,0025	5,50	1,67
	0,005	4,00	3,17
	0,0075	3,83	3,33
	0,01	$\leq 2,67$	$\geq 4,50$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 15: NDV auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,33	
	0,0075	4,33	3,00
	0,01	$\leq 3,50$	$\geq 3,83$
	0,025	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	0,05	$\leq 3,17$	$\geq 4,17$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
2	WSH	7,33	
	0,0075	3,50	3,83
	0,01	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	0,075	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
3	WSH	7,17	
	0,005	4,83	2,33
	0,0075	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	0,01	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	0,025	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	0,05	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 16: EV-E auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,00	
	0,25	6,83	0,17
	0,5	6,00	1,00
	0,75	3,83	3,17
	1	$\leq 3,50$	$\geq 3,50$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
2	WSH	7,50	
	0,25	7,33	0,17
	0,5	6,50	1,00
	0,75	4,67	2,83
	1	5,50	2,00
	1,5	$\leq 3,17$	$\geq 4,33$
3	WSH	8,17	
	0,25	7,17	1,00
	0,5	7,33	0,83
	0,75	5,17	3,00
	1	3,67	4,50
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,67$

Tabelle 17: EV-E auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,67	
	0,25	6,50	1,17
	0,5	5,50	2,17
	0,75	5,83	1,83
	1	$\leq 3,33$	$\geq 4,33$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
2	WSH	7,50	
	0,25	7,17	0,33
	0,5	5,50	2,00
	0,75	4,83	2,67
	1	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
3	WSH	7,67	
	0,25	7,50	0,17
	0,5	5,50	2,17
	0,75	$\leq 2,83$	$\geq 4,83$
	1	$\leq 2,83$	$\geq 4,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$

Tabelle 18: EV-E auf Pappelholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,83	
	0,25	6,67	0,17
	0,5	5,50	1,33
	0,75	4,17	2,67
	1	$\leq 3,00$	$\geq 3,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
2	WSH	7,50	
	0,25	7,00	0,50
	0,5	5,67	1,83
	0,75	4,50	3,00
	1	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	1,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$
3	WSH	7,17	
	0,25	7,00	0,17
	0,5	5,17	2,00
	0,75	4,17	3,00
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 19: EV-E auf Buchenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,83	
	0,25	7,17	0,67
	0,5	6,00	1,83
	0,75	5,17	2,67
	1	$\leq 3,00$	$\geq 4,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
2	WSH	8,00	
	0,25	7,33	0,67
	0,5	6,17	1,83
	0,75	4,50	3,50
	1	$\leq 2,83$	$\geq 5,17$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,50$
3	WSH	7,83	
	0,25	7,00	0,83
	0,5	6,17	1,67
	0,75	3,83	4,00
	1	$\leq 3,17$	$\geq 4,67$
	1,5	$\leq 2,83$	$\geq 5,00$

Tabelle 20: EV-E auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,67	
	0,25	7,17	0,50
	0,5	4,17	3,50
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
2	WSH	7,67	
	0,25	6,67	1,00
	0,5	4,50	3,17
	0,75	3,67	4,00
	1	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
3	WSH	7,83	
	0,25	6,50	1,33
	0,5	4,17	3,67
	0,75	$\leq 2,67$	$\geq 5,17$
	1	$\leq 2,67$	$\geq 5,17$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$

Tabelle 21: NDV auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,50	
	0,25	$\leq 3,00$	$\geq 3,50$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
2	WSH	6,67	
	0,075	4,83	1,83
	0,1	4,00	2,67
	0,25	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
3	WSH	6,67	
	0,075	5,17	1,50
	0,1	4,83	1,83
	0,25	$\leq 3,17$	$\geq 3,50$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$

Tabelle 22: NDV auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,00	
	0,025	4,00	2,00
	0,05	4,33	1,67
	0,075	3,67	2,33
	0,1	$\leq 2,17$	$\geq 3,83$
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 4,50$
2	WSH	6,00	
	0,025	4,83	1,17
	0,05	4,67	1,33
	0,075	4,17	1,83
	0,1	2,67	3,33
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 4,50$
3	WSH	6,17	
	0,025	4,67	1,50
	0,05	3,83	2,33
	0,075	$\leq 2,67$	$\geq 3,50$
	0,1	3,67	2,50
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 23: NDV auf Pappelholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,83	
	0,75	$\leq 3,00$	$\geq 3,83$
	1	$\leq 2,83$	$\geq 4,00$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	2,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
2	WSH	6,67	
	0,25	4,67	2,00
	0,5	3,83	2,83
	0,75	$\leq 3,17$	$\geq 3,50$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
3	WSH	7,17	
	0,25	4,17	3,00
	0,5	4,00	3,17
	0,75	3,67	3,50
	1	$\leq 3,17$	$\geq 4,00$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 24: NDV auf Buchenholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,50	
	0,25	5,00	2,50
	0,5	4,67	2,83
	0,75	3,83	3,67
	1	4,17	3,33
	1,5	3,50	4,00
2	WSH	7,50	
	0,5	4,83	2,67
	0,75	4,83	2,67
	1	3,67	3,83
	1,5	$\leq 3,33$	$\geq 4,17$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
3	WSH	7,33	
	0,5	4,83	2,50
	0,75	4,17	3,17
	1	3,67	3,67
	1,5	4,00	3,33
	2	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 25: NDV auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,00	
	0,05	5,50	1,50
	0,075	5,33	1,67
	0,1	4,83	2,17
	0,25	$\leq 3,00$	$\geq 4,00$
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,33$
2	WSH	7,50	
	0,075	6,67	0,83
	0,1	4,83	2,67
	0,25	4,17	3,33
	0,5	4,83	2,67
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
3	WSH	7,33	
	0,075	6,67	0,67
	0,1	6,33	1,00
	0,25	4,83	2,50
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 26: EV-E auf Fichtenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,50	
	1	5,67	1,83
	2,5	6,00	1,50
	5	$\leq 5,00$	$\geq 2,50$
	7,5	$\leq 5,00$	$\geq 2,50$
	10	$\leq 5,17$	$\geq 2,33$
2	WSH	7,50	
	1	6,17	1,33
	2,5	$\leq 5,33$	$\geq 2,17$
	5	$\leq 4,83$	$\geq 2,67$
	7,5	$\leq 4,67$	$\geq 2,83$
	10	$\leq 4,67$	$\geq 2,83$
3	WSH	8,00	
	1	6,00	2,00
	2,5	$\leq 5,00$	$\geq 3,00$
	5	$\leq 4,67$	$\geq 3,33$
	7,5	$\leq 4,83$	$\geq 3,17$
	10	$\leq 4,50$	$\geq 3,50$

Tabelle 27: EV-E auf Kiefernholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,33	
	1	6,67	0,67
	2,5	$\leq 5,50$	$\geq 1,83$
	5	$\leq 4,67$	$\geq 2,67$
	7,5	$\leq 4,83$	$\geq 2,50$
	10	$\leq 4,50$	$\geq 2,83$
2	WSH	7,67	
	1	6,17	1,50
	2,5	$\leq 5,67$	$\geq 2,00$
	5	$\leq 5,00$	$\geq 2,67$
	7,5	$\leq 5,17$	$\geq 2,50$
	10	$\leq 4,50$	$\geq 3,17$
3	WSH	7,33	
	1	6,50	0,83
	2,5	5,50	1,83
	5	$\leq 5,17$	$\geq 2,17$
	7,5	$\leq 5,00$	$\geq 2,33$
	10	$\leq 5,33$	$\geq 2,00$

Tabelle 28: EV-E auf Pappelholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,00	
	1	6,50	0,50
	2,5	5,67	1,33
	5	5,50	1,50
	7,5	$\leq 4,50$	$\geq 2,50$
	10	$\leq 5,33$	$\geq 1,67$
2	WSH	7,50	
	1	6,50	1,00
	2,5	6,00	1,50
	5	$\leq 4,50$	$\geq 3,00$
	7,5	$\leq 5,17$	$\geq 2,33$
	10	$\leq 5,00$	$\geq 2,50$
3	WSH	7,33	
	1	6,50	0,83
	2,5	6,00	1,33
	5	$\leq 4,50$	$\geq 2,83$
	7,5	5,50	1,83
	10	$\leq 5,50$	$\geq 1,83$

Tabelle 29: EV-E auf Buchenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	8,17	
	1	6,50	1,67
	2,5	5,83	2,33
	5	5,67	2,50
	7,5	5,67	2,50
	10	$\leq 5,33$	$\geq 2,83$
2	WSH	8,00	
	1	6,00	2,00
	2,5	5,50	2,50
	5	$\leq 5,33$	$\geq 2,67$
	7,5	$\leq 4,83$	$\geq 3,17$
	10	$\leq 5,17$	$\geq 2,83$
3	WSH	7,67	
	1	6,50	1,17
	2,5	6,17	1,50
	5	$\leq 5,00$	$\geq 2,67$
	7,5	$\leq 5,17$	$\geq 2,50$
	10	$\leq 4,83$	$\geq 2,83$

Tabelle 30: EV-E auf Douglasienholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	6,50	
	1	$\leq 5,33$	$\geq 1,17$
	2,5	$\leq 5,17$	$\geq 1,33$
	5	$\leq 4,83$	$\geq 1,67$
	7,5	$\leq 4,67$	$\geq 1,83$
	10	$\leq 4,50$	$\geq 2,00$
2	WSH	7,17	
	1	$\leq 5,33$	$\geq 1,83$
	2,5	$\leq 5,17$	$\geq 2,00$
	5	$\leq 5,00$	$\geq 2,17$
	7,5	$\leq 4,50$	$\geq 2,67$
	10	$\leq 4,67$	$\geq 2,50$
3	WSH	7,33	
	1	6,17	1,17
	2,5	5,67	1,67
	5	$\leq 4,50$	$\geq 2,83$
	7,5	$\leq 5,33$	$\geq 2,00$
	10	$\leq 4,67$	$\geq 2,67$

Tabelle 31: NDV auf Fichtenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	6,50	
	0,25	$\leq 3,00$	$\geq 3,50$
	0,5	$\leq 2,83$	$\geq 3,67$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
2	WSH	6,50	
	0,1	3,67	2,83
	0,25	$\leq 3,17$	$\geq 3,33$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
3	WSH	6,50	
	0,1	3,50	3,00
	0,25	$\leq 3,17$	$\geq 3,33$
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 3,83$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 4,00$

Tabelle 32: NDV auf Kiefernholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,83	
	0,075	3,33	3,50
	0,1	$\leq 1,50$	$\geq 5,33$
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 5,33$
	0,5	$\leq 1,50$	$\geq 5,33$
	0,75	$\leq 1,50$	$\geq 5,33$
2	WSH	5,67	
	0,025	3,33	2,33
	0,05	2,67	3,00
	0,075	$\leq 1,67$	$\geq 4,00$
	0,1	$\leq 1,50$	$\geq 4,17$
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 4,17$
3	WSH	6,17	
	0,025	3,50	2,67
	0,05	2,50	3,67
	0,075	$\leq 2,17$	$\geq 4,00$
	0,1	$\leq 1,50$	$\geq 4,67$
	0,25	$\leq 1,50$	$\geq 4,67$

Tabelle 33: NDV auf Pappelholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	6,83	
	0,25	3,67	3,17
	0,5	$\leq 3,17$	$\geq 3,67$
	0,75	4,17	2,67
	1	$\leq 3,33$	$\geq 3,50$
	1,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,17$
2	WSH	6,83	
	1	$\leq 3,00$	$\geq 3,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	2,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	3	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	6,67	
	1	$\leq 2,83$	$\geq 3,83$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	2,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$
	3	$\leq 2,50$	$\geq 4,17$

Tabelle 34: NDV auf Buchenholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,50	
	0,75	3,67	3,83
	1	3,83	3,67
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	2,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
2	WSH	7,50	
	0,5	3,83	3,67
	0,75	3,67	3,83
	1	4,00	3,50
	1,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
3	WSH	7,33	
	0,5	4,50	2,83
	0,75	$\leq 3,50$	$\geq 3,83$
	1	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	2	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 35: NDV auf Douglasienholz mit Glutaraldehyd bei 10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,83	
	0,25	4,00	3,83
	0,5	$\leq 3,17$	$\geq 4,67$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
	1	$\leq 3,33$	$\geq 4,50$
	1,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
2	WSH	7,67	
	0,075	5,00	2,67
	0,1	4,67	3,00
	0,25	5,33	2,33
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 5,00$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
3	WSH	7,50	
	0,075	4,83	2,67
	0,1	4,83	2,67
	0,25	4,17	3,33
	0,5	$\leq 3,83$	$\geq 3,67$
	0,75	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$

Tabelle 36: EV-E auf Fichtenholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	8,33	
	0,1	5,33	3,00
	0,25	$\leq 3,50$	$\geq 4,83$
	0,5	$\leq 2,83$	$\geq 5,50$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,83$
	1	$\leq 2,50$	$\geq 5,83$
2	WSH	8,00	
	0,05	5,83	2,17
	0,075	4,83	3,17
	0,1	5,00	3,00
	0,25	$\leq 3,17$	$\geq 4,83$
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 5,33$
3	WSH	8,17	
	0,05	5,67	2,50
	0,075	5,33	2,83
	0,1	5,17	3,00
	0,25	$\leq 2,83$	$\geq 5,33$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,67$

Tabelle 37: EV-E auf Kiefernholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,67	
	0,05	5,50	2,17
	0,075	5,17	2,50
	0,1	5,17	2,50
	0,25	4,50	3,17
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 5,00$
2	WSH	8,17	
	0,05	5,83	2,33
	0,075	5,17	3,00
	0,1	6,00	2,17
	0,25	4,83	3,33
	0,5	$\leq 4,00$	$\geq 4,17$
3	WSH	7,67	
	0,075	5,67	2,00
	0,1	5,67	2,00
	0,25	4,33	3,33
	0,5	3,50	4,17
	0,75	$\leq 3,50$	$\geq 4,17$

Tabelle 38: EV-E auf Pappelholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,83	
	0,05	5,17	2,67
	0,075	5,33	2,50
	0,1	4,17	3,67
	0,25	$\leq 2,83$	$\geq 5,00$
	0,5	$\leq 3,17$	$\geq 4,67$
2	WSH	8,17	
	0,05	5,17	3,00
	0,075	4,50	3,67
	0,1	5,67	2,50
	0,25	$\leq 3,33$	$\geq 4,83$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,67$
3	WSH	7,50	
	0,05	5,17	2,33
	0,075	4,50	3,00
	0,1	4,00	3,50
	0,25	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$

Tabelle 39: EV-E auf Buchenholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,83	
	0,075	5,33	2,50
	0,1	5,33	2,50
	0,25	4,00	3,83
	0,5	$\leq 3,17$	$\geq 4,67$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
2	WSH	7,83	
	0,075	5,67	2,17
	0,1	5,33	2,50
	0,25	4,17	3,67
	0,5	4,67	3,17
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$
3	WSH	7,83	
	0,075	5,17	2,67
	0,1	5,17	2,67
	0,25	4,00	3,83
	0,5	$\leq 2,67$	$\geq 5,17$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,33$

Tabelle 40: EV-E auf Douglasienholz mit Peressigsäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,67	
	0,075	5,83	1,83
	0,1	4,67	3,00
	0,25	4,50	3,17
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	0,75	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
2	WSH	7,83	
	0,075	6,50	1,33
	0,1	5,50	2,33
	0,25	5,50	2,33
	0,5	$\leq 3,33$	$\geq 4,50$
	0,75	$\leq 3,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	7,17	
	0,075	5,67	1,50
	0,1	5,50	1,67
	0,25	4,00	3,17
	0,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	0,75	$\leq 2,67$	$\geq 4,50$

Tabelle 41: EV-E auf Fichtenholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,00	
	1	5,83	1,17
	1,5	4,67	2,33
	2	$\leq 3,33$	$\geq 3,67$
	2,5	3,83	3,17
	3	$\leq 2,50$	$\geq 4,50$
2	WSH	7,67	
	1,5	5,17	2,50
	2	4,17	3,50
	2,5	4,17	3,50
	3	$\leq 2,67$	$\geq 5,00$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
3	WSH	7,50	
	1,5	3,83	3,67
	2	4,00	3,50
	2,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,83$
	3	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$

Tabelle 42: EV-E auf Kiefernholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,50	
	2	5,00	2,50
	3	3,83	3,67
	4	3,83	3,67
	5	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
	6	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$
2	WSH	7,67	
	2	5,67	2,00
	3	4,83	2,83
	4	4,17	3,50
	5	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	6	$\leq 3,67$	$\geq 4,00$
3	WSH	7,50	
	2	5,00	2,50
	3	4,00	3,50
	4	4,17	3,33
	5	$\leq 3,17$	$\geq 4,33$
	6	$\leq 2,50$	$\geq 5,00$

Tabelle 43: EV-E auf Pappelholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}KID_{50}/ml$	Reduktion in $\log_{10}KID_{50}/ml$
1	WSH	7,33	
	1	5,67	1,67
	1,5	5,00	2,33
	2	4,50	2,83
	2,5	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	3	$\leq 3,17$	$\geq 4,17$
2	WSH	7,17	
	1,5	5,83	1,33
	2	4,67	2,50
	2,5	$\leq 3,33$	$\geq 3,83$
	3	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
3	WSH	7,33	
	2	5,00	2,33
	2,5	4,17	3,17
	3	$\leq 2,67$	$\geq 4,67$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$
	4	$\leq 2,50$	$\geq 4,83$

Tabelle 44: EV-E auf Buchenholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	8,00	
	2	4,83	3,17
	2,5	3,83	4,17
	3	$\leq 3,17$	$\geq 4,83$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 5,50$
	4	$\leq 2,83$	$\geq 5,17$
2	WSH	7,50	
	1,5	5,00	2,50
	2	4,83	2,67
	2,5	4,17	3,33
	3	$\leq 3,33$	$\geq 4,17$
	3,5	$\leq 2,83$	$\geq 4,67$
3	WSH	7,67	
	1,5	5,33	2,33
	2	4,67	3,00
	2,5	$\leq 3,33$	$\geq 4,33$
	3	$\leq 2,50$	$\geq 5,17$
	3,5	$\leq 3,33$	$\geq 4,33$

Tabelle 45: EV-E auf Douglasienholz mit Ameisensäure bei -10 °C und 60 min Einwirkzeit

Wiederholung	Konzentration in %	Titer in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$	Reduktion in $\log_{10}\text{KID}_{50}/\text{ml}$
1	WSH	7,17	
	2	4,33	2,83
	2,5	3,50	3,67
	3	$\leq 3,33$	$\geq 3,83$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
	4	$\leq 2,50$	$\geq 4,67$
2	WSH	6,83	
	2	4,83	2,00
	2,5	4,00	2,83
	3	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	3,5	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
	4	$\leq 2,50$	$\geq 4,33$
3	WSH	7,17	
	2	5,50	1,67
	2,5	4,83	2,33
	3	$\leq 3,33$	$\geq 3,83$
	3,5	$\leq 3,83$	$\geq 3,33$
	4	$\leq 3,17$	$\geq 4,00$

Tabelle 46: Resttiter in log₁₀KID₅₀/ml von EV-E auf den Keimträgern im zeitlichen Verlauf mit jeweils drei Wiederholungen

Initialtiter ¹	7,67	7,67	7,88	Initialtiter ²	8,17	7,67	8,50		
	Tag 0	Tag 3	Tag 7	Tag 14	Tag 28	Tag 42	Tag 56	Tag 84	Tag 112
Fichte	8,00	7,33	7,00	7,00	6,67	5,83	6,33	5,67	4,17
	7,67	7,33	7,00	7,00	6,67	6,00	6,00	4,67	4,00
	7,50	7,00	7,33	7,00	6,33	6,33	6,00	4,50	2,83
Kiefer	6,50	7,17	6,83	6,83	6,50	6,33	5,83	3,50	4,50
	7,33	7,67	7,17	7,50	6,67	6,33	5,50	5,83	2,67
	7,33	7,33	7,50	7,00	7,17	7,00	6,00	4,83	4,17
Pappel	7,67	7,50	7,67	7,50	7,50	6,50	7,00	6,17	5,83
	7,83	7,50	7,17	7,17	6,67	7,17	6,50	7,00	5,83
	7,67	7,33	7,67	7,33	7,17	7,17	7,33	6,17	5,00
Buche	7,83	7,50	7,17	7,00	6,67	6,17	5,83	5,17	4,33
	7,33	7,33	7,00	7,67	6,17	6,17	6,00	5,00	3,33
	7,50	6,83	7,33	6,83	6,33	6,00	6,00	5,00	4,00
Douglasie	6,17	4,50	4,83	≤ 3,33	3,83	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50
	7,17	4,17	4,67	4,17	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50
	6,67	4,83	4,50	≤ 2,83	≤ 1,67	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50
Stahl	5,83	7,50	7,67	5,33	7,67	7,50	7,33	7,17	7,50
	4,67	4,67	4,83	5,17	7,50	7,33	7,00	7,00	6,83
	4,83	6,83	6,67	4,83	4,67	7,50	7,17	7,00	7,50
Stahl*	5,67	4,67	4,33	≤ 3,33	2,50	≤ 1,67	≤ 1,67	≤ 1,50	≤ 1,50
	5,00	4,83	4,67	3,83	3,50	≤ 2,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50
	5,17	4,67	4,17	3,67	3,00	≤ 2,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50

¹Initialtiter in Suspension am Tag der Infektion, Virus verwendet für alle Hölzer und Stahl

²Initialtiter in Suspension am Tag der Infektion, Virus verwendet für Stahl*

Tabelle 47: Resttiter in log₁₀KID₅₀/ml von NDV auf den Keimträgern im zeitlichen Verlauf mit jeweils drei Wiederholungen

Initialtiter in Suspension am Tag der Infektion aller Keimträger		8,50	9,00	9,00						
	Tag 0	Tag 3	Tag 5	Tag 10	Tag 15	Tag 20	Tag 25	Tag 30	Tag 35	
Fichte	6,83	4,17	2,50	2,67	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	5,83	≤ 3,67	≤ 2,00	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	5,83	4,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
Kiefer	4,33	≤ 3,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	5,00	≤ 2,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	4,67	≤ 2,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
Pappel	8,00	6,33	4,67	≤ 1,67	3,83	3,00	≤ 1,83	≤ 1,50	≤ 1,50	
	6,83	5,00	3,83	≤ 1,67	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	7,17	5,33	4,83	3,83	3,17	≤ 2,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
Buche	5,67	4,00	≤ 3,17	4,33	3,00	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	5,67	≤ 3,67	≤ 3,17	≤ 2,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	5,67	4,00	4,00	≤ 2,33	≤ 1,83	≤ 2,33	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
Douglasie	6,83	4,67	≤ 3,50	≤ 2,00	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	6,67	4,33	≤ 3,00	≤ 2,00	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
	6,67	4,50	≤ 2,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	≤ 1,50	
Stahl	8,00	6,17	6,17	5,33	4,00	≤ 2,33	3,00	≤ 2,00	≤ 1,67	
	7,83	7,00	6,33	5,67	4,50	2,83	2,83	3,00	≤ 2,00	
	8,00	6,33	6,83	5,17	3,83	3,83	≤ 2,50	2,83	≤ 1,67	
Stahl*	7,50	7,50	7,33	7,33	7,50	7,33	7,67	7,17	7,00	
	8,00	7,50	7,33	7,50	7,33	7,33	7,33	7,17	7,00	
	7,50	7,67	7,67	7,50	7,50	7,50	7,67	7,67	7,17	

Stahl* im Exsikkator vollständig getrocknet und danach versiegelt gelagert

Publikationsverzeichnis

Publikationen

Oettler, M.J.; Conraths, F.J.; Roesler, U.; Reiche, S.; Homeier-Bachmann, T.; Denzin, N. Efficiency of Virucidal Disinfectants on Wood Surfaces in Animal Husbandry. *Microorganisms* **2024**, *12*, 1019. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12051019>

Oettler, M.J.; Conraths, F.J.; Roesler, U.; Reiche, S.; Homeier-Bachmann, T.; Denzin, N. Tenacity of Animal Disease Viruses on Wood Surfaces Relevant to Animal Husbandry. *Viruses* **2024**, *16*, 789. <https://doi.org/10.3390/v16050789>

Vorträge

Prüfung der hygienischen Eignung von Bauholz für den Stallbau. Martin Oettler, Nicolai Denzin, Sven Reiche, Timo Homeier-Bachmann, Franz J. Conraths; Epi Days 2022 - Epidemiologie in der praktischen Anwendung; April 2022, Greifswald.

Viruzide Desinfektionsmittelwirksamkeit auf Holzbaustoffen in landwirtschaftlicher Tierhaltung. Martin Oettler, Franz J. Conraths, Nicolai Denzin; Tagung der DVG-Fachgruppe Umwelt- und Tierhygiene - Hygiene und Biosicherheit - Eckpfeiler moderner Tierhaltung; Oktober 2023, Kiel.

Hygienische Aspekte von Holzbaustoffen in der landwirtschaftlichen Tierhaltung. Martin Oettler, Franz J. Conraths, Nicolai Denzin; Epi Days 2023 - Epidemiologie in der praktischen Anwendung; November 2023, Greifswald.

Poster

Efficiency of virucid disinfectants on wood surfaces. Martin Oettler, Nicolai Denzin, Franz J. Conraths; Junior Scientist Symposium 2022 of the Friedrich-Loeffler-Institute - Past, Present and Future - Science in Context; November 2022, Greifswald.

Biosicherheit von Holzbaustoffen in landwirtschaftlicher Tierhaltung. Martin Oettler, Franz J. Conraths, Nicolai Denzin; Tagung der DVG-Fachgruppe Epidemiologie & Dokumentation - ... einfach Infektionsepidemiologie; September 2023, Leipzig.

Biosafety aspects of wood surfaces in livestock stable construction. Martin Oettler, Franz J. Conraths, Nicolai Denzin; Junior Scientist Symposium 2023 of the Friedrich-Loeffler-Institute - One Health & Emerging Pathogens: Current and Upcoming Strategies in Science; November 2023, Jena.

Sonstiges

Planungsleitfaden. Entwicklung zukunftsweisender Konzepte zum landwirtschaftlichen Bauen mit Holz – von der Planung bis zum Rückbau (ZukunftLaWiBau). Teil E: Hygiene. Marie-Christin Mattauch, Anika Friese, Uwe Rösler & Martin Oettler, Nicolai Denzin, Franz J. Conraths; Oktober 2023.

Inhaltlicher Schlussbericht. Entwicklung zukunftsweisender Konzepte zum landwirtschaftlichen Bauen mit Holz – von der Planung bis zum Rückbau (ZukunftLaWiBau). Teil E: Hygiene. Virale Kontamination der Holzprodukte und Prüfung der Desinfektionswirkung. Martin Oettler, Nicolai Denzin, Franz J. Conraths; April 2024.

Danksagung

Ich möchte die Gelegenheit nutzen, um all den Personen zu danken, die mich während meiner Dissertationsarbeit unterstützt und inspiriert haben.

Zunächst möchte ich mich bei Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler für die Begutachtung der Arbeit bedanken, sowie für die methodische Einarbeitung am Institut für Tier- und Umwelthygiene.

Weiterhin gilt mein aufrichtiger Dank meinem Betreuer am Friedrich-Loeffler-Institut, PD Dr. Nicolai Denzin, für die fachliche Betreuung und Unterstützung.

Ebenfalls möchte ich mich bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. Franz J. Conraths für die Überlassung des Forschungsthemas.

Frau Prof. Dr. Carola Sauter-Louis für die Gelegenheit am FLI wissenschaftlich zu arbeiten.

Herrn Dr. Timo Homeier-Bachmann für die Bereitstellung des Laborarbeitsplatzes.

Herrn Dr. Sven Reiche für die Hilfe bei fachbezogenen Problemstellungen.

Meinen Freunden sowie den Kollegen am Institut für Epidemiologie.

Meiner Familie.

Finanzierungsquellen & Interessenskonflikte

Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) im Rahmen des Forschungsprojekts: „Entwicklung zukunftsweisender Konzepte zum landwirtschaftlichen Bauen mit Holz - von der Planung bis zum Rückbau (ZukunftLaWiBau)“, FKZ: 2220HV036E.

Es besteht kein Interessenkonflikt gegenüber der hier angegebenen finanziellen Unterstützung oder gegenüber Dritten in Bezug auf die vorliegende Arbeit.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe. Alle Ausführungen, die wörtlich oder inhaltlich aus anderen Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen und wurde bisher nicht veröffentlicht.

Greifswald 10.05.2024

Martin Oettler