

### 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Ziel dieser Untersuchungen war es einerseits, den mikrobiologischen Zustand von öffentlichen Sanitäranlagen zu charakterisieren bzw. zu überprüfen und eine eventuelle Gesundheitsgefährdung der Bevölkerung festzustellen. Andererseits ging es aber auch darum, gegebenenfalls Schwächen, wartungsbedingte Mängel oder auf technischen Ursachen beruhende Unzulänglichkeiten festzustellen und Verbesserungsvorschläge zu erarbeiten.

Zusätzlich fanden im Labor virologische Untersuchungen statt, deren Ziel es war, Unterschiede in der Überlebensrate von Viren auf zwei üblicherweise auch in Toilettenanlagen verwendeten Materialien, Edelstahl und PVC, zu vergleichen, sowie die Rückgewinnungsrate mit der angewandten Untersuchungsmethode zu ermitteln.

Zur Probennahme wurden drei öffentliche Toilettenanlagen einer südwestdeutschen Großstadt herangezogen. In diesen Anlagen wurden sowohl bakteriologische als auch virologische Untersuchungen durchgeführt. Die Abb.2 stellt den Waschbereich einer der untersuchten Toiletten mit einigen Probenahmestellen dar.



*Abb.2: Waschbereich einer der untersuchten öffentlichen Toiletten*

Des weiteren fanden drei selbstreinigende Toiletten in derselben Großstadt Berücksichtigung. Hier beschränkte sich die Untersuchung allerdings auf das bakteriologische Screening.

Die öffentlichen Toiletten befinden sich allesamt im Bereich von S-Bahn-Stationen und werden im Allgemeinen rege frequentiert.

Zur Untersuchung der selbstreinigenden Toiletten wurden ebenfalls die zwei am häufigsten benutzten Anlagen der Innenstadt verglichen. Eine dieser Einrichtungen ist auf der Abb.3 dargestellt. Es wird, wie auf der Abbildung ersichtlich, versucht, dass sich die Anlagen in das allgemeine Bild des Stadtzentrums einfügen. Zusätzlich wurde eine behindertengerechte Anlage untersucht, die weniger genutzt wird, da hier nur zutrittsberechtigte Personen einen Schlüssel besitzen.



*Abb.3: selbstreinigende Toilette einer südwestdeutschen Großstadt*

Die Untersuchungen an den S - Bahn-Stationen fanden jeweils direkt vor der Reinigung, d.h. zum Zeitpunkt der größten zu erwartenden Verschmutzung, sowie unmittelbar nachdem das

Reinigungspersonal die Toiletten verlassen hat statt, um den Effekt der durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen auf deren Wirksamkeit überprüfen zu können. Diese Toiletten werden vom Reinigungspersonal routinemäßig Montag bis Freitag 1x täglich, die am stärksten frequentierte Toilette 2x täglich gereinigt. Zusätzlich wird diese Toilette auch am Wochenende täglich 2x gereinigt.

Bei den Automatikoiletten erübrigte sich ein zweiter Umlauf nach dem Reinigen, da sich diese Toiletten direkt nach jeder Benutzung verriegeln und erst nach einer Selbstreinigung wieder für eine weitere Person öffnen. Allerdings beschränkt sich dieser Selbstreinigungsprozess auf eine Säuberung der Toilettenbrille und einem Abspritzen des Bodens durch direkt darüber angebrachte Düsen. Das hier tätige Personal wartet diese Toiletten von Montag bis Samstag mindestens 1x täglich, Montag bis Freitag gegebenenfalls auch 2 x täglich. Wobei sich deren Aufgaben vor allem auf die technische Betreuung der Anlagen beschränken, da eigentlich der Benutzer nur mit Bereichen direkt in Kontakt kommen muss, die bereits automatisch einer Säuberung zugeführt werden. Die übrige Umgebung in der Kabine bleibt dagegen bei richtigem Verhalten des Benutzers von direktem Kontakt verschont. Zusätzlich werden von den Mitarbeitern natürlich optische Verunreinigungen beseitigt.

### **3.1. Material und Methoden**

#### **3.1.1. Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes mittels Tupferabstrichen**

##### **3.1.1.1. Methodik**

Die Keimgewinnung von den Oberflächen wurde mittels des Tupferverfahrens durchgeführt.

Um definierte Oberflächen zu erhalten und die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurden Schablonen hergestellt. Ziel war es, eine vergleichbare Fläche zu erhalten. FLUK (1992) fertigte Schablonen aus Pappe an. In den vorliegenden Untersuchungen wurden Schablonen mit der Größe 8x5 cm (40 cm<sup>2</sup>) für ebene und gleichmäßige Oberflächen und 2x10 cm (20 cm<sup>2</sup>) für kleinere Flächen angefertigt. Als Material kam Leichtmetall zur Anwendung, das flexibel genug war, es z.B. an eine Türklinke anzupassen oder eventuelle Unebenheiten der unterschiedlichen Oberflächen auszugleichen.

Während der Untersuchung wurden die durch die sterilen Schablonen definierten Flächen mit ebenfalls sterilen Baumwolltupfern abgestrichen, die vorher in 0,9%iger NaCl - Lösung (MERCK) als Abschüttelflüssigkeit angefeuchtet wurden.

Die Tupfer wurden nach dem Abbrechen des vorderen unberührten Teils direkt in sterile Standard - I -Bouillon gegeben und um eine bessere Keimausbeute zu gewährleisten, eine ungewollte Keimvermehrung aber auf ein Mindestmaß zu beschränken, gekühlt ins Labor transportiert und dort bei 4°C 24h geschüttelt. Danach wurden jeweils 10 ml der Bouillon für die entsprechenden Nährböden filtriert und die Filter auf dem jeweiligen Selektivagar aufgebracht.

Der Vorteil des Filtrierens liegt laut PIZURRA et al. (1997) u.a. in dem nur langsamen Wachsen der Mikroorganismen, was sie als kleine Punkte gegenüber dem direkten Bewachsen des Agars als Nährboden besser auszählbar macht (siehe Abb.9).

#### **3.1.1.2. Untersuchte Oberflächen**

Alle Tupferabstriche wurden auf aerobe Gesamtbakterien, coliforme Keime, Enterobacteriaceae, Streptokokken, Staphylokokken, Hefepilze und Salmonellen untersucht.

Die drei städtischen Sanitäreinrichtungen wurden je fünfmal vor und nach der Reinigung untersucht. Zwei der Toiletten sind in Damen- und Herrenbereiche unterteilt. Eine Anlage gliederte sich in Urinal und Sitztoilette auf. Der Sitzbereich dieses WC ist auf Abb.4 dargestellt.



*Abb. 4: Innenraum einer öffentlichen Toilette einer südwestdeutschen Großstadt*

In den Toiletten wurden insgesamt 526 Abstriche für die bakteriologische Untersuchung genommen, die sich auf die verschiedenen Oberflächen wie folgt verteilen:

- Toilettenbrille (50 Abstriche)
- Boden vor der Toilette (50 Abstriche)
- Spülknopf (50 Abstriche)
- Fläche der Kabinentür (58 Abstriche)  
(bzw. bei deren Fehlen, die Innenseite der Eingangstür)
- Waschbecken (58 Abstriche)
- Wasserhahn (34 Abstriche)
- Seifenspender (58 Abstriche)
- Urinal (30 Abstriche)
- Klinke der Eingangstür innen und außen (58 Abstriche)
- Klinke Kabine (14 Abstriche)

- Handtrockner (38 Abstriche)
- Mülleimerklappe (28 Abstriche)

Bei der Toilette 2 wurde statt des Trockners die Mülleimerklappe herangezogen und der Wasserhahn entfiel. Bei den Damentoiletten entfiel der Entnahmepunkt Urinal. Eine Übersicht der Probenahmepunkte können der Abb.5 entnommen werden.

Zusätzlich zu diesen Abstrichen wurden an folgenden Standorten auch Tupfer für die virologische Auswertung entnommen:

- Toilettenbrille (25 Abstriche)
- Spülknopf (25 Abstriche)
- Klinke der Eingangstür innen und außen (30 Abstriche)
- Boden vor der Toilette (25 Abstriche)

Die ausgewählten Standorte wurden sowohl vor als auch nach der Reinigung durch die städtischen Mitarbeiter kontrolliert. Die virologischen Proben beschränkten auf den Zeitraum vor der Reinigung (siehe Abb.7). Die bakteriologische Auswertung der Tupferabstriche erfolgte nach den unter 3.1.2. beschriebenen Methoden. Die virologischen Arbeiten werden unter 3.1.4. dargestellt.

Abb.5: Proben für bakteriologische Untersuchung städtischer öffentlicher Toiletten

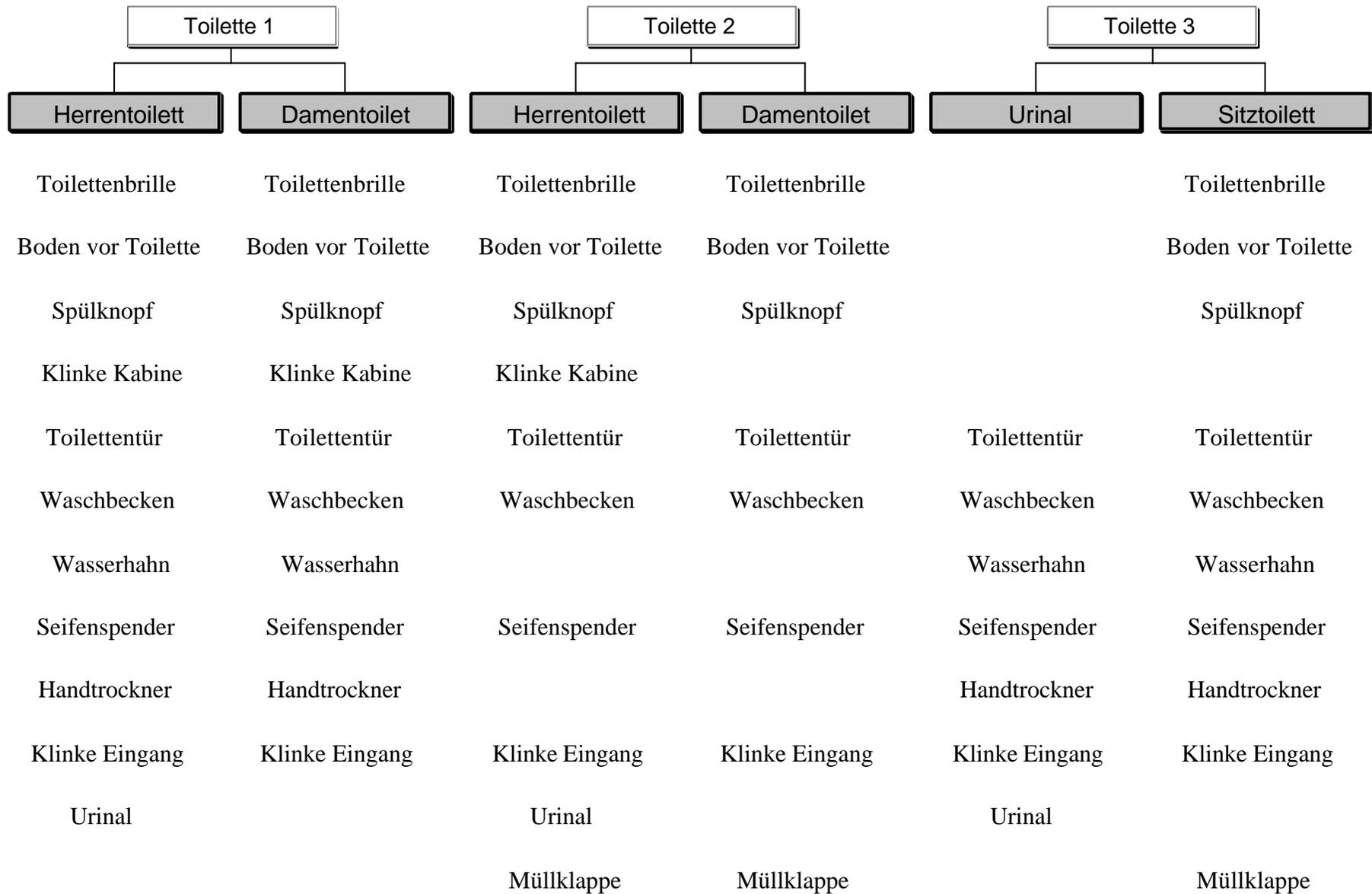
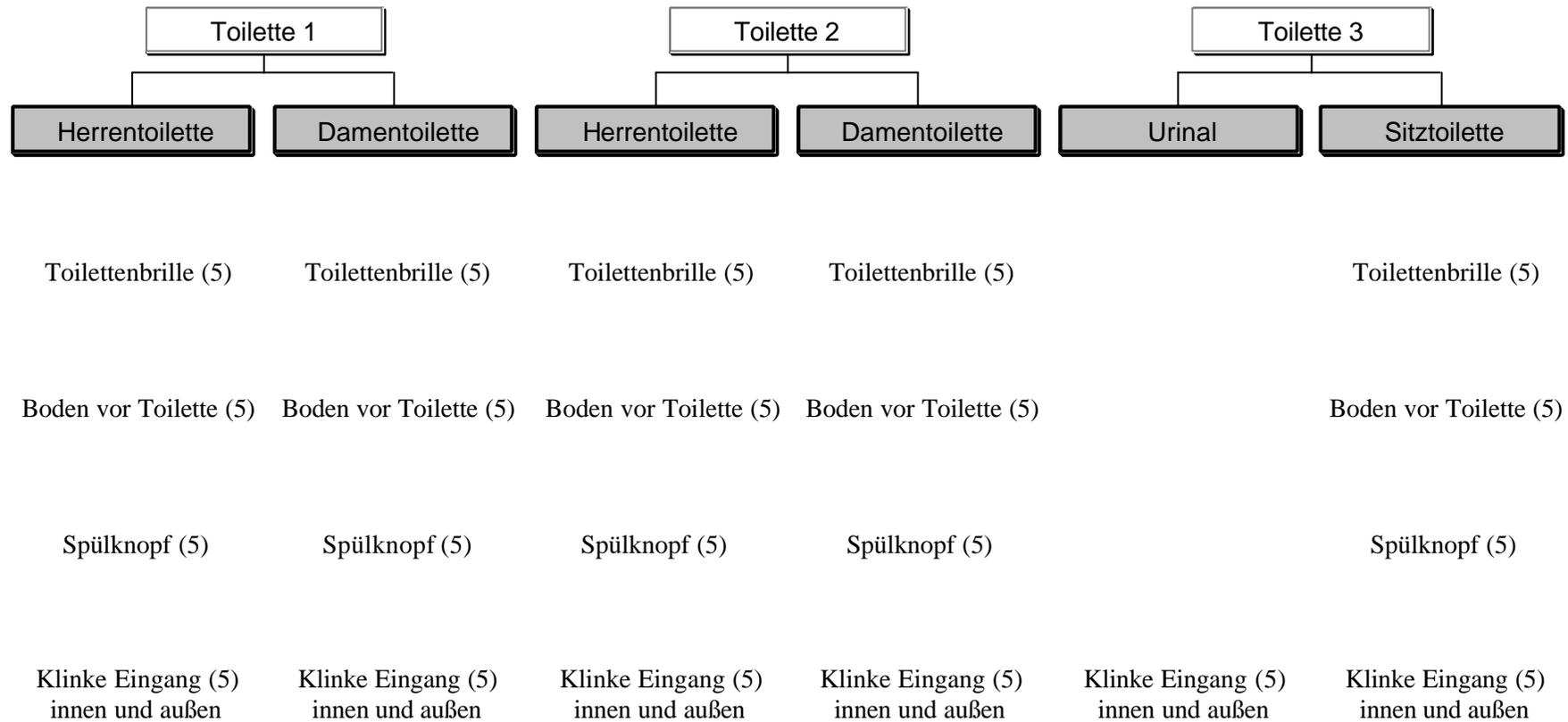


Abb.7: Proben für virologische Untersuchung städtischer öffentlicher Toiletten (Entnahmepunkte und Probenzahl),



Die Untersuchung der selbstreinigenden Toiletten fand in einem geringeren Probenumfang statt. Dies hatte zum einen organisatorische Gründe, zum anderen sind diese Toiletten nicht in Herren- und Damenbereiche unterteilt, besitzen u.a. kein Urinal und werden weniger frequentiert.

Es wurden ebenfalls drei Anlagen untersucht. Von diesen sind zwei in der Innenstadt gelegen und werden relativ stark in Anspruch genommen. Eine dritte Toilette ist ein behindertengerechtes Modell, welches auch nur von Personen mit einem entsprechenden Schlüssel benutzt werden kann und demzufolge geringer frequentiert wird. In diesen Anlagen reinigen sich die Toilettenbrille und der Boden nach jeder Benutzung selbständig, die übrigen Kontaktpunkte bedürfen aber einer manuellen Reinigung, auch wenn durch das hohe technische Niveau dieser Toiletten bis auf die beschriebenen Bereiche kaum ein Kontakt zu umgebenden Materialien notwendig ist.

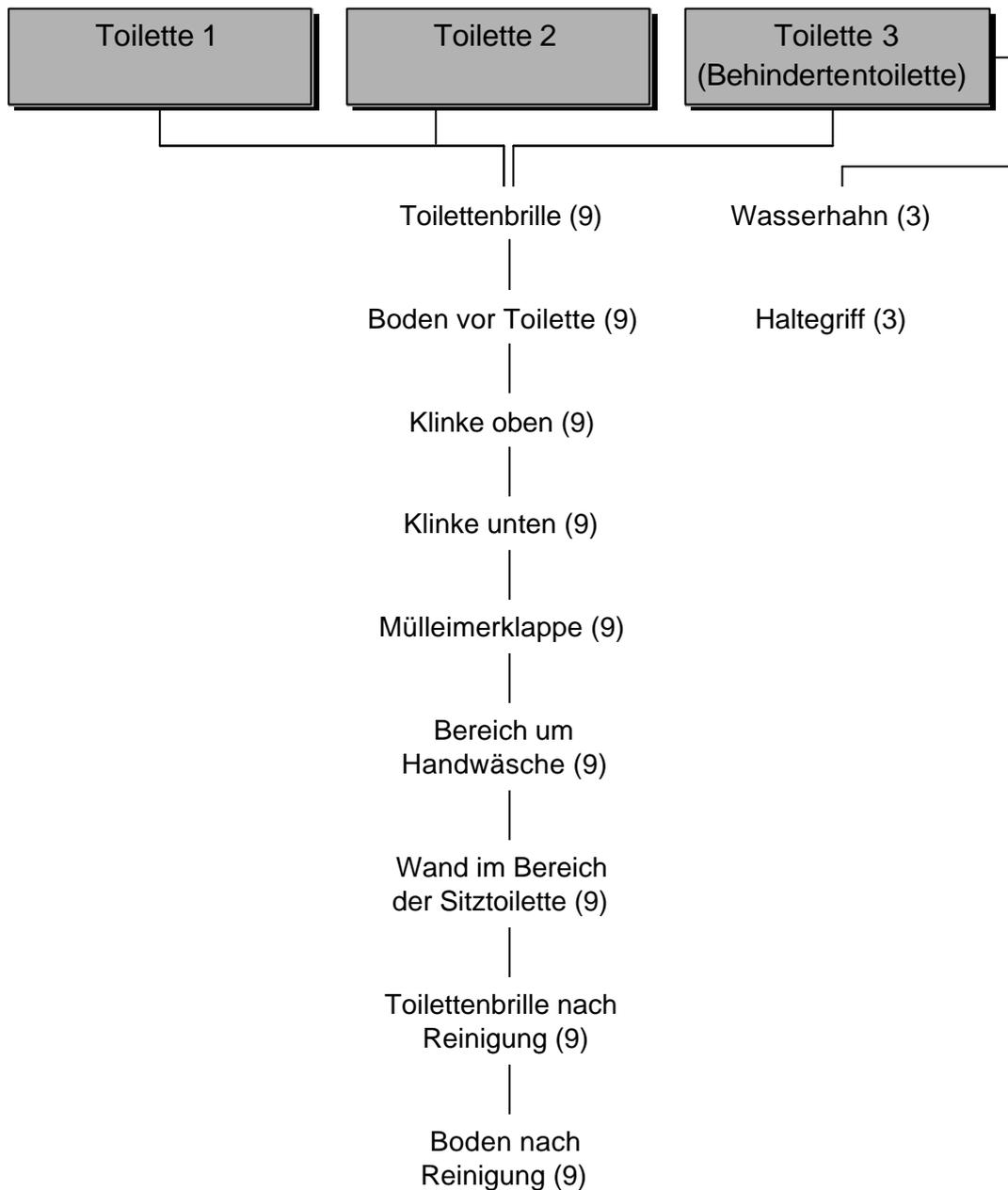
Die Entnahmepunkte der 87 Proben schlüsseln sich wie folgt auf:

- Toilettenbrille (9 Abstriche)
- Boden vor Toilette (9 Abstriche)
- Klinke oben (9 Abstriche)
- Klinke unten (9 Abstriche)
- Mülleimerklappe (9 Abstriche)
- Bereich um automatische Handwaschanlage (9 Abstriche)
- Wand im Bereich der Sitztoilette (9 Abstriche)
- Toilettenbrille nach automatischer Reinigung (9 Abstriche)
- Boden nach automatischer Reinigung (9 Abstriche)
- Wasserhahn (3 Abstriche)
- Haltegriff (3 Abstriche)

Die behindertengerechte Anlage besitzt einen Wasserhahn, sowie einen Haltegriff, so dass dort diese zwei Entnahmepunkte hinzukommen (Abb.7).

Die Untersuchung bezog sich hier nur auf die bakteriologische Befunderhebung, die ebenfalls mit den oben erwähnten Methoden durchgeführt wurden.

Abb.7: Proben für bakteriologische Untersuchung selbstreinigender Toiletten  
(Entnahmepunkte und Probenzahl)



### **3.1.2. Bakteriologische Arbeitsmethoden zur Probenauswertung**

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der bakteriellen Flora auf Oberflächen in sanitären Einrichtungen ist das entscheidende Kriterium für eine Einschätzung der Hygienesituation von Toiletten. Es ist also notwendig, eine Methode zu nutzen die für den Zweck dieser Untersuchung die bestmöglichen Ergebnisse erwarten lässt.

Auf Grund der Aufgabenstellung musste eine Methode ausgewählt werden, mit der nicht nur qualitativ sondern auch quantitativ verwertbare Ergebnisse erwartet werden konnten. Es zeigte sich in Voruntersuchungen, dass, auf Grund des zu erwartenden Keimaufkommens, diesen Voraussetzungen die Membranfiltermethode am gerechtesten wird.

Dafür wurde die verwendete Nährbouillon mit Hilfe einer Filtrieranlage (SARTORIUS) in Verbindung mit einer Vakuumpumpe durch Membranfilter (SARTORIUS) filtriert, die Keime direkt auf dem Filter zurückgehalten und dieser unmittelbar auf den jeweiligen Selektivnährboden aufgebracht (DIN 38 411, Teil 5). Die dafür verwendete Filtrieranlage ist in Abb. 8 dargestellt.

Das Prinzip dieser Methode besteht darin, dass durch den Filter die Nährstoffe nach oben diffundieren und die Koloniebildung ermöglichen.

Die Artikelnummern aller bisher oder im Folgenden erwähnten Arbeitsmittel und Nährmedien können der Tabelle A7 im Anhang entnommen werden.



*Abb. 8: Filtrieranlage der Firma Sartorius*

### **3.1.2.1. Bestimmung der Anzahl aerober Gesamtbakterien**

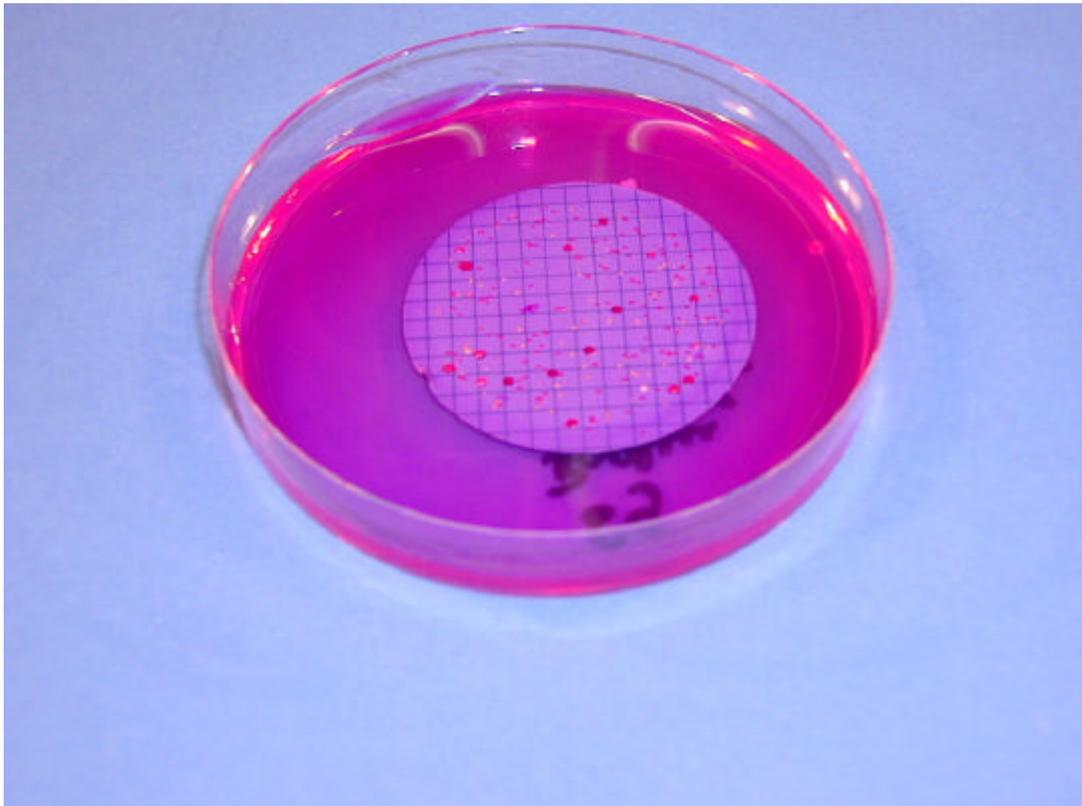
Die Bestimmung der aeroben Gesamtbakterienzahl erfolgte, wie auch die Ermittlung der Werte für die einzelnen Keime mittels Membranfiltermethode. Nach der Probennahme wurde der Tupfer in ein Gefäß mit 60 ml Standard-I-Bouillon (MERCK) gegeben und unter Kühlung bei ca. 4°C in das Labor verbracht. Die Aufrechterhaltung ist für die Genauigkeit der Ergebnisse von großer Wichtigkeit, da laut Untersuchungen von MURMANN und HEYDE (1994) bei 20°C eine sofortige Keimvermehrung einsetzt, bei 4°C zumindest für einen Tag keine relevante Keimvermehrung stattfindet und ein Überleben sichergestellt ist.

Im Labor wurden die Probenflaschen bei 4°C für weitere 24h geschüttelt, um zu gewährleisten, dass durch die kontinuierliche Umspülung des Tupfers mit Medium ein Höchstmaß an Bakterien von diesem wieder gelöst wird und der Auswertung mittels der

Filtration zugänglich gemacht werden kann. Nach einem Tag erfolgte dann die Filtration von je 10 ml der Probe auf die jeweiligen Selektivnährböden.

Zur Bestimmung der aeroben Gesamtbakterienzahl wurde der Filter auf Standard-I-Agar (MERCK) gegeben, für 48h bei 37°C bebrütet und danach die gewachsenen Kolonien ausgezählt.

Auf der Abb.9 ist eine Petrischale mit MPK-Agar und den nach 48-stündiger Bebrütung gewachsenen kleinen Kolonien zu sehen, die gut voneinander unterscheidbar und somit leicht auszuzählen sind.



*Abb.9: MPK – Agar mit Membranfilter nach 48 – stündiger Inkubation*

### **3.1.2.2. Bestimmung der Anzahl an Enterobacteriaceae**

Der Nachweis der Enterobacteriaceae erfolgte auf Mac Conkey - Agar (DIFCO), einem Selektivagar zur Isolierung von Salmonellen, Shigellen und coliformen Keimen. Durch den Zusatz von Gallensalzen und Kristallviolett wird die grampositive Begleitflora weitestgehend

gehemmt. Es wurden auch hier 10 ml der Probe verwandt und der Filter auf dem Agar für 48h bebrütet.

Die verschiedenen gewachsenen Kolonien wurden ausgezählt. Es wurden Reinkulturen auf Blutagar (MERCK) hergestellt, die weitere 24h bei 37°C bebrütet wurden. Folgend wurden Gram-Färbungen hergestellt, und mittels Cytochromoxidasetest (MERCK) die CO-Aktivität der verschiedenen Kulturen getestet, um die Gattungen Pseudomonas und Aeromonas von den Enterobacteriaceae trennen zu können. Die endgültige Differenzierung erfolgte dann für die CO-negativen Keime über das API 20 E (BIOMERIEUX) und für die CO-positiven Kulturen über das API 20 NE (BIOMERIEUX).

#### **3.1.2.2.1. Bestimmung der Anzahl coliformer Keime**

Coliforme Keime wurden auf Endo - Agar (MERCK) nachgewiesen. Durch den Fuchsingehalt zeigen coliforme Keime auf diesem Agar einen metallisch schimmernden Glanz, der durch saure Reaktionsprodukte bei der Laktosespaltung hervorgerufen wird.

Nach der 48h dauernden Bebrütung wurden auch hier die Kolonien ausgezählt, Reinkulturen auf Blutagar angelegt und nach 24h wiederum mittels Gram-Färbung und gegebenenfalls API 20 E ausdifferenziert. Hierbei sei erwähnt, dass neben den auf diesem Agar erwarteten coliformen Keimen in nicht unerheblichem Maße auch Staphylokokken nachzuweisen waren.

#### **3.1.2.2.2. Untersuchung auf Salmonellen**

Es gibt in der Literatur viele Veröffentlichungen über neue Methoden, um Salmonellen sicher nachweisen zu können. Wobei Versuche, Salmonellen praxisrelevant, schnell und unter Einsparung von Selektivmedien und Voranreicherungen zu identifizieren, nur einen teilweisen Erfolg brachten. Eine praxisrelevante Methode nach HECHELMANN und GAREIS (1995) besteht in einer Kombination aus kulturellen und immunochemischen Verfahren. Ohne allgemeine Voranreicherung werden die Proben selektiv angereichert und anschließend direkt auf eine Kombination aus zwei selektiven Nährböden, wie Modified Semisolid Rappaport - Vasiliadis (MRSV) - Medium und Xylose – Lysin - Tergitol 4 (XLT 4) - Agar, verbracht. Nach 18 bis 24h Inkubation wird das MRSV - Medium auf Schwärmzonen

und der XLT-4-Agar auf H<sub>2</sub>S-Bildung überprüft. Zweifelhafte Kolonien können dann mittels immunchemischen Schnelltests untersucht werden (zit. n. STEFFL, 1998). RAMBACH (1990) nahm die Grenzen der bekannten Medien (hohe Konzentration an Inhibitoren, die u.U. auch das Salmonellenwachstum einschränken, teilweise laktosenegative *Proteus spp.*, so dass eine Identifizierung von Salmonellen auf kommerziellen Medien nicht möglich ist, keine Identifizierung der Salmonellen anhand der Färbung) zum Anlass, ein neues Agarmedium herzustellen, was es erlaubt, *Salmonella spp.*, von anderen Mitgliedern der Enterobacteriaceae zu differenzieren. Er nutzte dabei die Möglichkeit, die Säurebildung aus Propylenglycol als Charakteristikum zur Salmonellenidentifizierung einzusetzen.

Der XLT – 4 - Agar wird, aufgrund seiner hohen Spezifität und Isolierungsrate, in der Untersuchung von Stuhl - und Umweltproben auf nicht - typhöse Salmonellen als eine Alternative zum MRSV - Medium angesehen (MILLER et al., 1991). Die Autoren äußern außerdem, dass eine Kombination aus zwei hochselektiven Nährböden, das Risiko von falsch negativen Resultaten reduziert.

In der vorgelegten Untersuchung erfolgte der Salmonellennachweis entsprechend des Anreicherungsverfahrens nach Rappaport, da nach Literaturangaben (RHODES und QUESNEL, 1986) dieses Verfahren die größte Isolierungsrate von Salmonellen erwarten lässt.

Dafür wurden die Tupfer direkt nach der Probennahme in 1%iges Peptonwasser gegeben, welches als Voranreicherung dient, und in dem subletal geschädigte Salmonellen wiederbelebt werden können. Diese Probe wurde danach 18 - 24 h bei 37°C bebrütet und anschließend 5ml davon mit 5ml Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT - VASSILIADIS (DIFCO) beimpft. Da laut Versuchen von FLUK (1992) keine Unterschiede im Wachstum bei den Temperaturen von 37°C oder 43°C Bebrütungstemperatur bestehen, wurde die höhere Temperatur gewählt, um das Wachstum der Begleitflora zu hemmen und die Probe weitere 24h diesmal bei 43°C bebrütet und anschließend filtriert. Zum Beispiel erkannten bereits REUßE et al. (1975), dass bei 43°C *Proteus spp.* nicht am Wachsen, aber am Schwärmen gehindert werden können, die höheren Temperaturen auf die Anreicherung der Salmonellen aber keinen überzeugenden Vorteil haben.

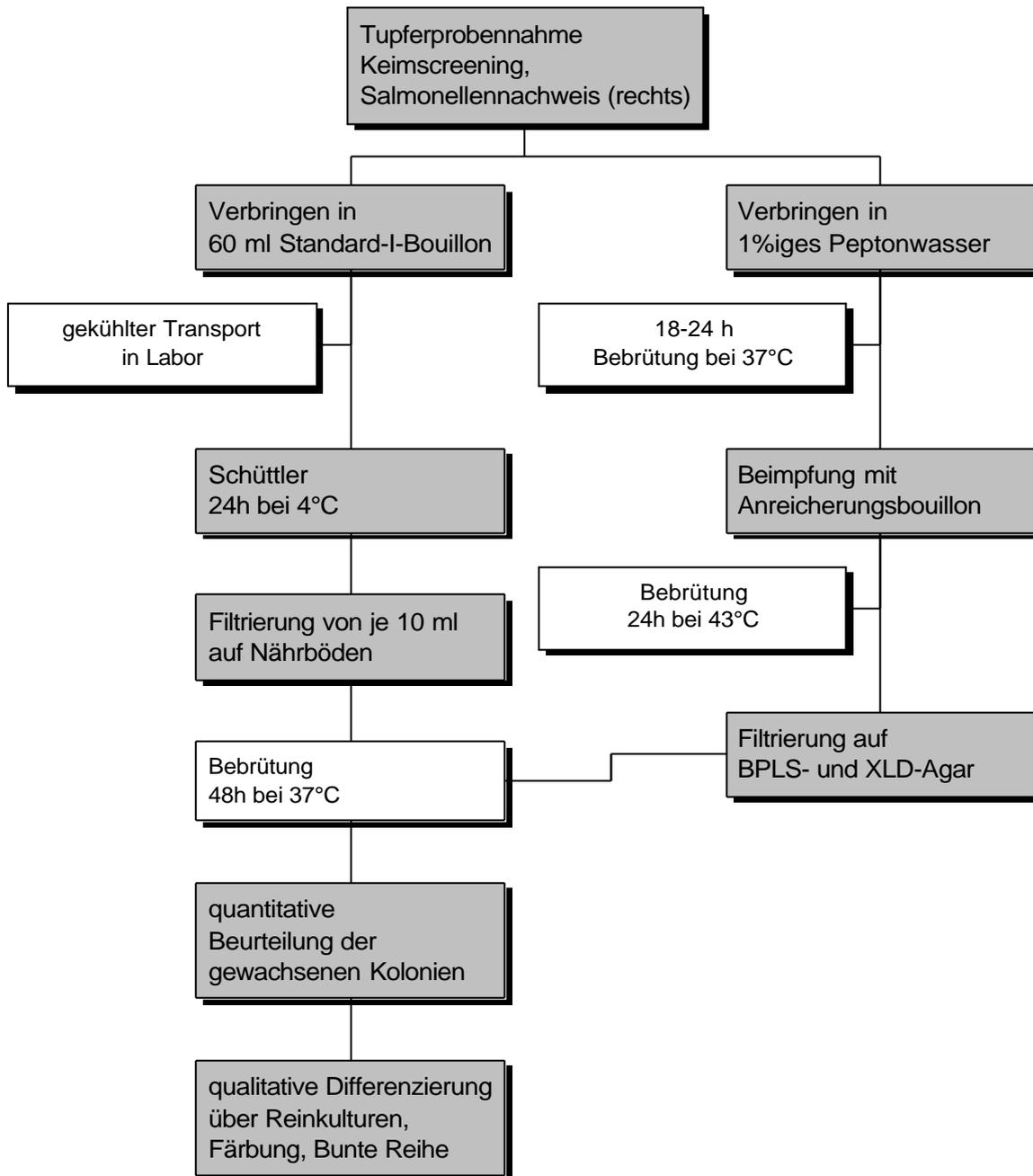
Die Filter wurden zum Zwecke der Isolierung von Salmonellen auf Brilliantgrün-Phenolrot-Saccharose-Agar (BPLS, DIFCO) sowie auf Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD, DIFCO)

verbracht und 48h bei 37°C inkubiert. BPLS dient selektiv zum Nachweis von Salmonellen außer *S.typhi*, die ebenso wie *Shigella spp.* durch das Brilliantgrün unterdrückt werden.

Der Nährboden XLD dient zur Prüfung der Xylose-, Lactose-, und Saccharose - Fermentation durch Farbumschlag des Indikators Phenolrot nach gelb. Die Begleitflora wird hier durch Natriumdesoxycholat und Citrat gehemmt, die eigentliche Selektivität dieses Agars ist aber gering.

Salmonellenverdächtige Kolonien wurden im Anschluss daran auf Blutagar ausgestrichen und nach Anzüchtung mittels Gramfärbung und API 20 E differenziert. Eventuell zu findende Salmonellen werden dann mittels Objektträgeragglutination überprüft. Eine endgültige Diagnose von Salmonellen - Serotypen findet dann in der Zentralstelle für veterinärmedizinische Salmonelloseforschung im Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV) statt.

Abb.10: Übersicht über die Schritte der bakteriologische Auswertung der Tupferproben



### **3.1.2.3. Bestimmung der Anzahl an Fäkalstreptokokken**

Zur Bestimmung der Anzahl der Fäkalstreptokokken in der Probe wurde KAA - Agar (Kanamycin – Äsculin – Azid - Agar, MERCK) verwendet, um speziell auch die Enterokokken nachzuweisen, da deren Anwesenheit für die Charakterisierung einer fäkalen Verunreinigung entscheidend ist. Sie wachsen nach einer Bebrütungszeit von 48h bei 37°C als kleine grauschwarze Kolonien und wurden nach einer Reinkultivierung auf Blutagar, wo sie nur zarte Kolonien bilden, mittels Gramfärbung ausdifferenziert.

### **3.1.2.4. Bestimmung der Anzahl an Staphylokokken**

Die Bestimmung der Anzahl an Staphylokokken erfolgte mit Hilfe des Mannit – Phenolrot - Kochsalz – Agars (MPK, MERCK). Der hohe Salzgehalt hemmt das Wachstum der meisten anderen Bakterien, und weist demzufolge gegenüber anderen sowohl gramnegativen, als auch grampositiven Bakterien eine hohe Selektivität auf.

Auch diese Proben wurden 48h bei 37°C bebrütet und dann mittels Reinkulturen auf Blutplatten die einzelnen verschiedenen Kolonien ausdifferenziert und durch Gramfärbung identifiziert. Bereits auf der Blutplatte war eine optische Identifizierung von *St. aureus* in den meisten Fällen, aufgrund seiner goldgelben Pigmentierung, möglich. Der Verdacht wurde danach mittels Staphylase - Test (OXOID) gesichert. Grundlage dieses Tests ist das Enzym Plasmakoagulase, welches nur in *St. aureus* vorkommt und somit bei Kontakt einer Probe mit der Testflüssigkeit zu einem Gerinnen dieser führt. Damit ist eine sichere Abgrenzung zu „Nicht – Aureus – Staphylokokken“ möglich.

### **3.1.2.5. Bestimmung der Anzahl an Hefepilzen**

Die zum Nachweis der Hefepilze genutzten Filter wurden als einzige nicht bei 37 bzw. 43°C inkubiert. Da Pilze bei Zimmertemperatur bessere Wachstumsbedingungen vorfinden, wurden diese Proben bei Zimmertemperatur für 5-7 Tage gelagert und täglich kontrolliert, da die Gefahr des Überwucherns mit Schimmelpilzen bestand und somit ein Ablesen erst nach einer Woche nicht möglich gewesen wäre. Verwendet wurde der Selektivagar nach

Sabouraud (DIFCO). Dem Nährmedium wurde Chloramphenicol zugesetzt, um das Wachstum von bakteriologischen Begleitkeimen weitestgehend zu unterdrücken.

### **3.1.2.6. Weitere Keimdifferenzierung**

Neben der Suche nach in der Aufgabenstellung vorgegebenen Keimen brachte es die Versuchsdurchführung mit sich, dass auch Reinkulturen von weiteren Keimen hergestellt wurden, denen primär kein Augenmerk geschenkt werden sollte.

Zum Beispiel wurden auf dem Mac Conkey - Agar neben den gezielt gesuchten Enterobacteriaceae häufig auch *Pseudomonas spp.* und *Aeromonas spp.* isoliert. Auch auf anderen Selektivmedien fanden sich immer wieder Erreger, wie *Corynebacterium spp.*, die dann ebenfalls durch weitergehende Untersuchungen (API 20 NE; BBL CRYSTAL GP, BIOMERIEUX) ausdifferenziert wurden.

### **3.1.3. Weitere Untersuchung**

Zusätzlich zu den Oberflächenuntersuchungen wurde auch von jeder der drei städtischen öffentlichen Toiletten der momentan benutzte Wischlappen im Labor auf seinen Keimgehalt hin qualitativ untersucht.

Dieser Lappen wurde dafür in ein Gefäß mit NaCl (5 Liter) gegeben. Dieser Flüssigkeit wurde, da anzunehmen war, dass Reste der verwendeten Reinigungsmittel sich noch am Lappen befinden, mit 0,1% Histidin, 0,3% Lezithin und 3% Tween 80 versetzt und bei 4°C für 24h gerührt.

Anschließend wurden Proben der Flüssigkeit nach der unter 3.1.2. beschriebenen Methode filtriert und die gewachsenen Keime ausdifferenziert.



### **3.1.4. Virologische Arbeitsmethoden**

#### **3.1.4.1. Verwendetes Testvirus**

Für die Laboruntersuchungen wurde als Testvirus folgendes Virus zum Einsatz gebracht:

- ECBO - Virus (Enteric Cytopathogen Bovine Orphan), ein unbehülltes RNS-Virus der Familie der Picornaviridae aus der institutseigenen Stammsammlung

Bei diesem Testvirus wurde ein Repräsentant der Enteroviren ausgewählt, der auch denen für den Menschen entscheidenden Viren dieser Gruppe in seiner Tenazität entspricht. Darüber hinaus ist das ECBO - Virus u.a. als Testvirus für die Desinfektionsmittelprüfung nach den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft vorgeschrieben. Weiterhin war die relative Ungefährlichkeit für experimentelle Versuche ausschlaggebend.

#### **3.1.4.2. Zellkulturen und Virusvermehrung**

Für die Versuche wurden folgende Zellkulturen eingesetzt:

- MDBK (Madine und Darby Bovine Kidney cell) als permanente Rindernierzelle für die Laborversuche mit ECBO - Virus
- VERO (African Green Monkey kidney cell) als permanente Affennierzelle für die Auswertung der Proben aus den Felduntersuchungen

Für die Anzucht der verschiedenen Zellkulturen im CO<sub>2</sub>-begasteten Brutschrank (5% CO<sub>2</sub>) bei 37°C bestand das Zellkulturmedium aus MEM (Minimum Essential Medium; BIOCHROM), 5% fetalem Kälberserum (FKS; SEROMED), Penicillin, Streptomycin, Amphotericin, Gentamycin und Vancomycin. Zusätzlich wurde das Nährmedium regelmäßig mit NEA (Nichtessentielle Aminosäuren, SEROMED) versetzt. Sobald sich ein konfluenter einschichtiger Zellrasen gebildet hatte, wurden die Zellen mit Trypsinlösung abgelöst und in einem für die Zelllinie geeigneten Teilungsverhältnis (1:3 – 1:5) auf weitere Kulturflaschen (NUNC) verteilt. Die Zellen wurden täglich unter dem Lichtmikroskop auf Vitalität und Vermehrungsrate überprüft.

Auf den unter diesen Bedingungen in den Zellkulturflaschen gewachsenen konfluenten Zellrasen wurden nach Waschen mit MEM einige Milliliter Virussuspension aufgetragen und für etwa 1,5 Stunde in den Brutschrank verbracht. Nach dieser Zeit, in der unter mehrmaligem Schwenken die Adsorption der Viren an die Wirtszelle unterstützt wurde, wird der Überstand abpipettiert und die Flasche mit der deren Größe entsprechenden Menge an Erhaltungsmedium aufgefüllt. Nach 23 Tagen Inkubation bei 37°C wurde ein vollständiger cytopathischer Effekt (cpE) erreicht. Die Virussuspension wurde abgesaugt und für 10 min bei 3000 U/min und 4°C zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren konnte der zellfreie virushaltige Überstand abgenommen und in beliebigen Mengen geteilt, bei -80°C eingefroren werden.

### **3.1.4.3. Virustitration, Bestimmung des Virustiters**

Für die Laborversuche war es notwendig die Ausgangskonzentration der Virussuspension zu ermitteln. Dies erfolgte nach der Endverdünnungsmethode auf Zellkulturplatten mit 96 Vertiefungen, die jede einen konfluenten Zellrasen aufwiesen.

Die zu untersuchenden Proben wurden in geometrischer Reihe ( $\log_{10}$ ) bis zu einer Verdünnungsstufe von  $10^{-8}$  verdünnt. D.h. in 1,8 ml MEM wurden jeweils 0,2 ml der Ausgangsprobe bzw. der vorherigen Verdünnungsstufe gegeben. Die Abb.11 zeigt die vorbereiteten Titrationsröhrchen mit jeweils 1,8 ml MEM. 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe wurden auf je 4 Vertiefungen mit den empfänglichen Zellen aufgebracht und die 96-Well-Platten (MULTIMED WICKER) dann bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> im Brutschrank inkubiert.



*Abb. 11: mit MEM gefüllte Röhrchen für Virustitration*

Täglich erfolgte eine mikroskopische Kontrolle, ob ein cpE zu beobachten war. Bei ECBO - Viren degenerierten die Zellen innerhalb von 26 Tagen und kugelten sich ab, so dass mit dem erhaltenen Ergebnis der Virustiter nach der Formel von SPEARMAN und KAERBER (zit. in MAYR et al., 1974) berechnet werden kann.

#### **3.1.4.4. Virologische Laboruntersuchungen**

Ziel dieser Untersuchung war es, zum einen die Überlebensfähigkeit von ECBO - Virus auf zwei verschiedenen Oberflächenmaterialien in Abhängigkeit von der Eintrocknungszeit zu ermitteln, zum anderen bestand der Zweck darin, herauszufinden, in welcher Konzentration Virus durch die nachfolgend beschriebene Methode noch nachgewiesen werden kann.

Es wurde eine PVC-Oberfläche, in Form einer handelsüblichen Toilettenbrille, und eine von dem Toilettenbetreiber zur Verfügung gestellte Edelstahloberfläche in Form eines

Waschbeckens verwendet, um mit den Ergebnissen auch möglichst praxisrelevante Aussagen treffen zu können.

#### **3.1.4.4.1. Methodik des Laborversuches**

Auf beiden Oberflächen wurden sowohl Versuche, die Konzentration, als auch die Zeit betreffend, durchgeführt. Um das Virus zurückzugewinnen wurden Abstriche mittels Wattetupfer genommen. Der Tupfer wurde vorher in MEM mit Antibiotikazusatz abgeschüttelt und dann über der Oberfläche sorgfältig abgestrichen. In Vorversuchen zeigte sich, dass auch wenn die Unterschiede gering waren, MEM zum Anfeuchten im Gegensatz zu Beef, PBS und PBS unter Zusatz von 0,05% Tween, die höchste Rückgewinnungsrate erwarten ließ.

Die Oberflächen der Objekte wurden mittels Schablonen in Felder mit je 1 cm<sup>2</sup> eingeteilt, in die je 0,01 ml Virussuspension mit einer bekannten Konzentration gegeben wurden. Um in Hinblick auf den Feldversuch eine einheitliche Methodik anzuwenden, wurden auch hier 6x0,01ml aufgetragene Virussuspension mit Tupfern abgestrichen und gemeinsam in ein Gefäß mit 1,44 ml MEM gegeben, um die Verdünnungsstufen im log<sub>5</sub> aufrechtzuerhalten. In diesem Gefäß wurde die Probe für 5 min, umgeben von Eis, ultraschallbehandelt und dann austitriert.

Bei der Untersuchung in Abhängigkeit von der Konzentration wurde von der üblichen Methodik der Titration im log<sub>10</sub> abgewichen, um möglichst viele Werte im Hinblick auf die Rückgewinnungsrate zu erhalten, d.h. 0,2 ml der Suspension, in welche die Tupfer nach dem Abstrich gegeben wurden, wurden in dem Fall in 0,8 ml MEM verdünnt, je 0,1 ml der Verdünnungsstufen auf 96-Well - Platten verbracht und im CO<sub>2</sub>-Brutschrank inkubiert. Es erfolgte täglich eine mikroskopische Kontrolle und nach 7 Tagen die Endablesung.

Für die Versuche in Abhängigkeit von der Zeit, wurden in die Felder je 0,01 ml einer bekannten Viruskonzentration aufgetragen und in 20-minütigen Abständen von 0 – 80 min nach der oben beschriebenen Methode, nur mit den Verdünnungsstufen des log<sub>10</sub> durchgeführt, zurückgewonnen.

Für die Versuche in Abhängigkeit von der Konzentration wurden Virussuspensionen bekannter Konzentrationen aufgetragen. Nach einer einheitlichen Eintrocknungszeit von 64

1 Stunde bei konstanten Umweltbedingungen von 30± 5°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 35± 5% wurden auch diese Proben mit der gleichen Methode ausgewertet.

### **3.1.5. Virologische Untersuchungen auf öffentlichen Toiletten**

Es wurden durch Schablonen definierte Flächen von je 1cm<sup>2</sup> mit einem angefeuchteten Tupfer abgetupfert. Jeweils 6 dieser Tupfer wurden dann in 1,44 ml MEM gegeben. Unter Aufrechterhaltung der Kühlkette wurden die Proben in das Labor verbracht und dort nach der Ultraschallbehandlung 0,1 ml je Well auf bereits vorbereitete 96-Well-Platten mit einem konvluenten Zellrasen an VERO - Zellen pipettiert. Die Reste der Proben wurden bei –80°C eingefroren, um bei Auftreten eines cpE diese zur Bestimmung des Virustiter heranziehen zu können.

Die Entnahmepunkte sind unter 3.1.1. aufgegliedert und können auch der Abb.8 entnommen werden. Dabei wurde hier ausschließlich nach Enteroviren gesucht.

## **3.2. Versuchsergebnisse**

### **3.2.1. Tupferabstriche in öffentlichen Toiletten**

Die Ergebnisse der Tupferabstriche von den Oberflächen der städtischen öffentlichen Toiletten im Einzelnen können der Tabelle A1 im Anhang entnommen und aufgrund der Verwendung von Schablonen direkt miteinander verglichen werden.

#### **3.2.1.1. Häufigkeitsverteilung der Gesamtbakteriengehalte auf städtischen Toiletten**

Die aerobe Gesamtbakterienzahl (GBZ) schwankt auf den verschiedenen Entnahmepunkten sehr stark von 0 bis 10<sup>5</sup> (Tab.3). Das geringste Keimniveau war dabei auf den Entnahmepunkten 4, 9, und 12 festzustellen, während die Probenahmestellen 1, 2, 5, und 10 am stärksten kontaminiert waren.

Während auf der Toilettenbrille und Türfläche der Kabine bzw. der Eingangstür in bis zu 8,6% der Proben keine Keime nachweisbar waren, sind auf dem Boden direkt vor der Toilette, auf dem Spülknopf und am Wasserhahn in jeder Probe Keime zu finden.

In mindestens 20% der Proben der Entnahmestellen 1, 2, 5, 10 bewegen sich die Keimzahlen zwischen  $10^3$  und  $10^5$ , während bei den übrigen untersuchten Lokalisationen maximal 13% der Proben diesen Wert überschreiten.

Ein Großteil der Keimzahlen bewegt sich in der Spanne bis  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ , vor allem die Oberflächen der Punkte 4, 7, 8, 9 und 12 sind hier zu erwähnen.

Tab.3: aerobe Gesamtbakterienzahl auf städtischen öffentlichen Toiletten je  $40 \text{ cm}^2$

	Anzahl der Proben	n.n.		bis 10		bis 100		bis 1000		bis 10000		bis 100000	
		Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
Toilettenbrille (1)	50	4	8%	0	0%	9	18%	16	32%	18	36%	3	6%
Boden v.Toil. (2)	50	0	0%	0	0%	3	6%	12	24%	27	54%	8	16%
Spülknopf (3)	50	0	0%	3	6%	13	26%	26	52%	6	12%	2	4%
Fläche Kab.tür (4)	58	5	8,60%	4	6,90%	40	80%	8	13,80%	0	0%	1	1,70%
Waschbecken (5)	58	2	3,50%	2	3,50%	6	10,30%	29	50%	16	27,60%	5	8,60%
Wasserhahn (6)	34	0	0%	0	0%	5	14,70%	16	47,10%	12	20,70%	1	2,90%
Handtrockner (7)	38	2	5,30%	2	5,30%	10	26,30%	14	36,80%	7	18,40%	0	0%
Seifenspender (8)	58	1	1,70%	1	1,70%	13	22,40%	29	50%	11	19%	2	3,40%
Müllklappe (9)	28	1	3,60%	1	3,60%	6	21,40%	18	64,30%	3	10,70%	0	0%
Urinal (10)	30	1	3,30%	1	3,30%	0	0%	9	30%	15	50%	5	16,70%
Klinke Eingang (11)	58	1	1,70%	1	1,70%	15	25,90%	31	53,40%	10	17,20%	1	1,70%
Klinke Kabine (12)	20	7	35%	3	15%	3	15%	7	35%	0	0%	0	0%

Über die in der Tab. 3 gezeigten Werte kann sich anhand der Abb. 12 ein Überblick verschafft werden und die in den Proben gefundenen Keimmengen der einzelnen Entnahmepunkte miteinander verglichen werden.

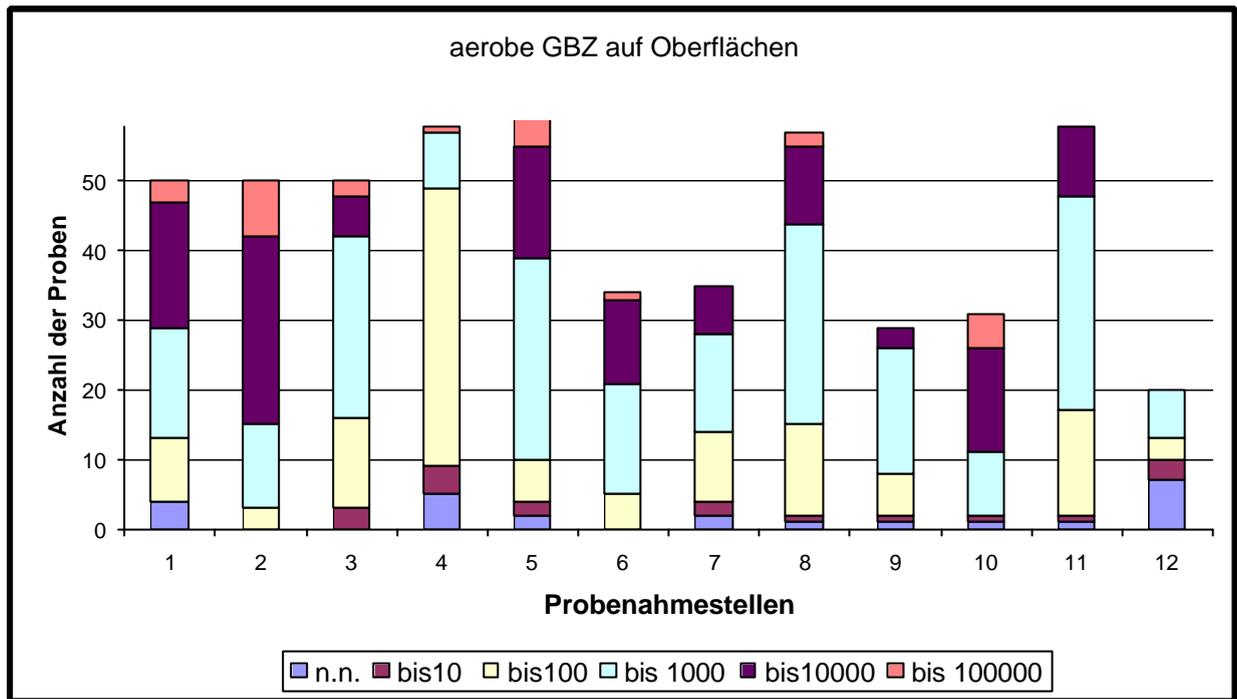


Abb.12: aerobe Gesamtbakterienzahl auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

- |                       |                      |
|-----------------------|----------------------|
| 1 Toilettenbrille     | 7 Handtrockner       |
| 2 Boden vor Toilette  | 8 Seifenspender      |
| 3 Spülknopf           | 9 Mülleimerklappe    |
| 4 Fläche Toilettentür | 10 Urinal            |
| 5 Waschbecken         | 11 Klinke Eingang    |
| 6 Wasserhahn          | 12 Klinke Kabinentür |

### 3.2.1.2. Häufigkeitsverteilung einzelner Keime auf städtischen Toiletten

Im folgenden soll auf das Aufkommen einzelner ermittelter Keimspezies, die als hygienisch relevant eingestuft werden und infolge dessen, aus den gewachsenen Kolonien weiter herausdifferenziert wurden, im Vergleich zur Gesamtbakterienzahl, d.h. aller aerob gewachsener Keime, siehe auch Tab.4, näher eingegangen werden.

Insgesamt konnten in 27% der Proben Enterobacteriaceae nachgewiesen werden (Tab.5). Das Spektrum verschiedener Spezies, welche isoliert wurden, reicht dabei von obligat pathogenen Shigellen in 5 Proben, d.h. in ca. 1% der Proben, über fakultativ pathogene Enterobacteriaceae wie *E. coli* und *Klebsiella spp.* ( in 6 bzw. 2,2% der Proben) bis zu *Serratia spp.* in 5,3% der Proben (Tab.4).

*Pasteurella spp.* und *Aeromonas spp.* wurden nur in geringem Maße in 1,2 bzw. 1,9% der Proben entdeckt. Dagegen waren Fäkalstreptokokken mit 19,7%, *Pseudomonas spp.* mit 13,2% und *St. aureus* mit 12% positiven Proben weitaus häufiger nachweisbar (Tab.4).

Mit Abstand am häufigsten wurden Staphylokokken nachgewiesen. Sie konnten auf allen Oberflächen in hohem Maße gefunden werden. Die Werte schwanken dabei von 75% staphylokokkuspositiven Proben auf der Klinke der Kabinentür bis 98% auf dem Boden vor der Toilette. Durchschnittlich waren 90% der Proben staphylokokkuspositiv. In 12%, d.h. in 65 der Proben, war dabei auch *St. aureus* zu isolieren (Tab.4).

Tab.4: positive Proben nachgewiesener Mikroorganismen

	Anzahl positive Proben	in Prozent		Anzahl positive Proben	in Prozent
<b>Shigella spp.</b>	5	1,00%	<b>Past.hämol.</b>	4	0,80%
<b>E. coli</b>	32	6,0%	<b>Past.multoc.</b>	2	0,40%
<b>Erwinia spp.</b>	14	2,60%	<b>Pseud.spp.</b>	70	13,20%
<b>Enterob.cloac.</b>	3	0,56%	<b>Aerom.spp.</b>	10	1,90%
<b>Enterob.spp.</b>	19	3,60%	<b>Coryneb.diph.</b>	8	1,50%
<b>Citrob.freun.</b>	32	6,00%	<b>Coryneb.spp.</b>	32	6,00%
<b>Kleb.oxytoca</b>	11	2%	<b>Fäkalstreptok.</b>	105	19,70%
<b>Klebs.spp.</b>	1	0,20%	<b>Staph.aureus</b>	65	12,00%
<b>Hafnia alvei</b>	1	0,20%	<b>Staphyl.spp.</b>	479	90%
<b>Serratia spp.</b>	28	5,30%	<b>Candida.alb.</b>	322	60,50%

In der Abb.13 ist der Anteil weiter differenzierter Keime (Tab.4) am Gesamtbakterienaufkommen als Überblick dargestellt.

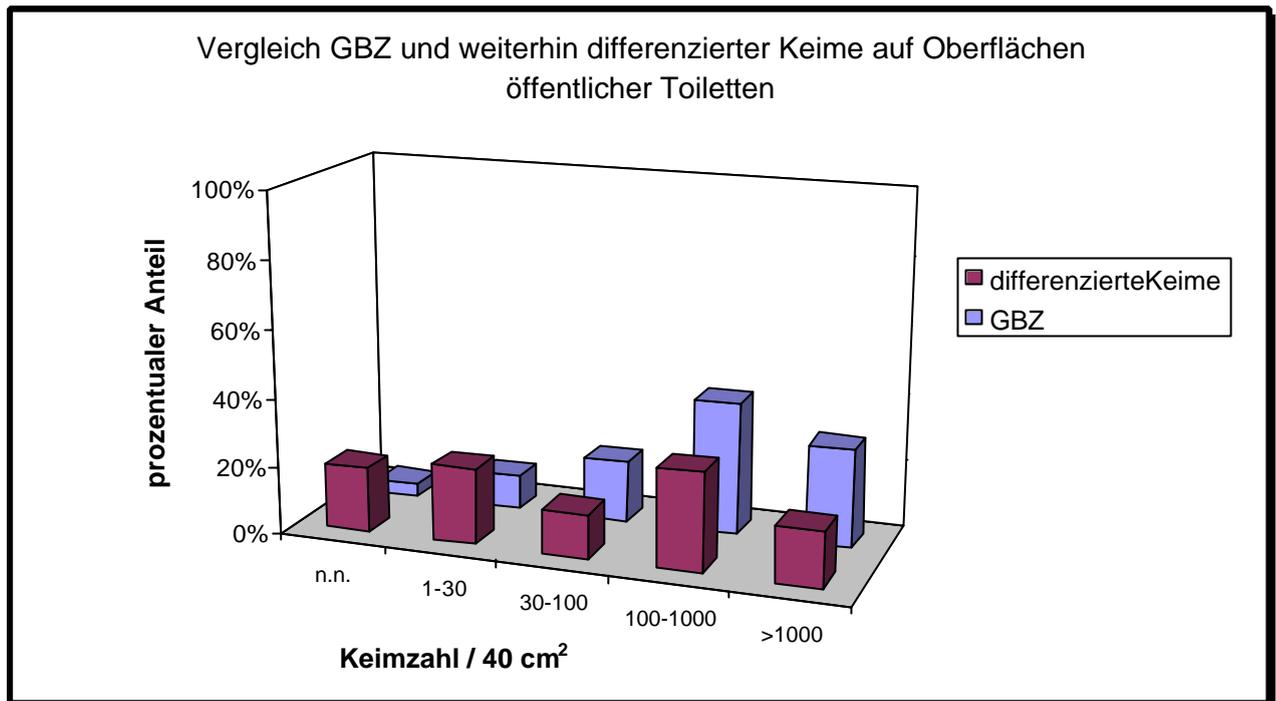
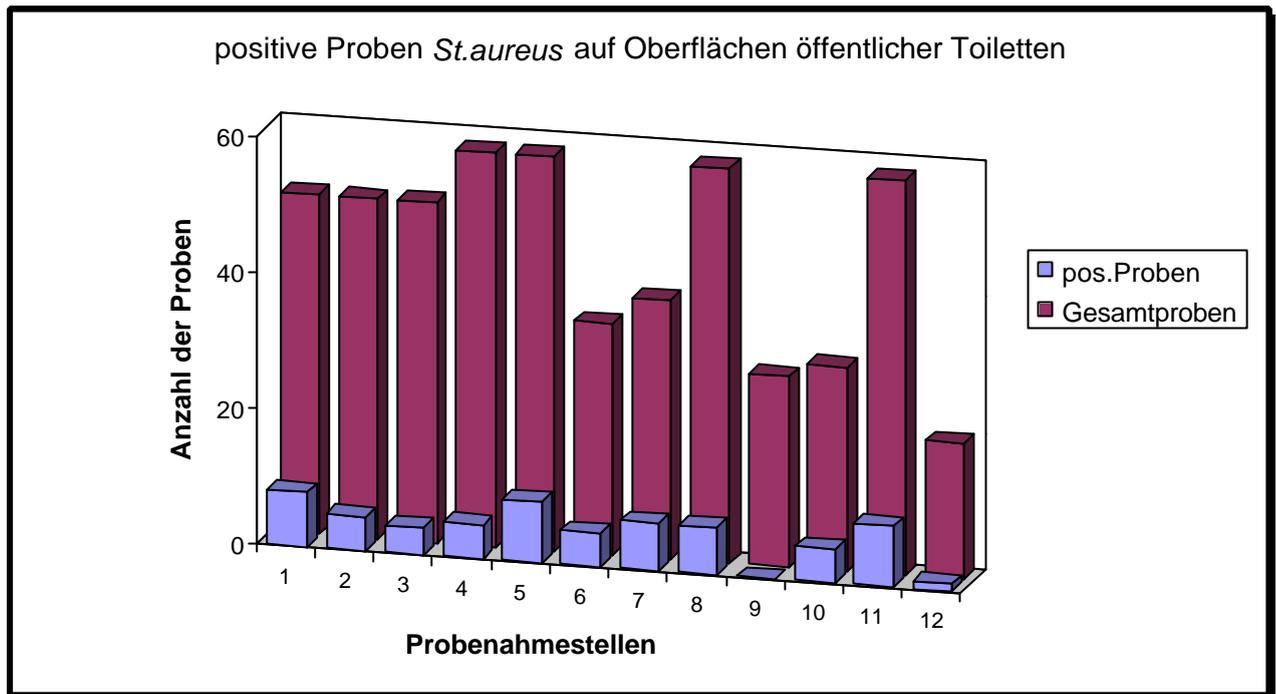


Abb.13: Vergleich der aeroben Gesamtbakterienzahl mit dem Anteil weiterhin differenzierter Keime

### 3.2.1.2.1. Häufigkeitsverteilung von *Staphylokokkus aureus*

Mit dem Handtrockner (18%), dem Urinal (17%), der Türklinke am Eingang, der Toilettenbrille sowie dem Waschbecken mit jeweils 16% wurde die höchste Frequenz der *St. aureus* positiven Proben dort erreicht, wo auch der häufigste direkte Hautkontakt stattfindet. Nur an der Mülleimerklappe konnte *St. aureus* in keiner der 28 untersuchten Proben nachgewiesen werden. Die höchsten Konzentrationen wurden dabei auf der Toilettenbrille mit ca.  $3 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  und am Urinal mit ca.  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden. Im übrigen bewegten sich die gefundenen Werte zwischen  $1,2 \times 10^1$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  an der Fläche der Kabinentür und  $5,5 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  am Spülknopf.



(Legende siehe Abb.12)

Abb.14: Vorkommen von *St. aureus* auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### 3.2.1.2.2. Häufigkeitsverteilung von Enterobacteriaceae

Auf allen untersuchten Oberflächen konnten Enterobacteriaceae nachgewiesen werden. Auf der Toilettenbrille (54%) und dem Boden vor der Toilette (46%) wurden Enterobacteriaceae mit Abstand am häufigsten gefunden (Tab.4), gefolgt vom Urinal (37%), der Klinke der Kabine (30%), dem Waschbecken (29%), dem Wasserhahn (26%) sowie dem Spülknopf (24%). *Escherichia coli* und *Citrobacter freundii* waren dabei mit 6% die am zahlreichsten gefundene Spezies, gefolgt von 5,3% positiven Isolate von *Serratia spp* (Tab.6).

Auf der Toilette 3 konnten an den Lokalisationen 1, 2, 3 und 6 *Shigella spp.* mit max.  $9 \times 10^1$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> gefunden werden.

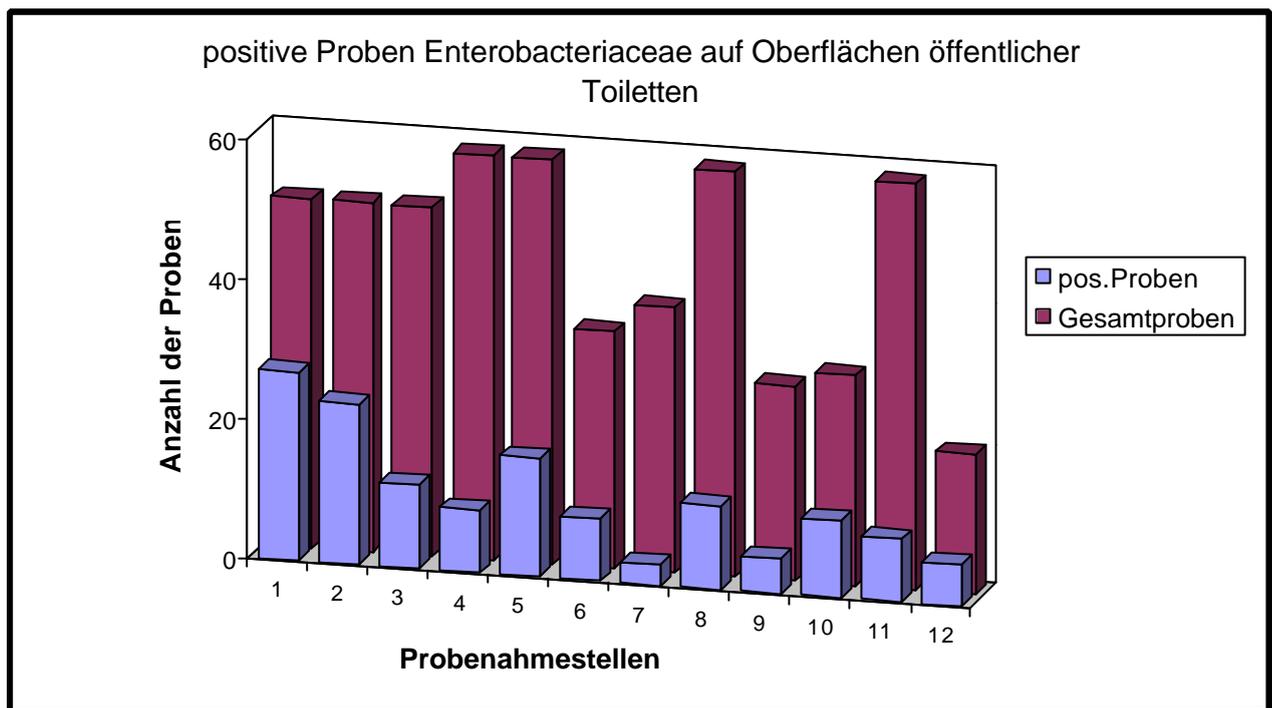
*Escherichia coli* wurde auf allen 12 Lokalisationen nachgewiesen, wobei auf der Toilettenbrille mit ca.  $1 \times 10^5$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> und am Waschbecken mit  $2,3 \times 10^3$  KBE / 40cm<sup>2</sup> die größten Mengen gefunden wurden. Die übrigen Entnahmestellen zeigten nur rückgewonnene *E. coli*-Mengen von  $6 \times 10^0$  (Probenahmepunkte 4, 9, 12) bis  $1 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> (8).

28 Proben, d.h. 5,3% der untersuchten Isolate wiesen *Serratia spp.* auf. Sie verteilten sich ebenfalls über alle Probenahmeplätze.  $1,7 \times 10^2$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> wurden auf dem

Seifenspender als Höchstmenge gefunden. Auch *Hafnia alvei* wurde auf einem Entnahmepunkt, mit  $1,5 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf der Toilettenbrille isoliert.

Zusätzlich wurden verschiedentlich *Klebsiella* spp. isoliert. Auf dem Urinal war *Klebsiella oxytoca* 2x mit ca.  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  zu finden. Zusätzlich in kleineren Mengen von bis zu  $8 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auch auf den Probenahmestellen 1, 2, 8, 9 und 11. *Klebsiella ornithinolytica* wurde einmal auf dem Boden vor der Toilette mit ebenfalls ca.  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen.

Salmonellen waren nicht nachweisbar.



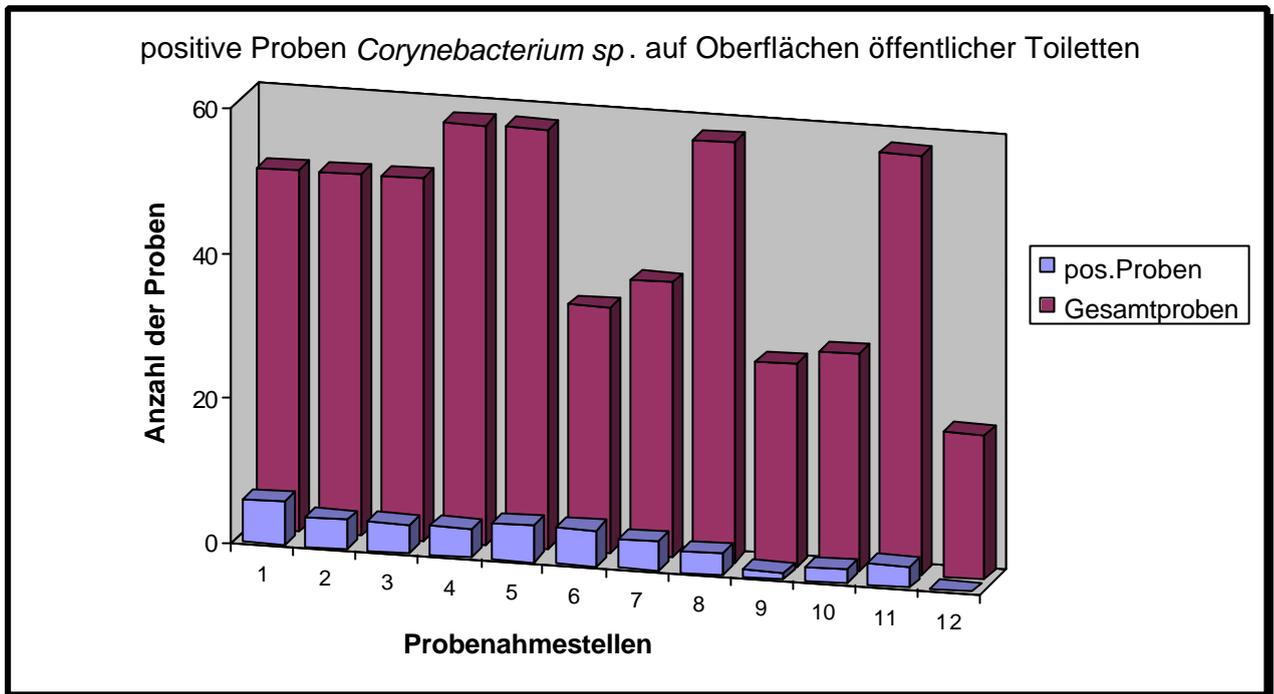
(Legende siehe Abb. 12)

Abb. 15: Enterobacteriaceae auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### 3.2.1.2.3. Häufigkeitsverteilung von *Corynebacterium* spp.

*Corynebacterium* spp. waren in 7,7% der Proben und damit häufiger als z.B. Enterobacteriaceae nachweisbar. Auf *Corynebacterium diphtheriae* entfielen dabei nur 1,5%, auf übrige *Corynebacterium* spp. 6,2% der positiven Isolate (Tab.6). *C. diphtheriae* wurde an den Probenahmeorten 3, 4, 5 und 6 mit max.  $1,4 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden, während die übrigen Spezies an allen Lokalisationen, außer Punkt 12, entdeckt wurden und auf der

Toilettenbrille und dem Spülknopf mit ca.  $1 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  ihre höchste Konzentration hatten.



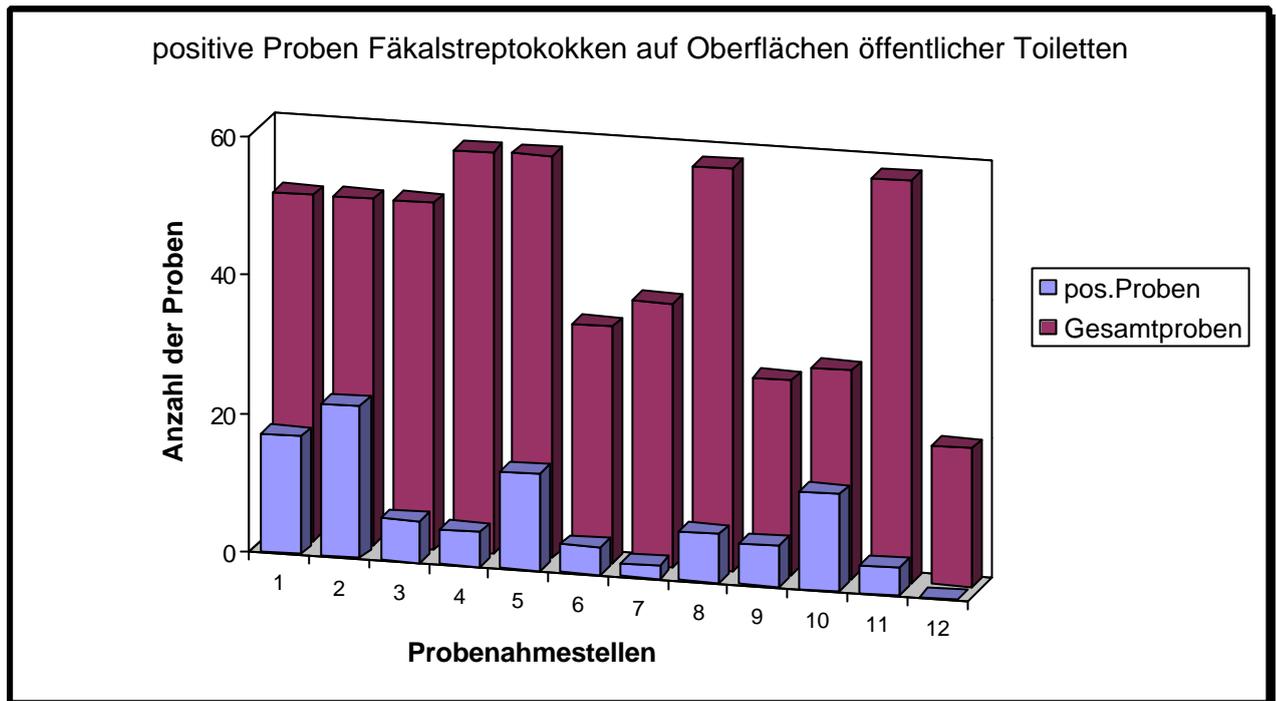
(Legende siehe Abb.12)

Abb.16: Vorkommen von *Corynebacterium spp.* auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

#### 3.2.1.2.4. Häufigkeitsverteilung von Fäkalstreptokokken

Außer auf dem Entnahmepunkt 12 konnten Fäkalstreptokokken auf allen anderen Lokalisationen isoliert werden. Auch hier wurden die deutlich höchsten Werte mit 44% auf dem Boden vor der Toilette, dem Urinal (42%) und mit 34% auf der Toilettenbrille gefunden (Tab.5). Die übrigen Entnahmepunkte lagen mit einem Anteil von maximal 24% (Waschbecken) an positiven Proben deutlich darunter.

Nicht nur die Frequenz der positiven Proben, sondern auch die Konzentrationen der isolierten Keime waren auf den Entnahmepunkten 1 und 2 mit jeweils ca.  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  am höchsten. Gefolgt vom Urinal mit ca.  $2 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  und dem Spülknopf mit ca.  $5 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ .



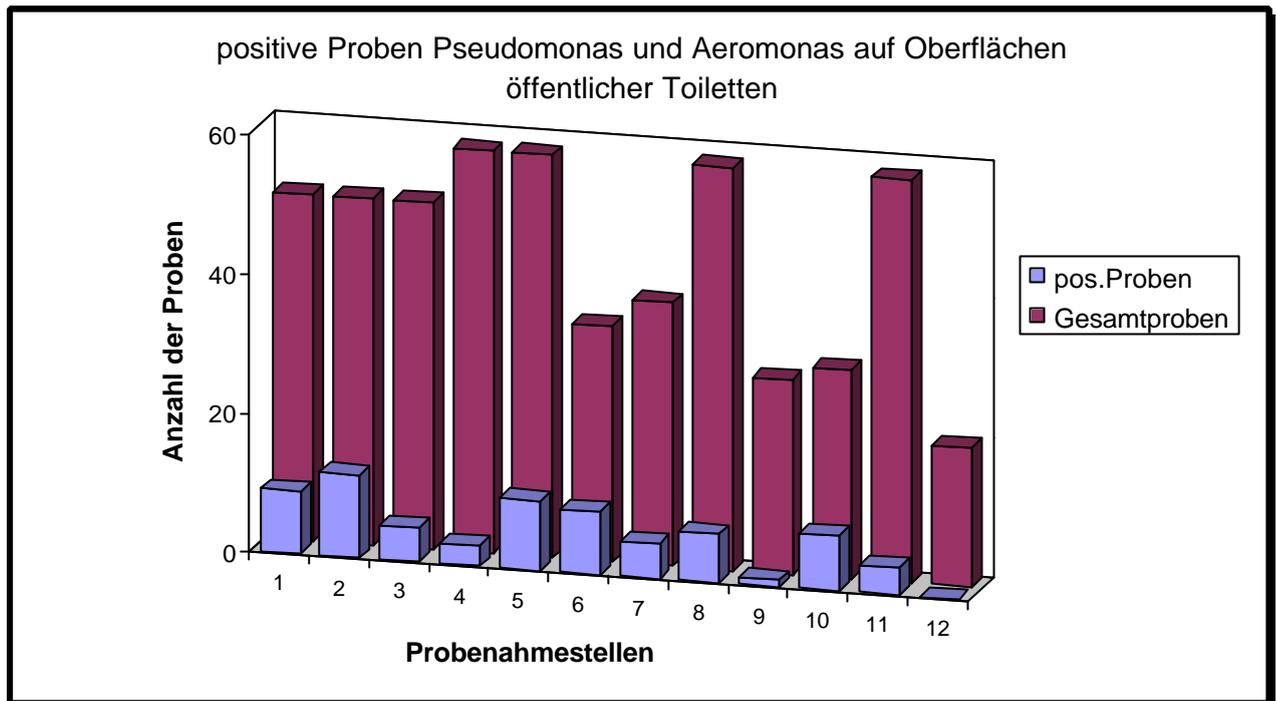
(Legende siehe Abb.12)

Abb.17: Vorkommen von Fäkalstreptokokken auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### 3.2.1.2.5. Häufigkeitsverteilung von *Pseudomonas* spp. und *Aeromonas* spp.

*Pseudomonas* spp. und *Aeromonas* spp. konnten in bis zu 27% der Proben (Urinal) gefunden werden. Durchschnittlich waren 14% der Tupferproben *Pseudomonas*-oder *Aeromonas*-positiv, wobei den Hauptteil mit ca. 13% dabei die *Pseudomonas* spp. darstellen. Der niedrigste Prozentsatz an positiven Proben wurde dabei neben der Klinke der Kabine mit 0% und der Fläche der Toilettentür mit 5% an der Klinke der Eingangstür mit 7% gefunden (Tab.5).

In einer Vielzahl der Fälle waren die gefundenen Mengen an Keimen im Verhältnis zum übrigen Keimniveau sehr hoch. Auf der Toilettenbrille, auf dem Boden, am Waschbecken, am Wasserhahn sowie am Urinal wurden teilweise mehrfach über  $10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  isoliert. Die niedrigsten Werte mit max.  $9 \times 10^1$  bzw. ca.  $3 \times 10^2$  wurden am Spülknopf und an der Mülleimerklappe gefunden.



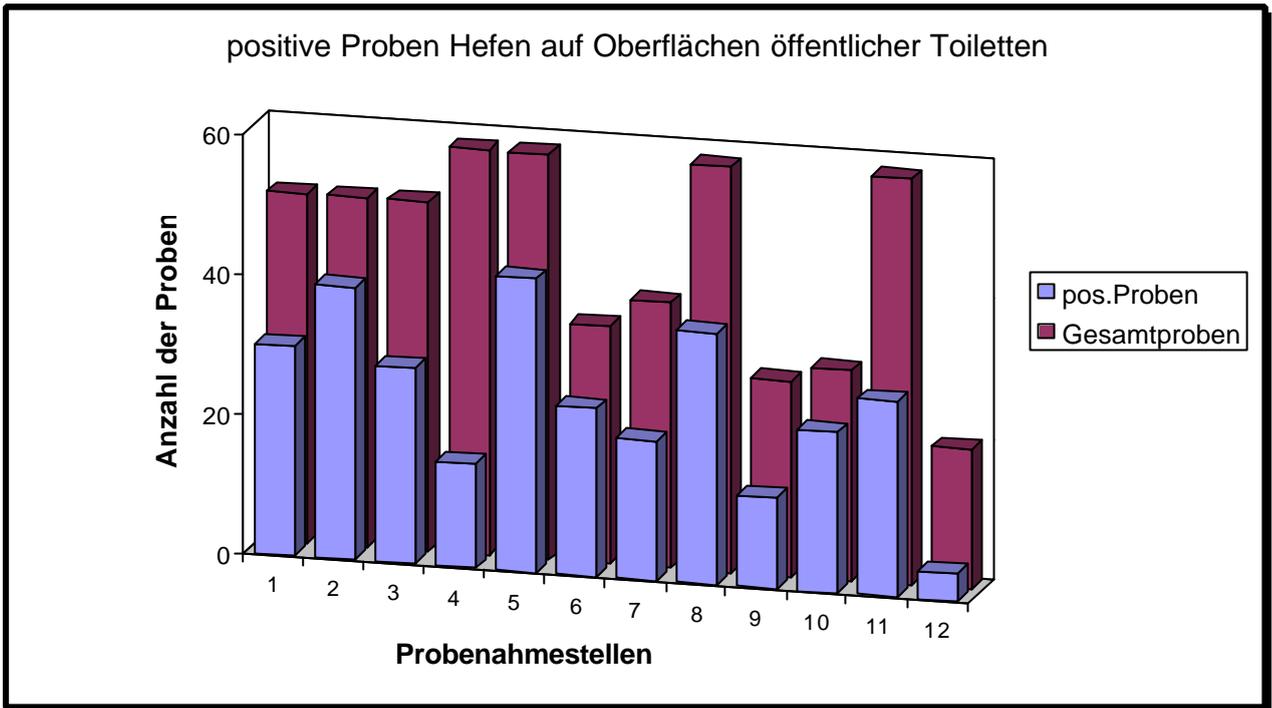
(Legende siehe Abb.12)

Abb.18: Vorkommen von *Pseudomonas* spp. und *Aeromonas* spp. auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### 3.2.1.2.6. Häufigkeitsverteilung von *Candida* spp.

*Candida* spp. sind die nach den Staphylokokken am häufigsten isolierten Spezies. Sie wurden an allen Standorten gefunden. Durchschnittlich in 60,5% der Proben waren Hefen nachweisbar. Die Maximalwerte lagen mit 78% bzw. 77% an den Probenahmestellen 2 und 10 (Tab.5).

Auch hier war an mehreren Lokalisationen eine häufig sehr hohe Keimmenge nachzuweisen. So wuchsen auf den Kulturen von Entnahmepunkt 2, 5 und 10 mehrmals über  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ . Auch an den Probenahmestellen 1, 2, 4, 6, und 7 waren mindestens  $2,4 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  und bis zu  $6 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  zu finden. Die geringsten Mengen wurden an den Klinken sowie an der Mülleimerklappe mit nur bis zu ca.  $8 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen.



(Legende siehe Abb. 12)

Abb. 19: Vorkommen von *Candida* spp. auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Tab.5: Staphylokokken, St. aureus und Enterobacteriaceae auf Oberflächen in städtischen öffentlichen Toiletten

	Proben	Staph.		St. aureus		Enterobacter.	
		Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
Toilettenbrille (1)	50	45	90%	8	16%	27	54%
Boden vor Toil. (2)	50	49	98%	5	10%	23	46%
Spülknopf (3)	50	46	92%	4	10%	12	24%
Fläche Kab.tür (4)	58	44	76%	5	9%	9	20%
Waschbecken (5)	58	54	93%	9	16%	17	29%
Wasserhahn (6)	34	32	94%	5	15%	9	26%
Handtrockner (7)	38	35	92%	7	18%	3	8%
Seifenspender (8)	58	56	97%	7	12%	12	21%
Müllklappe (9)	28	22	79%	0	0%	5	18%
Urinal (10)	30	27	90%	5	17%	11	37%
Klinke Eingang (11)	58	53	91%	9	16%	9	16%
Klinke Kabine (12)	20	15	75%	1	5%	6	30%
<b>Summe</b>	<b>526</b>	<b>478</b>	<b>89%</b>	<b>65</b>	<b>12%</b>	<b>143</b>	<b>27%</b>

Tab.6: Fäkalstreptokokken, Pseudomonas und Aeromonas sowie Candida spp. auf Oberflächen in städtischen öffentlichen Toiletten

	Proben	Fäkalstr.		Ps.+Aer.		Hefen	
		Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
Toilettenbrille (1)	50	17	34%	9	18%	30	60%
Boden vor Toil. (2)	50	22	44%	12	24%	39	78%
Spülknopf (3)	50	6	12%	5	10%	28	56%
Fläche Kab.tür (4)	58	5	9%	3	5%	15	30%
Waschbecken (5)	58	14	24%	10	17%	42	72%
Wasserhahn (6)	34	4	12%	9	26%	24	71%
Handtrockner (7)	38	2	5%	5	13%	20	53%
Seifenspender (8)	58	7	12%	7	12%	36	62%
Müllklappe (9)	28	6	21%	1	4%	13	46%
Urinal (10)	30	14	42%	8	27%	23	77%
Klinke Eingang (11)	58	4	7%	4	7%	28	48%
Klinke Kabine (12)	14	0	0%	0	0%	4	20%
Summe	<b>526</b>	<b>101</b>	<b>19%</b>	<b>73</b>	<b>14%</b>	<b>302</b>	<b>56%</b>

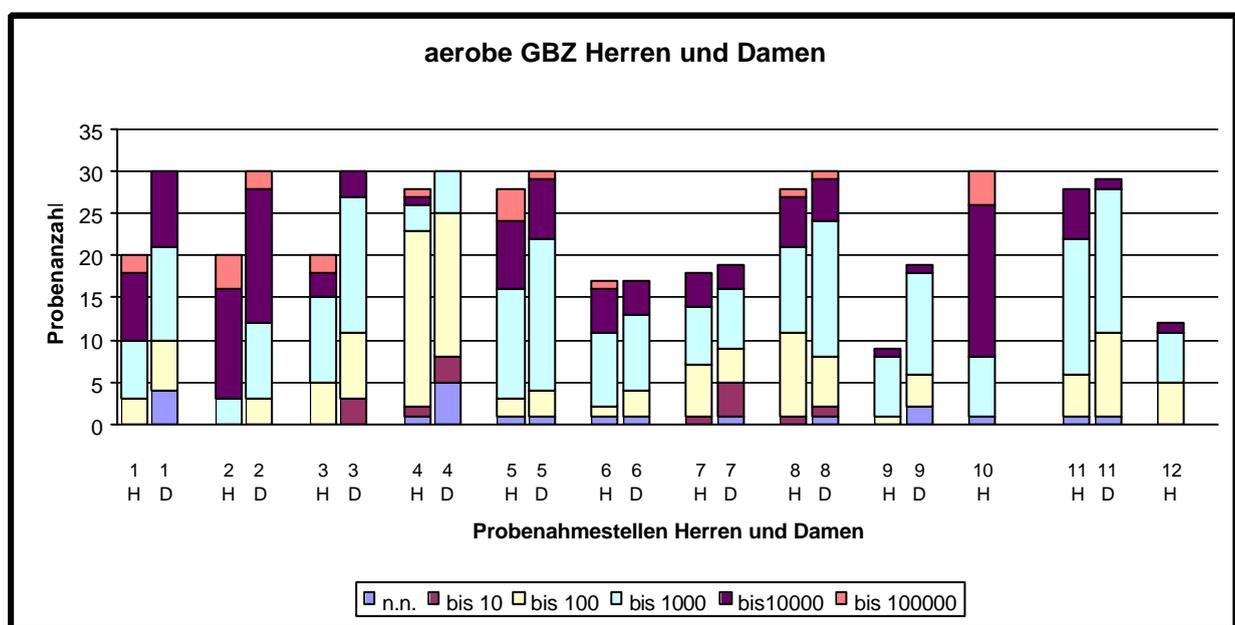
### 3.2.1.3. Ergebnisse Herrentoilette und Damentoilette

#### Gesamtbakterienzahl

Zwei der untersuchten Toiletten waren in Herren- und Damentoilette getrennt. Das dritte untersuchte Objekt fand seine Unterteilung in Sitztoilette und Urinal. Um die Werte vergleichen zu können wurde das Urinal dieser Toilettenanlage zur Herrentoilette und der Sitzbereich zur Damentoilette gezählt. Wie aus Abb.20 ersichtlich ist, sind die gefundenen Keimzahlen im Vergleich der Herren- und Damentoiletten besonders im unteren Sektor ähnlich. Auf der Herrentoilette sind 1,9% der Proben ohne Keimnachweis, während es auf der Damentoilette 6% sind. Auf der Herrentoilette fallen 90,7% und auf der Damentoilette

91,7% der gefundenen Keimmengen in den Bereich von  $10^0$  bis  $10^3$  KBE /  $40\text{ cm}^2$ . Auffällig ist, dass auf der Damentoilette insgesamt nur 1,5% der Proben eine Keimmenge /  $40\text{ cm}^2$  von über  $10^3$  aufwiesen, während dies auf der Herrentoilette für ca. 7,4% der Proben zutraf. 45,1% (Damentoilette) bzw. 38% (Herrentoilette) der Befunde ergaben Keimzahlen zwischen  $10^2$  und  $10^3$  KBE /  $40\text{ cm}^2$ .

Bei den Herren wiesen erwartungsgemäß der Boden vor der Toilette sowie das Waschbecken mit bis zu  $1,8 \times 10^4$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  und das Urinal mit ca.  $1,5 \times 10^4$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  am häufigsten die höchsten Werte auf, während auf der Damentoilette neben dem Boden der Seifenspender mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  die höchste Keimmenge aufzuweisen hatte. Die geringsten Kontaminationen waren sowohl bei den Herren als auch bei den Damen an der Toilettentür zu finden.



(Legende siehe Abb.12)

Abb.20: aerobe GBZ Herren und Damen auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

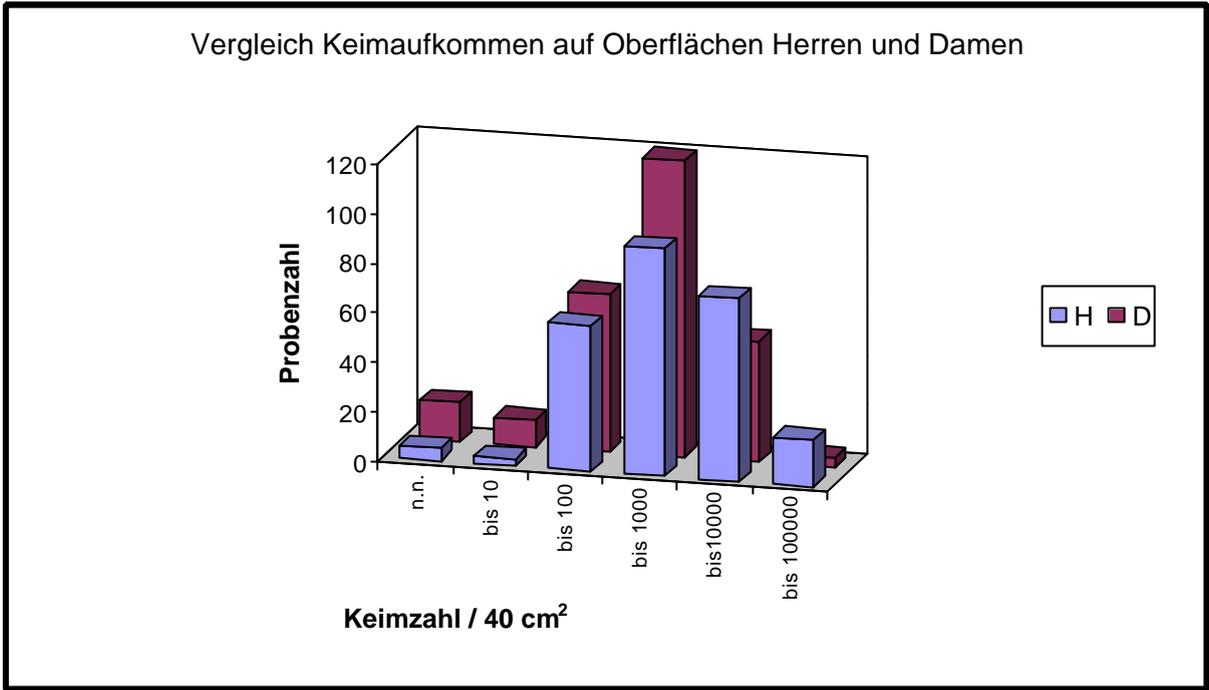


Abb.21: Vergleich Keimaufkommen Herren und Damen auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Beim Vergleich der aeroben Gesamtbakterienzahl mit dem Anteil der differenzierten Keime, d.h. *St. aureus*, Enterobacteriaceae, Fäkalstreptokokken, Pseudomonaden, *Aeromonas spp.*, *Corynebacterium spp.*, Pasteurellen und *Candida spp.*, ist festzustellen, dass 22,5% der Proben der Herrentoiletten und 10,5% der Proben der Damentoiletten eine Anzahl differenzierter Keime von über  $10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> aufwiesen (Tab.7). In den übrigen Kategorien unterscheiden sich die gefundenen Keimmengen nur unwesentlich voneinander, weisen sogar im Bereich von  $10^2 - 10^3$  KBE identische Werte auf.

Tab.7: Vergleich weiterhin differenzierter Keime auf Herren- und Damentoiletten

KBE	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	17,40%	20,90%	12,50%	26,70%	22,50%
Damen	20,70%	29,30%	12,80%	26,70%	10,50%

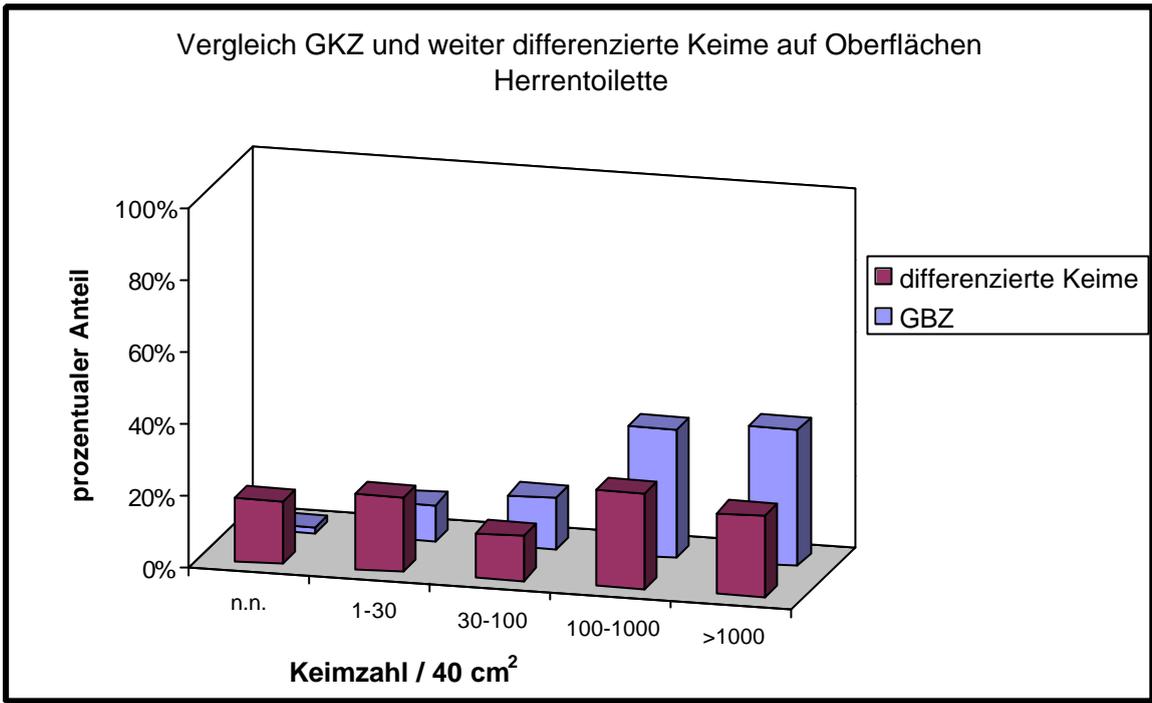


Abb.22: Vergleich GBZ und weiter differenzierte Keime der Herrentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

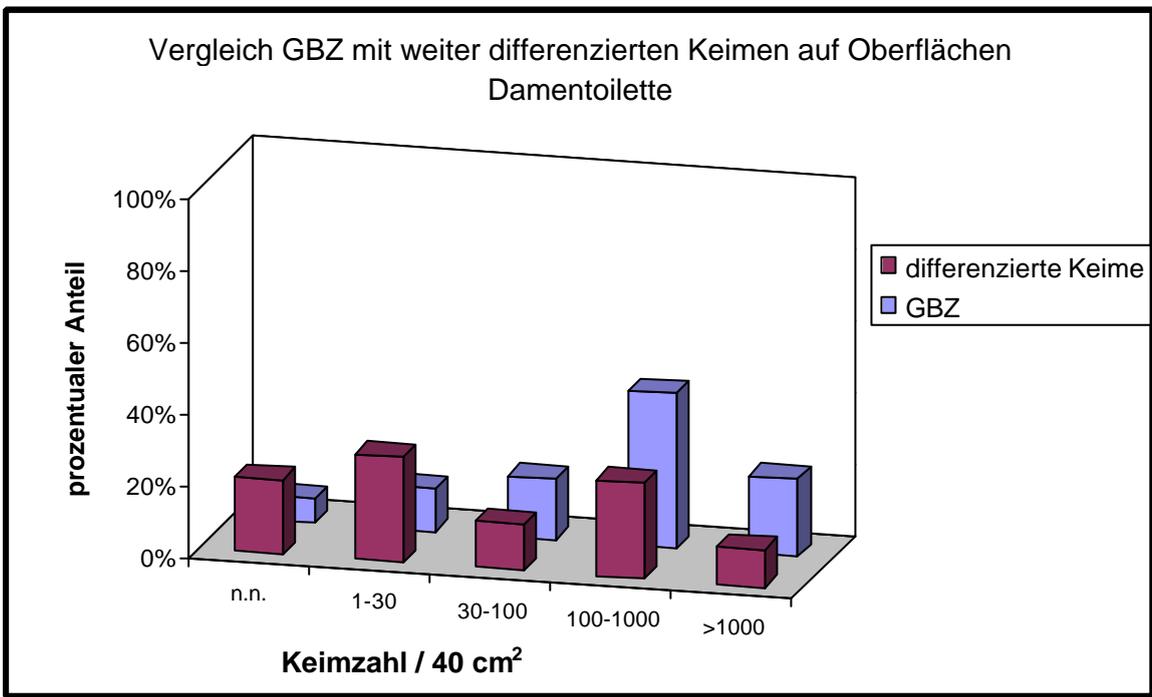


Abb.23: Vergleich GBZ und weiter differenzierte Keime der Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

## St. aureus

Auf durchschnittlich ca. 12% der untersuchten Oberflächen konnte *St. aureus* nachgewiesen werden. Dabei waren auf der Klinke an der Eingangstür, am Waschbecken, am Seifenspender, am Handtrockner und auf der Toilettenbrille 15% – 18% der Proben positiv (Tab.4). Durchschnittlich entfiel 12% der Keimzahlen auf den Bereich zwischen  $10^0$  und  $10^3$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  und nur 1% lag darüber. Quantitativ waren die Proben auf der Toilettenbrille und am Urinal mit  $3 \times 10^3$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  bis ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40\text{ cm}^2$  am größten.

Tab.8: Vergleich Keimaufkommen *St. aureus* Herren- und Damentoilette

	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	84,50%	8,60%	2,90%	2,50%	1,50%
Damen	89,80%	4,90%	1,50%	3,40%	0,40%

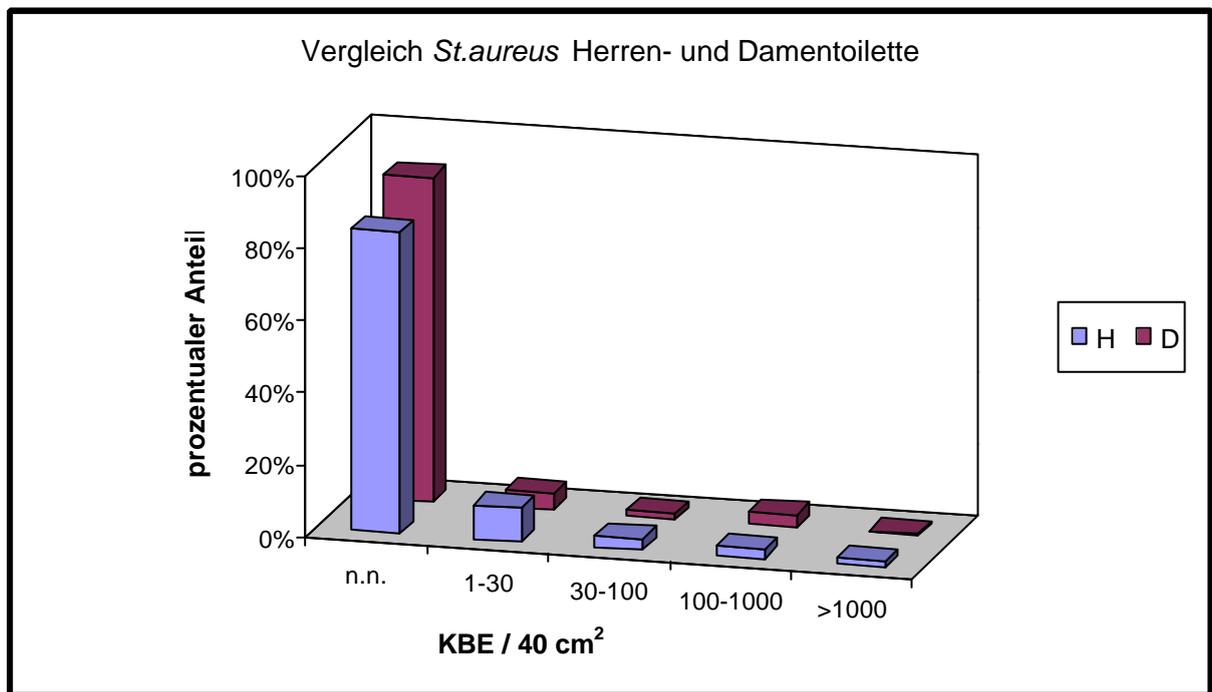


Abb.24: Vergleich *St. aureus* Herren- und Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

## Enterobacteriaceae

In durchschnittlich ca. 27% der Proben konnten Enterobacteriaceae nachgewiesen werden (Tab.4), wobei auf der Herrentoilette mit 36% positiven Proben der größere Teil gefunden wurde. Nur ca. 3% der Proben wiesen eine Keimzahl von mehr als  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  untersuchter Fläche auf (Tab.9).

Tab.9: Vergleich Keimaufkommen Enterobacteriaceae Herren- und Damentoilette

KBE	n.n.	1 - 30	30 - 100	100 - 1000	> 1000
Herren	64,00%	7,40%	13,80%	11,30%	3,50%
Damen	79,30%	3,40%	9,00%	5,30%	3,00%

Auf der Herrentoilette konnten mit 70% der Proben der Toilettenbrille, 66% der Proben des Urinals sowie 55% der Proben des Bodens vor der Toilette die meisten Proben als Enterobacteriaceae positiv nachgewiesen werden, wobei auch hier nur fünf der 31 positiven Proben den Wert von  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  überschritten. Der höchste Wert lag auf der Toilettenbrille bei  $1,2 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  in Form von *Enterobacter cloacae*. Am wenigsten positive Proben wurden an den Klinken mit 16,7% bzw. 17,9% sowie am Spülknopf mit 20% gefunden.

Auf den Damentoiletten wurden Enterobacteriaceae ebenfalls am Boden mit 46,7% positiven Proben, am Wasserhahn mit 38,5% und auch auf der Toilettenbrille mit 33,3% entdeckt. An den Flächen der Toilettentür wurden in keiner der Proben Enterobacteriaceae gefunden. Am Handtrockner und am Seifenspender lagen hier die Werte mit 10% am niedrigsten.

In 32 Proben, d.h. in 6% der Proben wurden *Escherichia coli* nachgewiesen (Tab.6). 28% davon wurden auf der Toilettenbrille gefunden, wo mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auch der höchste Wert nachzuweisen war. 15,6% der pos. Proben waren weiterhin am Waschbecken zu finden, sowie weitere je 9% am Urinal und auf dem Fußboden. Auf allen Probenahmestellen war *E. coli* zumindest einmal nachzuweisen.

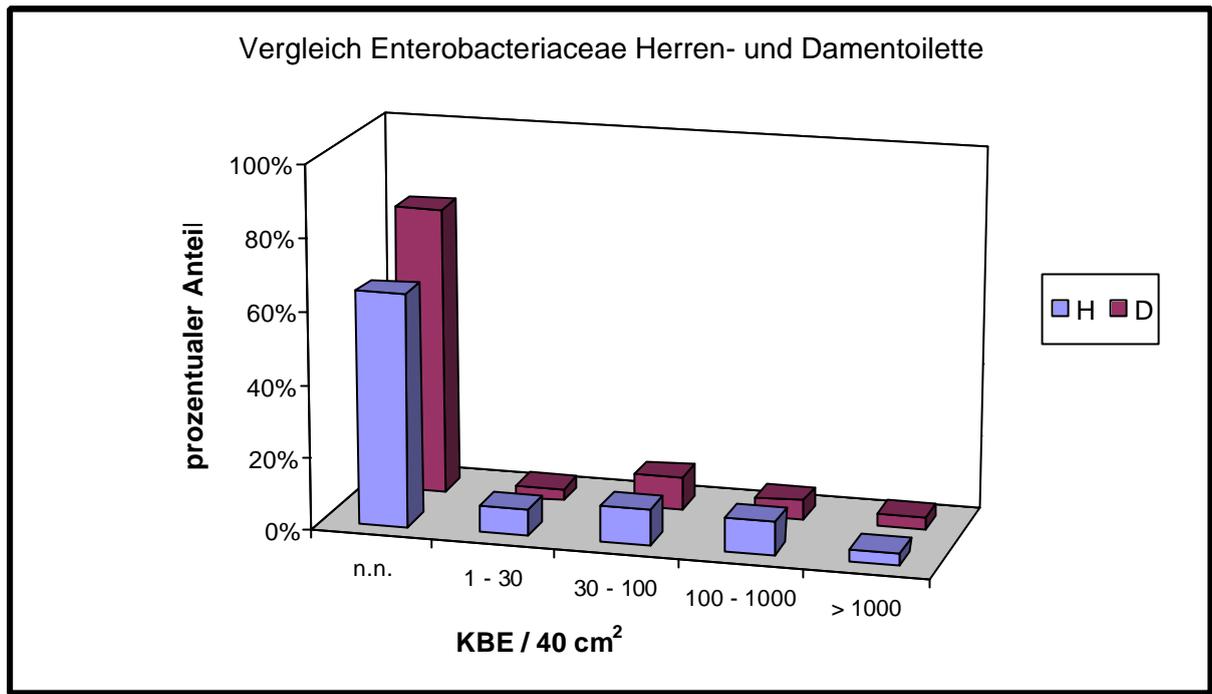


Abb.25: Vergleich Enterobacteriaceae Herren- und Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### Fäkalstreptokokken

Durchschnittlich in 21% der Proben wurden Fäkalstreptokokken isoliert. Davon vielen 19,6% in den Bereich zwischen  $1 \times 10^0$  und  $1 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup>. Nur 1,9% der ausgezählten Proben überschritten diesen Wert.

Tab.10: Vergleich Keimaufkommen Fäkalstreptokokken Herren- und Damentoilette

	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	75,20%	8,60%	7,60%	6,10%	2,50%
Damen	82,70%	12,40%	1,90%	2,60%	0,40%

Sowohl auf der Herrentoilette (60%) als auch auf der Damentoilette (46,7%) wurden am Boden vor der Toilette am häufigsten Fäkalstreptokokken gefunden (Tab.5). Im Männerbereich folgt mit 56,7% das Urinal mit der zweithäufigsten Menge an positiven Proben, bei den Frauen ist dies die Toilettenbrille mit 30%. Die quantitativ wenigsten positiven Proben wurden an der Türklinke zum Eingang (Herren 17,9%, Damen 0%), an der

Fläche der Toilettentür (Herren 10,7%, Damen 10%), am Handtrockner (11,1% bzw. 10%) und an der Mülleimerklappe (13,3% und 11,1%) nachgewiesen.

Mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  sind die Keimmengen auf der Toilettenbrille und auf dem Fußboden, sowie mit ca.  $2 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf dem Urinal am höchsten. Im größten Teil der Proben waren jedoch nur  $6 \times 10^0$  bis  $1 \times 10^1$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  zu finden.

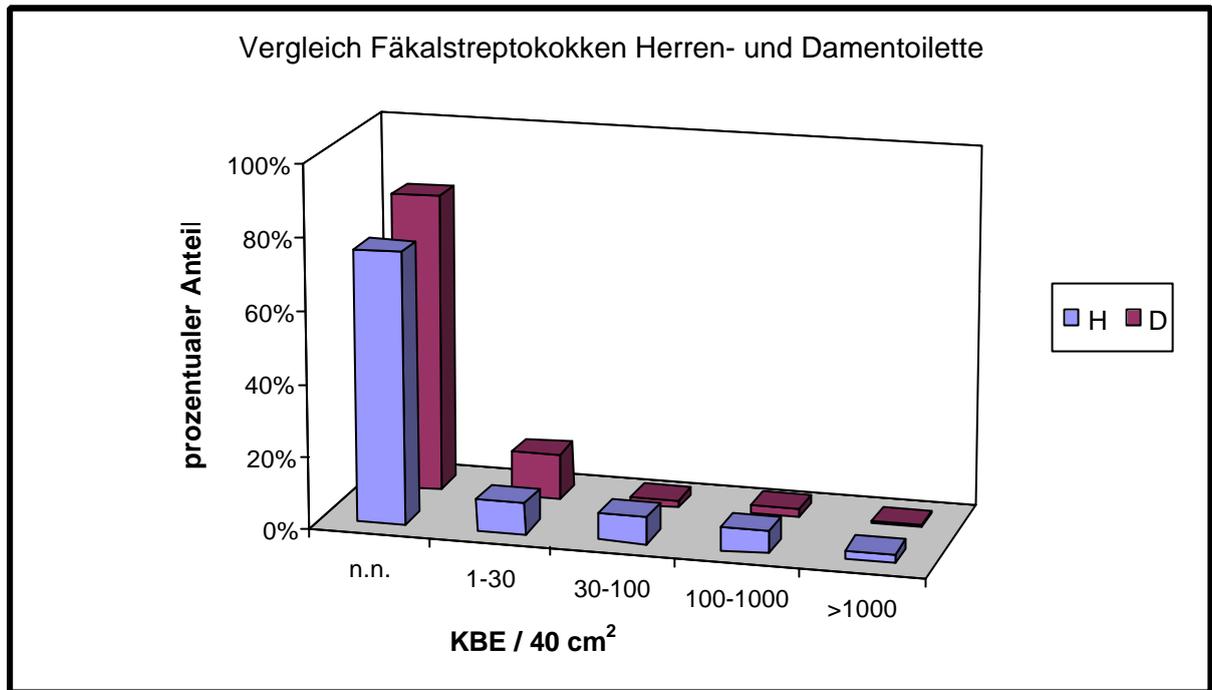


Abb.26: Vergleich Fäkalstreptokokken Herren- und Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Aeromonas und Pseudomonas spp.

In durchschnittlich 14% der Proben wurden *Aeromonas spp.* oder *Pseudomonas spp.* gefunden (Tab.5). 87,3% der positiv untersuchten Oberflächen entfallen dabei auf die Pseudomonaden. Auf der Herrentoilette waren 17,3% der Proben positiv, auf der Damentoilette waren es nur 11,7% (Tab.11).

Tab.11: Vergleich Keimaufkommen *Pseudomonas spp.* und *Aeromonas spp.* Herren- und Damentoilette

	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	82,70%	2,50%	1,80%	5,40%	7,60%
Damen	88,30%	2,60%	1,90%	4,20%	3,00%

Die Spanne der erfolgreich isolierten *Pseudomonaden* und *Aeromonas spp.* reicht im Männerbereich von 0% an der Mülleimerklappe und an der Klinke der Kabinentür bis 37,5% positive Ergebnisse am Wasserhahn. Auf der Damentoilette schwankt das Ergebnis zwischen 3,3% an der Klinke der Eingangstür bis 23,3% auf dem Toilettenboden. An den übrigen Entnahmestellen wurden durchschnittlich je Oberfläche auf der Herrentoilette in 17,1% bzw. auf der Damentoilette in 11,1% der Proben *Aeromonas spp.* oder *Pseudomonas spp.* entdeckt.

Die quantitativ höchsten Keimzahlen waren auf der Toilettenbrille und dem Spülknopf mit  $6 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ , dem Boden vor der Toilette, dem Urinal und dem Waschbecken mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ , mit  $1,5 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  an der Fläche der Toilettentür und dem Wasserhahn mit  $1,8 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  der Herrentoiletten zu finden.

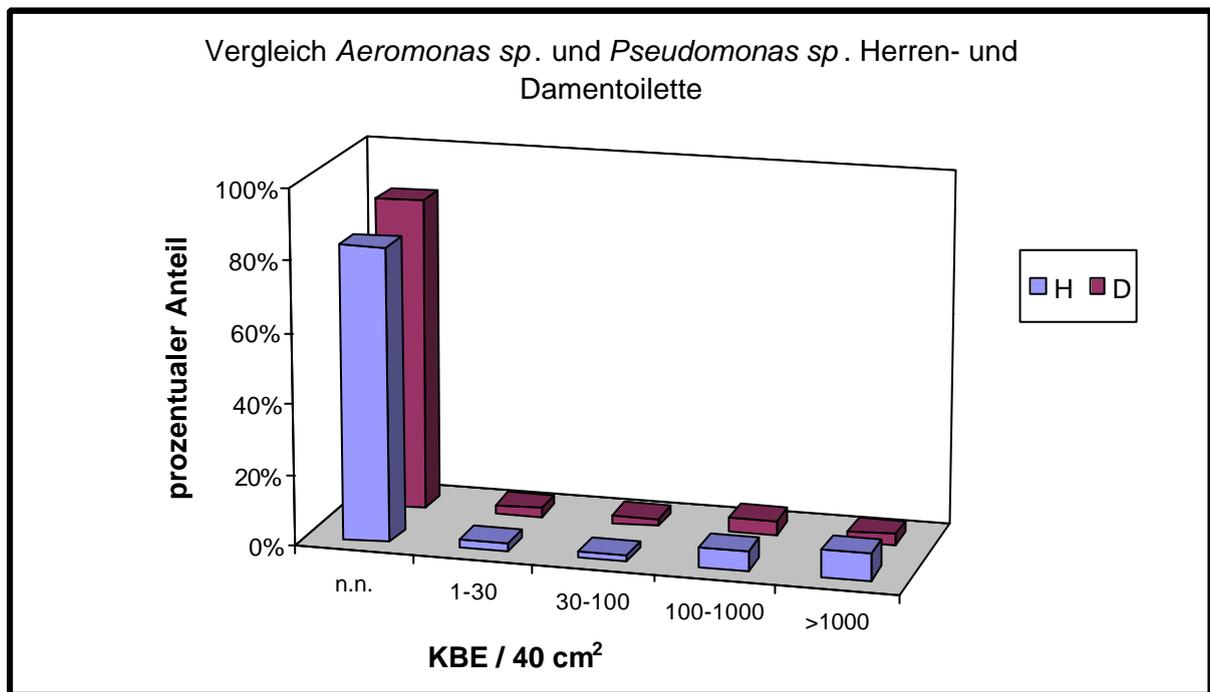


Abb.27: Vergleich *Pseudomonas spp.* und *Aeromonas spp.* Herren- und Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### Candida spp.

*Candida spp.* wurden in durchschnittlich 56% der Proben gefunden (Tab.5), wobei die Werte sich bei Herren- und Damentoiletten nur in geringem Maße unterscheiden. Auffällig ist nur, dass auf der Herrentoilette mit 10,8% mehr als doppelt soviel Proben über  $10^3$  Keime pro  $40 \text{ cm}^2$  aufwiesen als auf der Damentoilette (Tab.12).

Tab.12: Vergleich Keimaufkommen *Candida spp.* Herren- und Damentoilette

	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	41,00%	21,20%	10,40%	16,60%	10,80%
Damen	44,00%	24,70%	8,90%	17,50%	4,90%

Die Lokalisationen, wo diese hohen Keimzahlen gefunden wurden, waren in beiden Bereichen der Boden vor der Toilette, wo 33% (Herren), bzw. 21% (Damen) der positiven Proben diese Werte zeigten und die Toilettenbrille mit 21% bzw. 18,8%. Im Herrenbereich kommt hier noch das Waschbecken mit 30% als höchste Keimzahl und das Urinal mit 25% hinzu.

Die höchste Anzahl an positiven Proben waren im Herrenbereich mit 95% auf der Toilettenbrille, mit 90% am Boden und mit 80% am Spülknopf zu finden. Bei den Damen überwog mit 80% der Boden, gefolgt vom Waschbecken mit 73,3% und dem Wasserhahn mit 72,2% positiv auf *Candida spp.* untersuchten Oberflächen.

Der Boden vor der Toilette wies sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen mit mehrfach über  $1 \times 10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  die höchsten Werte auf, gefolgt von der Toilettenbrille, wo auf der Damentoilette maximal  $3,6 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden wurden.

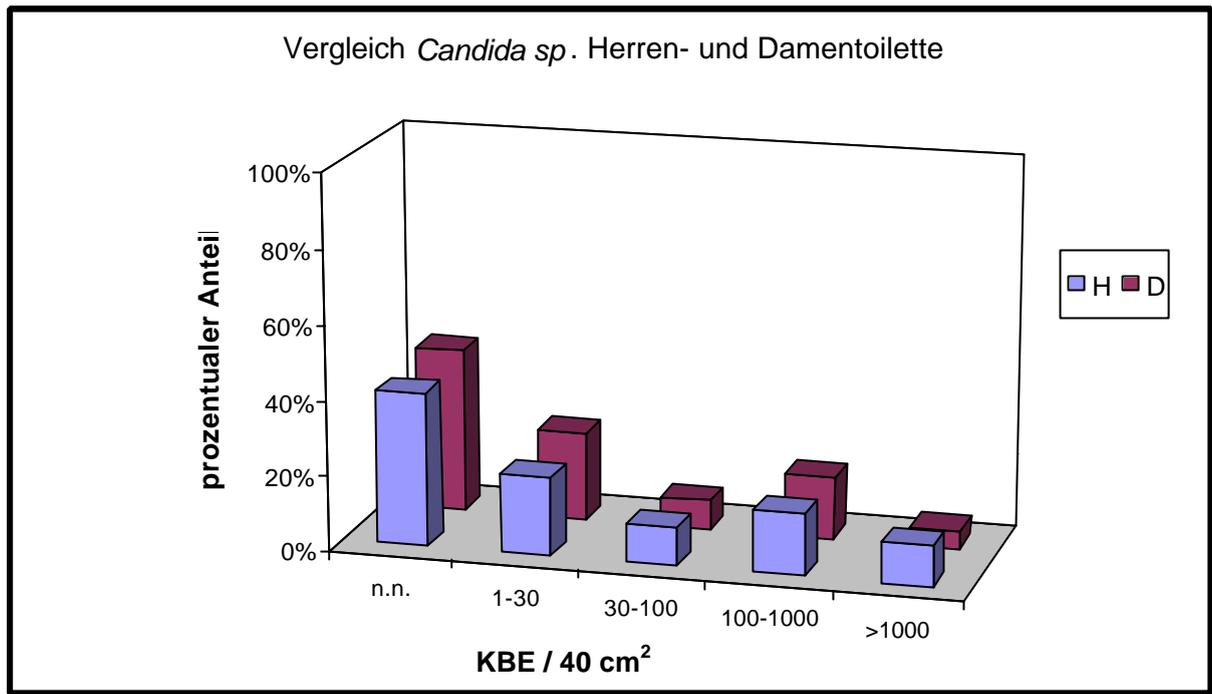


Abb.28: Vergleich *Candida spp.* Herren- und Damentoilette auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

*Corynebacterium spp.*

In 40 der Proben, d.h. in 6%, waren außerdem *Corynebacterium spp.* zu finden, wovon in 8 Proben *C. diphtheriae*, 3 davon am Waschbecken und 2 weitere am Spülknopf, in den übrigen *C. genitalium*, *C. propinquum* und *C. vaginae* nachzuweisen waren.

42,55% der positiven Proben wurden auf der Herrentoilette, 57,45% im Damenbereich isoliert. Die im Männerbereich mit je 3 positiven Proben am häufigsten kontaminierten Oberflächen waren die Toilettentür und der Wasserhahn. Im Frauenbereich waren auf der Toilettenbrille und am Waschbecken jeweils 4 mal *Corynebacterium spp.* zu finden.

Die höchsten Werte wurden auf der Toilettenbrille und am Spülknopf einer Damentoilette mit ca.  $1,1 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> erreicht.

Tab.13: Vergleich Keimaufkommen *Corynebacterium spp.* Herren- und Damentoilette

	n.n.	1-30	30-100	100-1000	>1000
Herren	93,90%	2,50%	1,40%	2,20%	0%
Damen	91,40%	3,70%	1,50%	2,60%	0,80%

## Weitere Keimflora

Weiterhin sei hier erwähnt, dass in 4 Proben *Pasteurella hämolytica* und in zwei Proben *Pasteurella multocida* gefunden wurden.

Die ersteren waren auf der Herrentoilette 2x auf dem Fußboden und je 1x auf dem Spülknopf und dem Waschbecken mit max.  $5 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  zu finden. *Pasteurella multocida* konnte im Frauenbereich ebenfalls auf dem Fußboden und am Seifenspender mit maximal  $9 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden werden.

### **3.2.1.4. Ergebnisse vor und nach der Reinigung**

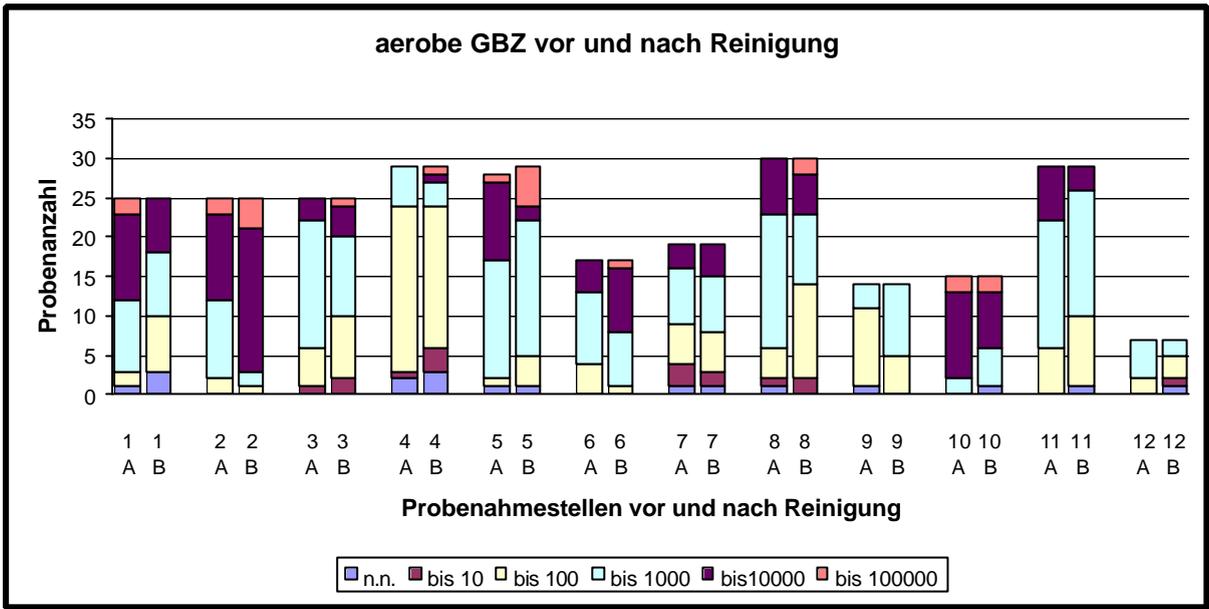
#### Gesamtbakterienzahl

Hier sollen die ermittelten Werte im Hinblick auf den Reinigungseffekt dargestellt werden.

Die prozentualen Ergebnisse der Gesamtbakterienzahlen in den Potenzbereichen  $10^0$  bis  $10^5$  schwanken nur um maximal 7,6%. Vor der Reinigung waren auf 2,7% der untersuchten Oberflächen keine Keime nachweisbar, nach der Reinigung auf 4,2%. In 2,3% (vor Reinigung) bzw. 3,8% (nach Reinigung) der Proben wurden nicht mehr als  $10^1$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden. 23,6% bzw. 27,8% wiesen weniger als  $10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf und im Bereich von  $10^2$  bis  $10^3$  waren nach der Reinigung in 35,7% der Proben und damit in 7,6% Proben weniger diese Keimmengen nachweisbar. Auch im Keimzahlbereich von bis zu  $10^4$  Keimen auf  $40 \text{ cm}^2$  ähnelten sich die gefundenen Keimmengen vor und nach der Reinigung mit 25,5% bzw. 22,4%. Keimzahlen von bis zu  $10^5$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  wurden nur in 2,7% der Proben vor der Reinigung und in 6,1% nach der Reinigung nachgewiesen (Abb.29).

Vor der Reinigung wurden die höchsten Werte mit ca.  $1,8 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf der Toilettenbrille, dem Fußboden und dem Waschbecken gefunden. Gefolgt vom Urinal mit max.  $1,5 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  und der Türklinke zum Eingang mit ca.  $1,2 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  als Höchstwert. Am Wasserhahn konnten bis zu ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen werden.

Auch nach der Reinigung konnten mehrfach Werte in diesen Bereichen gefunden werden. So waren auf dem Seifenspender bis zu ca.  $1,9 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  zu finden. Der Toilettenboden und das Waschbecken wiesen auch nach der Reinigung bis zu  $1,8 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf. Sogar die Fläche der Toilettentür zeigte einmal einen Maximalwert von ca.  $1,5 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ .



(Legende siehe Abb.12)

A - vor Reinigung

B – nach Reinigung

Abb.29: aerobe Gesamtbakterienzahl vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

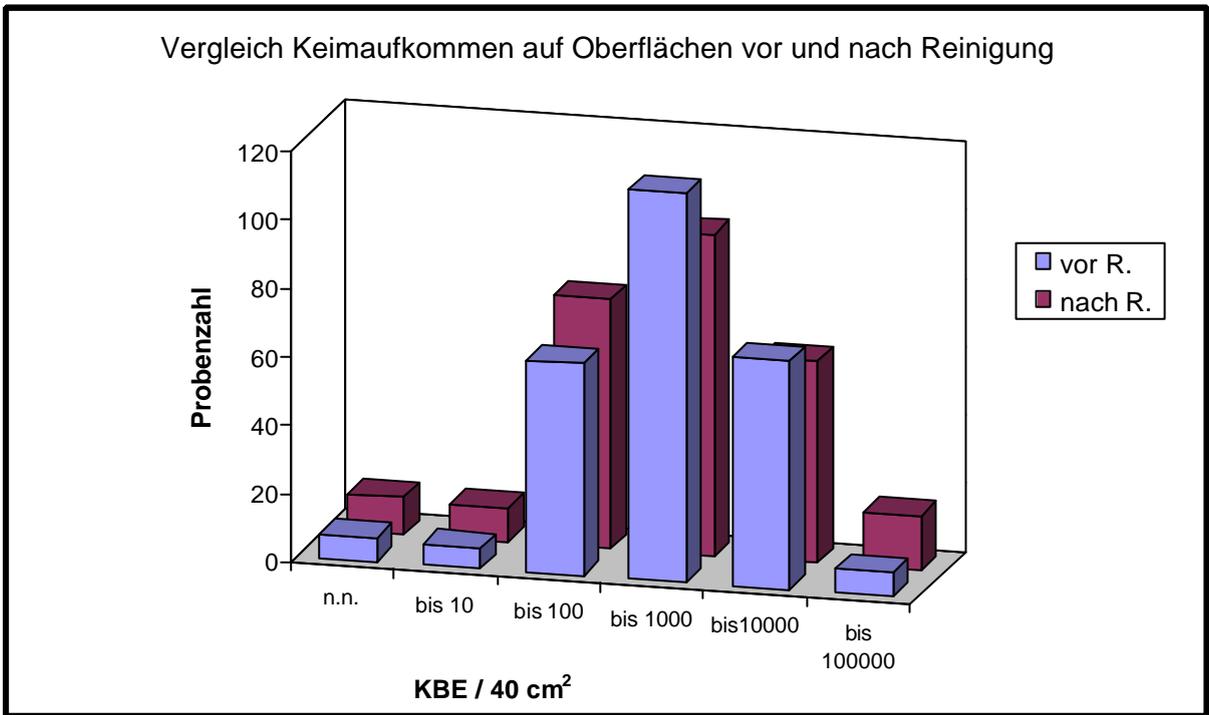


Abb.30: Vergleich Keimaufkommen vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Wird die Anzahl der weiter differenzierten Keime vor und nach der Reinigung miteinander verglichen (Tab.14), ist festzustellen, dass im Keimzahlbereich von bis zu  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  die Unterschiede relativ gering sind, im Bereich von über  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nach der Reinigung mit 22,4% der Proben fast doppelt so viele der untersuchten Oberflächen diesen Keimmengen aufwiesen.

Tab.14: Vergleich weiter differenzierter Keime vor und nach der Reinigung

KBE / $40 \text{ cm}^2$	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	25,50%	22,10%	16,00%	25,50%	11,40%
nach Reinigung	19,00%	24,30%	11,00%	23,20%	22,40%

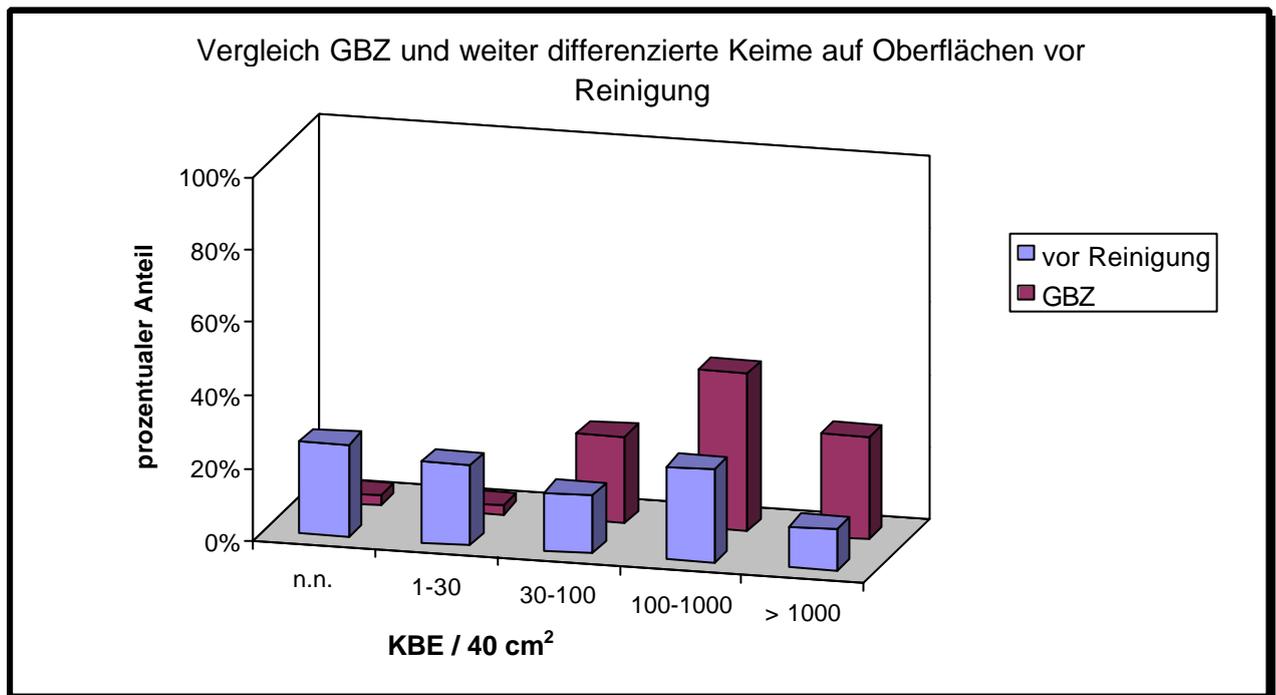


Abb.31: Vergleich GBZ und weiter differenzierte Keime vor der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

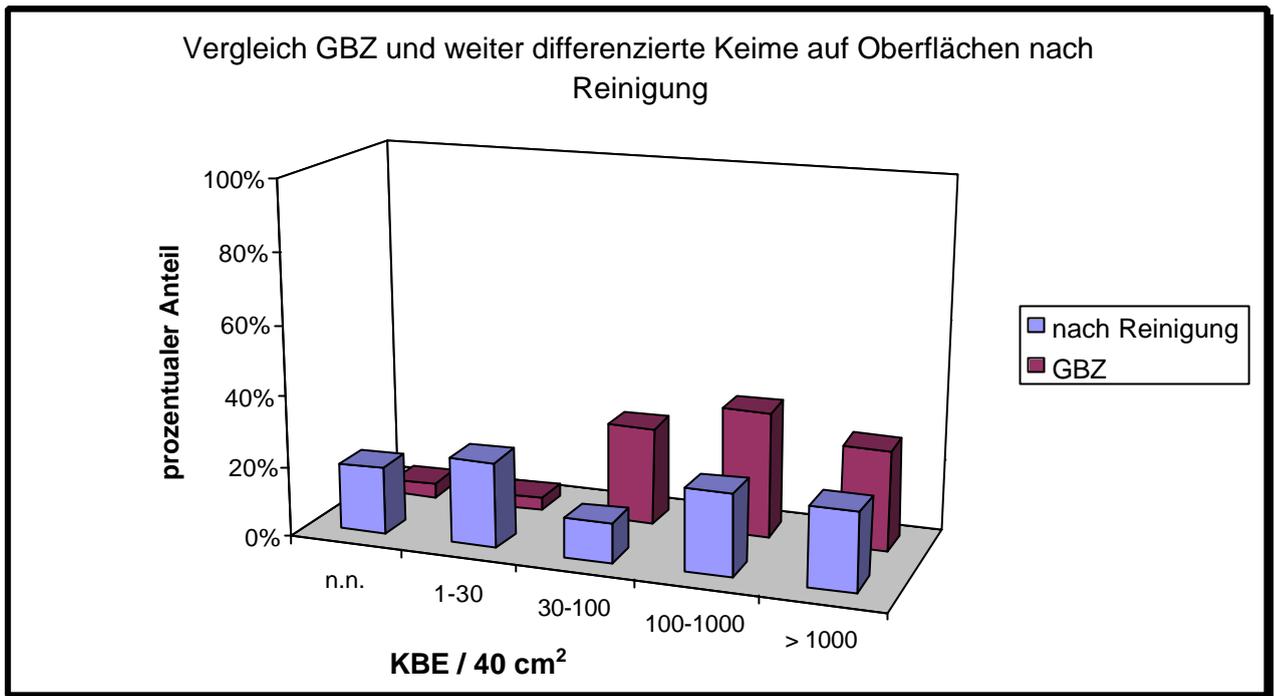


Abb.32: Vergleich GBZ und weiter differenzierte Keime nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

St. aureus

Vor der Reinigung war auf 13,3% und nach der Reinigung auf 11,4% der Oberflächen *St. aureus* nachzuweisen (Tab.15). Außer auf der Mülleimerklappe war dabei auf jedem Entnahmepunkt zumindest in einer Probe *St. aureus* zu finden.

Tab. 15: Vergleich Keimaufkommen *Staphylokokkus aureus* vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	86,70%	1,50%	5,70%	4,60%	1,50%
nach Reinigung	88,60%	3,00%	6,10%	1,90%	0,40%

Vor der Reinigung war am Wasserhahn mit 23,5% positiven Proben am häufigsten *St. aureus* zu finden, gefolgt vom Urinal mit 20% und dem Waschbecken sowie der Türklinke am Eingang mit jeweils 17,2%. Nach der Reinigung wurden am Handtrockner mit 21,1% am häufigsten positive Proben gefunden, während hier vor der Reinigung nur ca. 16% der Proben positiv waren. Im Allgemeinen wurden nach der Reinigung in weniger oder gleichviel

Proben *St. aureus* gefunden. Die Ausnahme bildet hier der Spülknopf mit 4% positiven Proben vor und 12% nach der Reinigung.

Die höchsten Werte wurden am Waschbecken und dem Urinal mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  und auf der Toilettenbrille mit ca.  $3 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden.

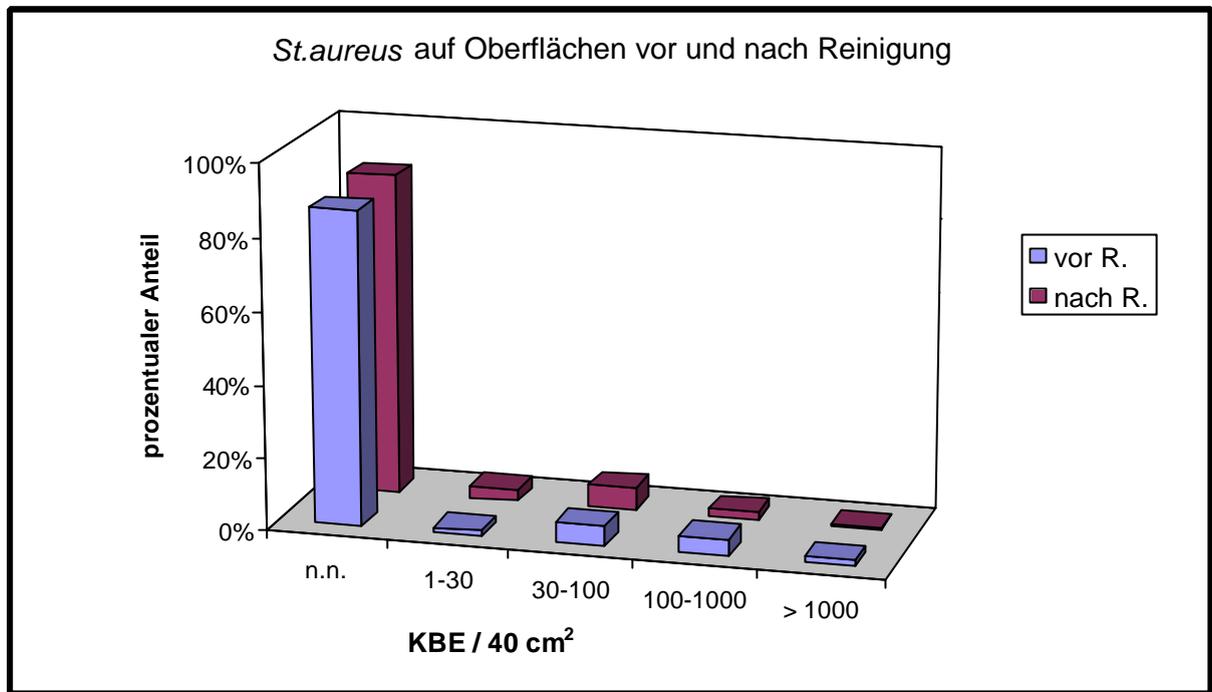


Abb.33: Vergleich *St. aureus* vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### Enterobacteriaceae

Mit 28,5% vor und 26,6% nach der Reinigung unterscheiden sich die Anzahl der positiven Proben an Enterobacteriaceae kaum (Tab. 16). Gleiches gilt für die quantitativen Vergleiche der einzelnen Bereiche (Abb.34). Vor der Reinigung waren auf der Toilettenbrille mit 56%, dem Boden mit 48%, dem Waschbecken mit 44,8% und dem Urinal mit 33,3% am häufigsten Enterobacteriaceae zu finden. Nach der Reinigung waren auf der Toilettenbrille immer noch 44% der Proben positiv. Auf dem Boden waren es ebenfalls wieder 48% , auf dem Urinal 40% und auf der Klinke der Kabine wurden nach der Reinigung in 42,9% der Proben Enterobacteriaceae gefunden, während es hier vor der Reinigung nur 28,6% waren.

Tab. 16: Vergleich Keimaufkommen *Enterobacteriaceae* vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	71,50%	8,80%	12,20%	5,30%	2,30%
nach Reinigung	73,40%	6,00%	11,80%	6,80%	2,30%

*Shigella spp.* wurden auf einer Toilette an vier Stellen vor und auf der Toilettenbrille auch noch nach der Reinigung mit max.  $9 \times 10^1$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> gefunden.

In 17 Proben, d.h. in 6,5%, wurden vor den Säuberungsmaßnahmen *Escherichia coli* nachgewiesen, danach waren sie nur noch in 13 Proben, d.h. in 4,9% zu isolieren. Mit 5 bzw. 4 positiven Proben wurden diese Keime am häufigsten auf der Toilettenbrille und dem Waschbecken gefunden, wobei die Höchstwerte mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> auf der Toilettenbrille und  $2,3 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> am Waschbecken vor der Reinigung erreicht wurden.

*Klebsiella spp.* konnten zweimal vor und neunmal nach der Reinigung isoliert werden. Auf der Toilettenbrille und dem Boden wurden sie erst nach der Reinigung in 2 bzw. 3 Fällen nachgewiesen. Dabei wurden auf dem Boden Mengen von bis zu ca.  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> erreicht. Der gleiche Wert wurde einmal auf dem Urinal ebenfalls erst nach der Reinigung nachgewiesen.

*Enterobacter cloacae* wurde vor der Reinigung in zwei und nach der Reinigung in einer Probe gefunden. Wobei nur eine Probe auf der Toilettenbrille vor der Reinigung mit  $1,2 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> einen hohen Wert erreichte.

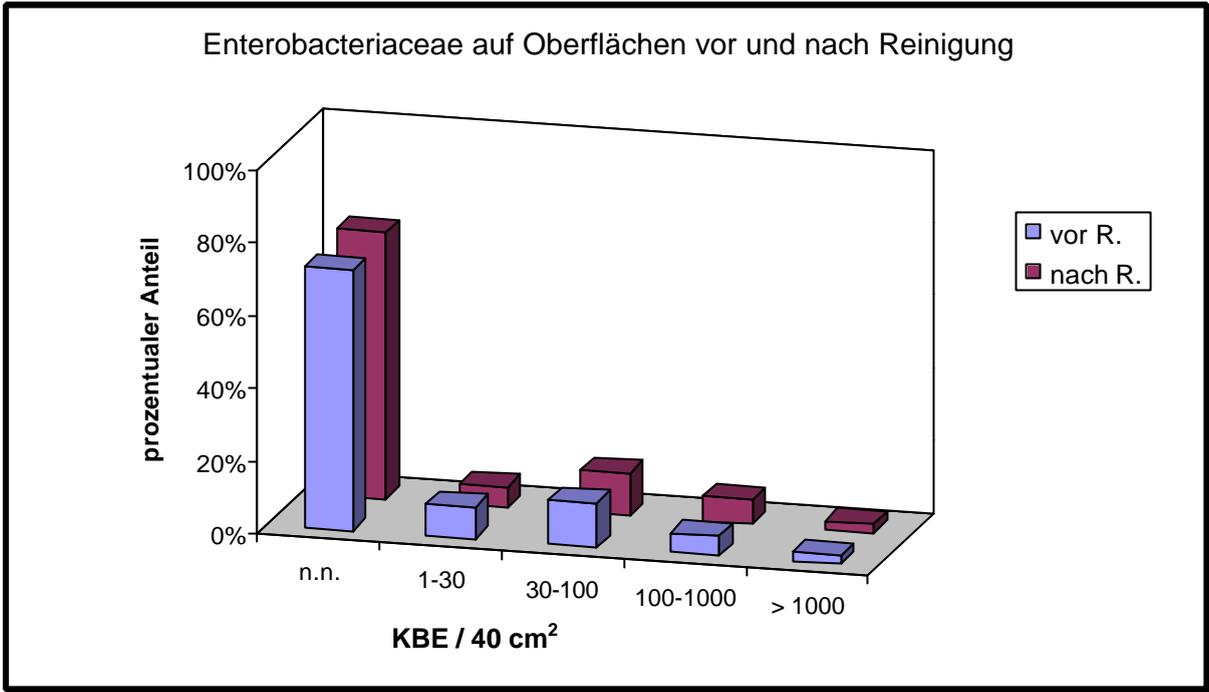


Abb.34: Vergleich Enterobacteriaceae vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Fäkalstreptokokken

Wie auch schon bei den Enterobacteriaceae bestehen bei den Fäkalstreptokokken nur geringe Unterschiede zwischen den positiven Proben vor und nach der Reinigung sowie auch bei Vergleich der Keimmengen je positive Probe (Tab 17). Vor der Reinigung waren 23,2% und nach der Reinigung 21,7% der Proben positiv.

Tab.17: Vergleich Keimaufkommen Fäkalstreptokokken vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	76,80%	7,60%	9,90%	3,80%	1,90%
nach Reinigung	78,30%	6,00%	9,10%	5,30%	1,10%

Mit 66,7% wurden sie vor der Reinigung am häufigsten am Urinal und mit 52% auf der Toilettenbrille gefunden. Gefolgt vom Toilettenboden mit 44% und der Mülleimerklappe mit 23,4% positiven Proben vor der Reinigung. Nach der Reinigung wurden auf dem

Toilettenboden mit 56% die meisten positiven Proben nachgewiesen. Am Urinal waren es 46,7% und am Waschbecken 31%.

Die größten Keimmengen mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  wurden vor der Reinigung einmal auf der Toilettenbrille und nach der Reinigung zweimal auf dem Toilettenboden gefunden. Die weiteren ermittelten Keimzahlen lagen mit  $2 \times 10^3$  und  $1,5 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf dem Urinal sowie ca.  $1,2 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  auf Toilettenbrille deutlich darunter.

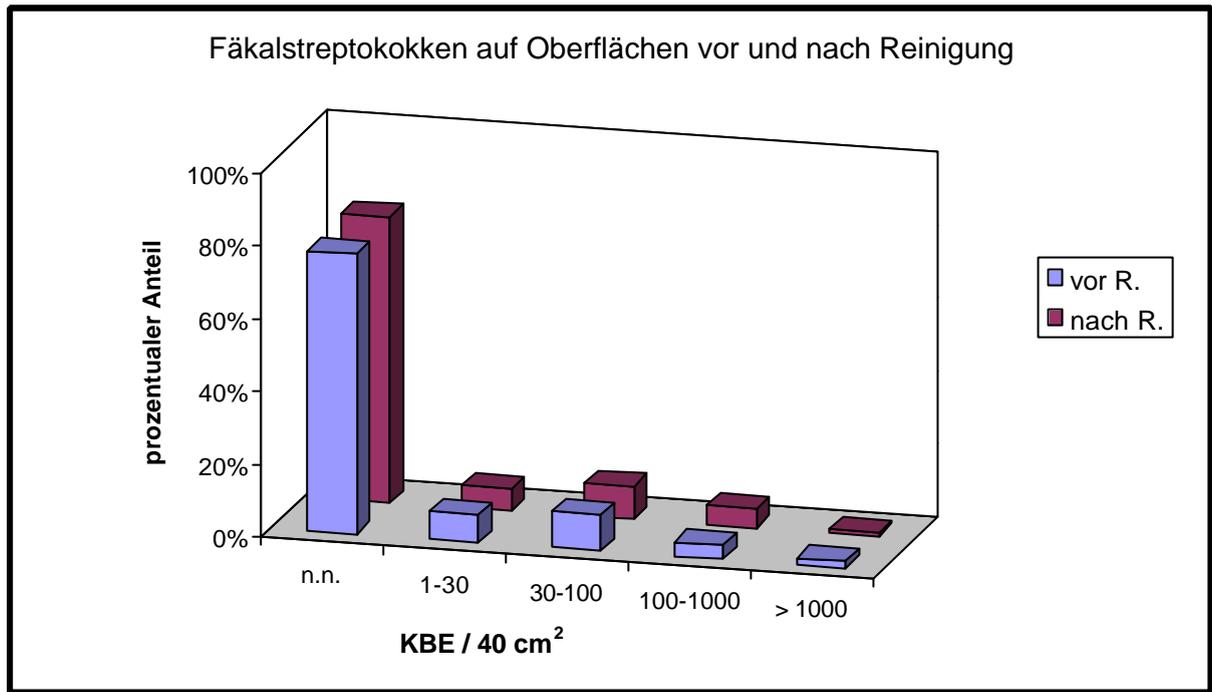


Abb.35: Vergleich Fäkalstreptokokken vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

Aeromonas und Pseudomonas spp.

In fast gleichem Maße wurden vor und nach der Reinigung *Aeromonas spp.* oder *Pseudomonas spp.* von den Oberflächen isoliert. Im Gegensatz zu den bisherigen erläuterten Keimen steigt hier die Anzahl an positiven Proben in den höheren Bereichen nach der Reinigung an (Tab.18). Vor der Reinigung waren 23,7% und nach der Reinigung 26,7% der Proben positiv.

Tab.18: Vergleich Keimauftreten *Aeromonas* und *Pseudomonas* vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	86,30%	1,55%	4,90%	3,00%	4,20%
nach Reinigung	83,30%	0,00%	2,30%	5,30%	8,80%

Vor der Reinigung waren sie am Urinal in 26,7% der Proben, auf der Toilettenbrille in 20% und am Waschbecken und Wasserhahn mit ca. 17% nachzuweisen. Nach der Reinigung wurden nur noch in 16% der Proben der Toilettenbrille *Aeromonas spp.* oder *Pseudomonas spp.* gefunden, während auf dem Fußboden im Gegensatz zu den Untersuchungen vor der Reinigung (16%), danach 44% der Proben positiv waren. Auch am Wasserhahn waren es nach der Reinigung mit 29,4% fast 12% mehr positive Proben.

Werte von über  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> wurden dabei ausschließlich nach der Reinigung gezählt. *Aeromonas spp.* wurden fast ausnahmslos nach der Reinigung gefunden und wiesen Werte von bis zu ca.  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> auf dem Boden vor der Toilette und am Spülknopf auf. Pseudomonaden wurden bereits vor der Reinigung am Urinal mit ca.  $1 \times 10^4$ , am Waschbecken mit  $9 \times 10^3$  und am Spülknopf mit bis zu  $2,7 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> isoliert. Nach der Reinigung erhöhten sich diese Werte noch mit bis zu  $1,8 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> am Waschbecken, ca.  $1,5 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> an der Fläche der Toilettentür und ca.  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> auf dem Toilettenboden und dem Wasserhahn.

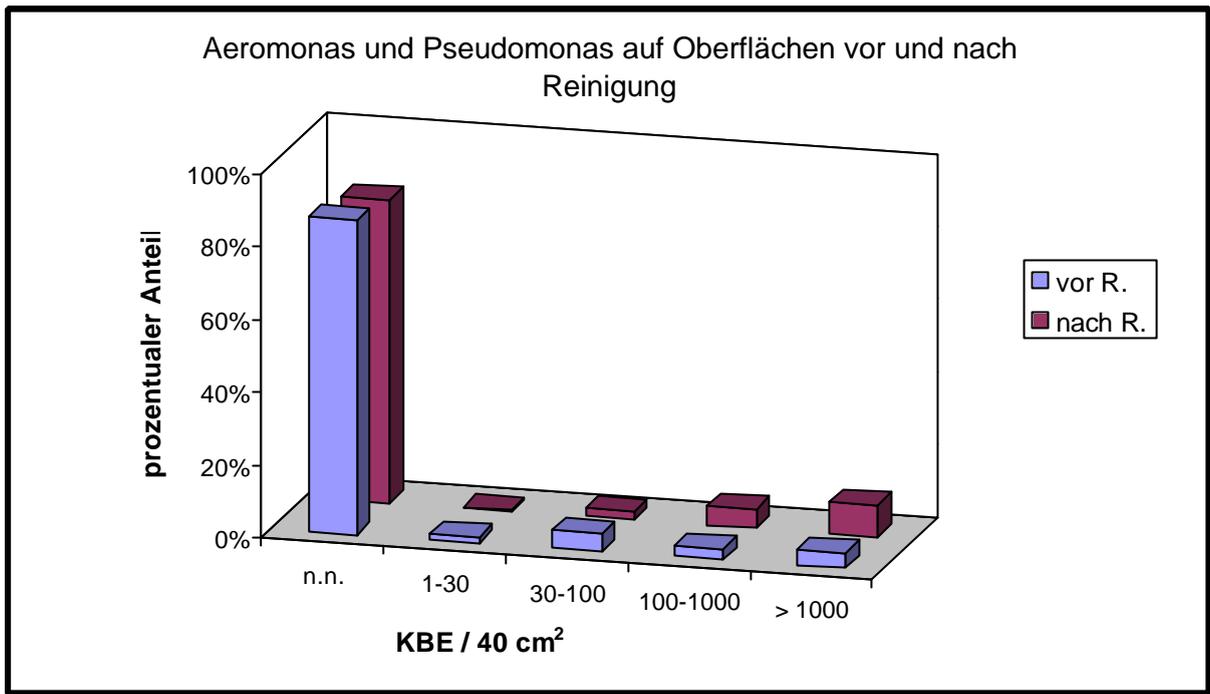


Abb.36: Vergleich *Aeromonas* und *Pseudomonas* vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

*Candida spp.*

Vor der Reinigung waren in 51,3% der Proben *Candida spp.* zu finden, nach der Reinigung waren es sogar 70,3%. Insbesondere Keimzahlen von über  $10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> waren vor allem nach der Reinigung zu finden (Tab.19). Vor der Reinigung wurden in 84% der Proben des Toilettenbodens, 80% des Urinals, 69% des Wasserhahns, des Seifenspenders und der Klinke der Kabine sowie in 65,5% der Proben des Waschbeckens *Candidas spp.* nachgewiesen. Nach der Reinigung waren auf 11 der 12 untersuchten Oberflächen mehr positive Proben zu finden. Nur an der Klinke der Kabine verminderte sich dieser Wert um fast 26%. Auf der Toilettenbrille stieg die Anzahl positiver Proben um 36%, am Wasserhahn stieg der Wert um 26% und an der Klinke der Eingangstür um 24,1%.

Tab.19: Vergleich Keimaufkommen *Candida spp.* vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	48,70%	5,90%	28,10%	12,60%	4,20%
nach Reinigung	29,70%	9,00%	21,70%	24,30%	15,20%

Die quantitativ höchsten Werte fanden sich vor der Reinigung mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  am Waschbecken, mit  $6 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  am Handtrockner, dem Urinal und der Klinke zur Eingangstür. Die größte Menge an *Candida spp.* nach der Reinigung wurde am Wasserhahn mit ca.  $1,2 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen. Gefolgt vom Toilettenboden und dem Urinal mit ca.  $1 \times 10^4$  sowie der Toilettenbrille mit  $3 \times 10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ .

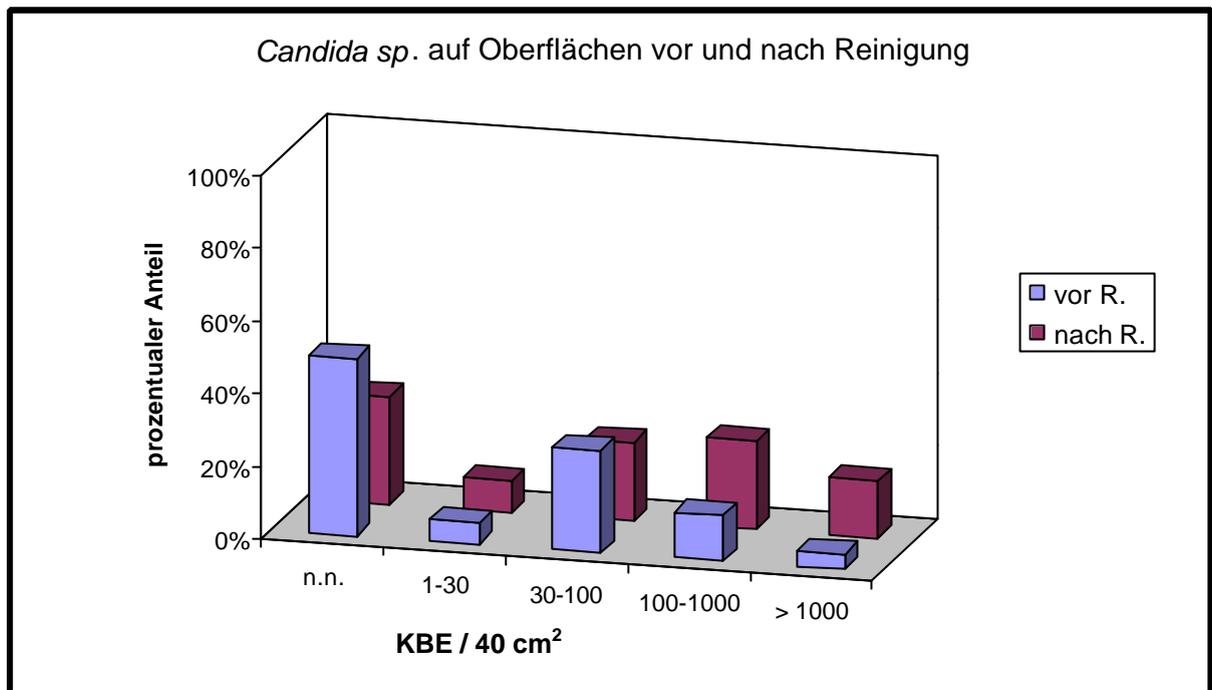


Abb.37: Vergleich *Candida spp.* vor und nach der Reinigung auf Oberflächen städtischer öffentlicher Toiletten

### *Corynebacterium spp.*

In 22 der Proben, d.h. in 9,7%, waren vor der Reinigung außerdem *Corynebacterium spp.* zu finden (Tab.20), wovon in 5 Proben *C.diphtheriae*, 2 davon am Waschbecken, eine am Spülknopf, am Wasserhahn und an der Fläche der Toilettentür, nachzuweisen waren. In den übrigen Proben wurden *C. genitalium*, *C. propinquum* und *C. vaginale* isoliert.

Tab.20: Vergleich Keimaufkommen *Corynebacterium spp.* vor und nach der Reinigung

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	1-30	30-100	100-1000	> 1000
vor Reinigung	91,30%	1,10%	3,00%	3,80%	0,40%
nach Reinigung	93,20%	1,10%	4,90%	0,80%	0,00%

Insgesamt waren mit jeweils drei positiven Proben *Corynebakterien* am häufigsten auf dem Spülknopf und am Waschbecken zu finden. Nach der Reinigung waren immernoch auf 18 Oberflächen (6,8%) *Corynebacterium spp.* nachzuweisen. *C.diphtheriae* wurden von drei Oberflächen (Spülknopf, Fläche Tür, Wasserhahn) isoliert, am häufigsten mit jeweils drei positiven Proben hier auf der Toilettenbrille und am Wasserhahn.

Die höchsten Werte wurden vor der Reinigung mit ca.  $1,1 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> auf der Toilettenbrille und am Spülknopf und nach der Reinigung mit jeweils  $3 \times 10^2$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> am Urinal und der Klinke zur Eingangstür erreicht.

#### Weitere Keimflora

Weiterhin sei hier erwähnt, dass in 2 Proben vor und in zwei Proben nach der Reinigung *Pasteurella hämolytica* und in zwei Proben nach der Reinigung *Pasteurella multocida* gefunden wurden.

Die ersteren waren vor der Reinigung 1x auf dem Fußboden und 1x auf dem Spülknopf und nach der Reinigung ebenfalls auf dem Fußboden und dem Waschbecken mit max.  $5 \times 10^2$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> zu finden. *Past.multocida* konnte nur nach der Reinigung ebenfalls auf dem Fußboden und am Seifenspender mit maximal  $9 \times 10^2$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> gefunden werden.

### **3.2.2. Ergebnisse der Untersuchung des Wischlappens der städtischen Toiletten**

Die Ergebnisse dieser Untersuchung beschränken sich auf die qualitative Keimbestimmung. In den Lösungen von zwei der drei Lappen wurden hohe Mengen an *Aeromonas spp.* und Fäkalstreptokokken festgestellt. In ebenfalls zwei Lösungen wurden zusätzlich hohe Mengen an Staphylokokken gefunden.

### 3.2.3. Ergebnisse der Untersuchung selbstreinigender Toiletten

Die aerobe Gesamtbakterienzahl (GBZ) schwankt auch auf den Oberflächen der selbstreinigenden Toiletten sehr stark sowohl zwischen den Entnahmepunkten als auch innerhalb dieser. Es wurden Werte zwischen 0 und  $10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  gefunden. Das geringste Keimniveau wurde dabei auf den Entnahmepunkten 1, 6, 8, 9 und 10 festgestellt, während die Probenahmestellen 2, 4 und 5 am stärksten kontaminiert waren (Abb.38).

In 33,3% der Proben der Toilettenbrille waren keine Keime nachzuweisen, im Waschbereich waren es sogar 50% der Proben. Die übrigen Keimzahlen auf der Toilettenbrille schwanken dabei zwischen  $10^2$  und  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ , wogegen die anderen 50% der Proben des Waschbereiches alle über  $10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  aufwiesen.

Der Boden vor der Toilette und der Wasserhahn waren die einzigen Entnahmestellen auf denen in jeder Probe Keime gefunden wurden und insbesondere auf dem Boden in 33,3% mehr als  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachzuweisen waren. Auf dem Toilettenboden nach der Reinigung wurden in zwei Proben, d.h. in 22,2%, mehr als  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  isoliert.

58,6% der gefundenen Keimzahlen bewegen sich im Bereich von  $10^0$  bis  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ , hier seien insbesondere die Entnahmepunkte 1, 6, 7, 8, 9 und 10 erwähnt.

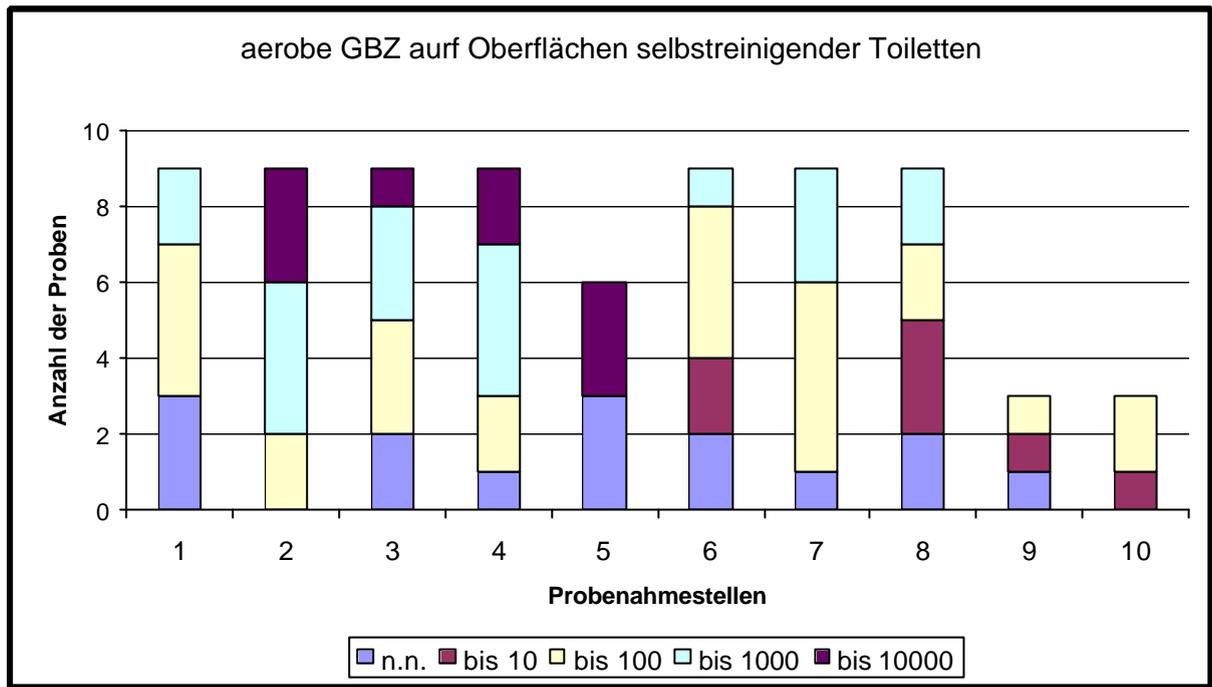


Abb.38: aerobe GBZ auf Oberflächen selbstreinigender Toiletten

1	Toilettenbrille	6	Türklinke oben
2	Boden vor Toilette	7	Türklinke unten
3	Toilettenbrille nach Reinigung	8	Mülleimerklappe
4	Boden vor Toilette nach Reinigung	9	Haltegriff
5	Waschbereich	10	Wasserhahn

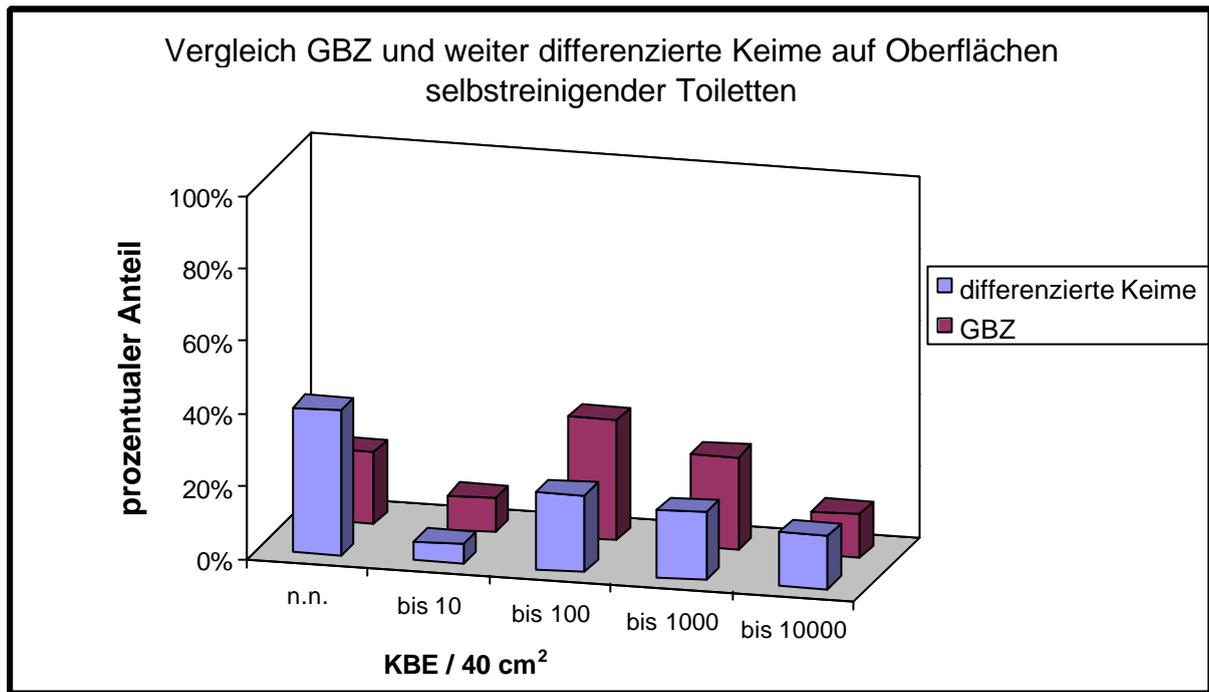
### 3.2.3.1. Häufigkeitsverteilung weiter differenzierter Keime

Gesucht wurde durch weitere Ausdifferenzierung der auf den verschiedenen Nährböden gewachsenen Kolonien nach *St. aureus*, *Enterobacteriaceae*, Fäkalstreptokokken, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Candida spp.* und Corynebakterien herangezogen.

In 60% der Proben wurde eine der oben erwähnten Spezies oder ein der entsprechenden Stämme zuzuordnender Keim gefunden. Aber nur in 14,7% der Proben überschritten sie einen Wert von  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ . In den übrigen 45,3% bewegen sich die Werte zwischen  $10^0$  und  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  (Tab.21). Auf dem Boden vor der Reinigung wurden mit 44,4% und nach der Reinigung mit 33,3% am häufigsten Keimzahlen von über  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen.

Tab.21: Vergleich weiter differenzierter Keime mit der aeroben Gesamtbakterienzahl

KBE / 40 cm <sup>2</sup>	n.n.	bis 10	bis 100	bis 1000	bis 10000
weiter differenzierte Keime	40%	5,30%	21,30%	18,70%	14,70%
GKZ	20%	9,30%	33,30%	25,30%	12%



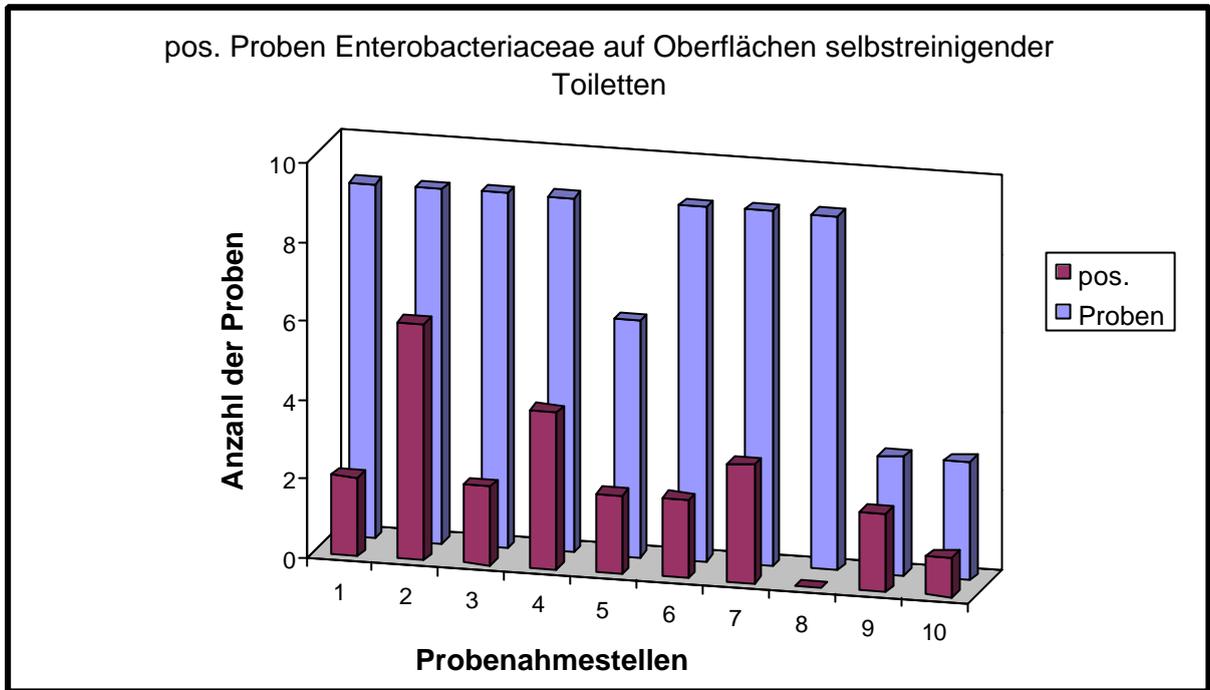
(Legende siehe Abb. 38)

Abb.39: Vergleich der aeroben Gesamtbakterienzahl mit dem Anteil weiter differenzierter Keime

### 3.2.3.2. Häufigkeitsverteilung von Enterobacteriaceae

Außer auf der Mülleimerklappe konnten auf allen Entnahmepunkten in mindestens einem Fall Enterobacteriaceae gefunden werden (Abb.40). 32% der Proben waren positiv, jedoch nur 10,6% überschritten Werte von  $10^2$  KBE / 40 cm<sup>2</sup>. Auf dem Boden vor und nach der Reinigung wurden mit 66,6% bzw. 44,4% positiver Proben am häufigsten Enterobacteriaceae nachgewiesen. Die quantitativ höchsten Werte wurden mit ca.  $1 \times 10^4$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> am Waschbereich und mit jeweils ca.  $2 \times 10^3$  KBE / 40 cm<sup>2</sup> auf der Toilettenbrille vor und nach der Reinigung sowie auf dem Toilettenboden isoliert.

In keiner der Proben wurden dabei Salmonellen oder andere obligat pathogene Enterobacteriaceae nachgewiesen. Auch *Escherichia coli* wurde nicht isoliert. Im allgemeinen fanden sich *Enterobacter spp.* auf den Nährböden wieder.

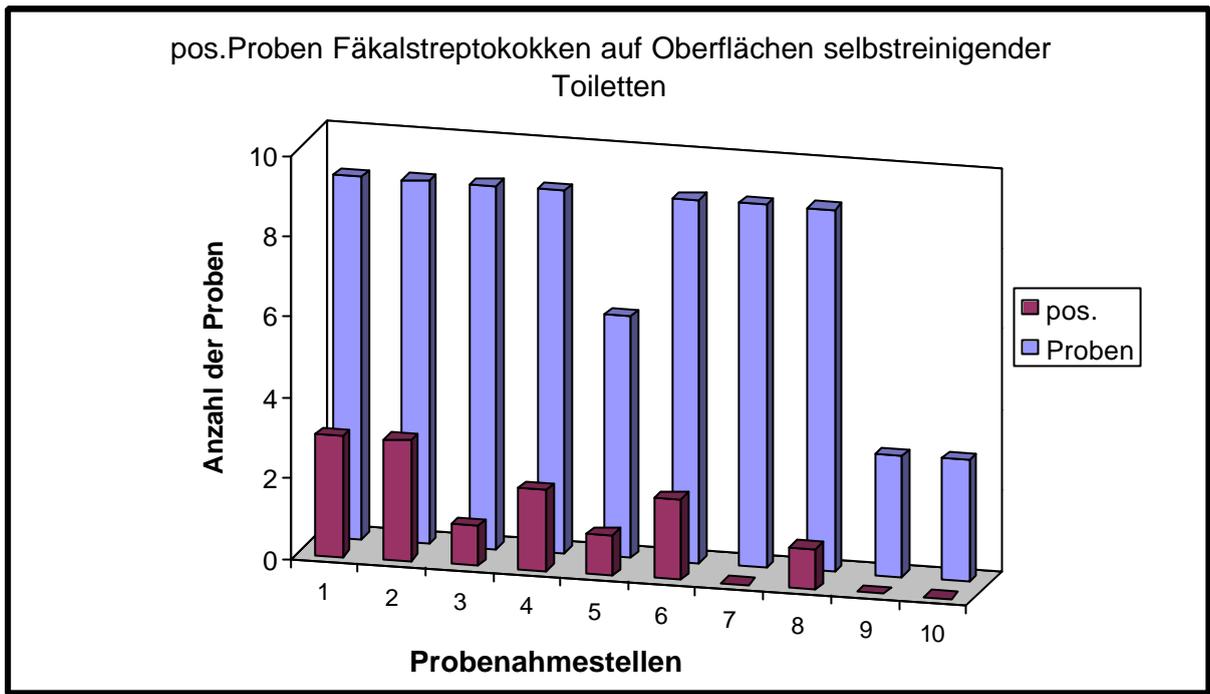


(Legende siehe Abb.38)

Abb.40: Vorkommen von Enterobacteriaceae auf Oberflächen selbstreinigender Toiletten

### 3.2.3.3. Häufigkeitsverteilung von Fäkalstreptokokken

Fäkalstreptokokken fanden sich in 17,3% der Proben. An der unteren Türklinke, dem Haltegriff und dem Wasserhahn konnten sie nicht nachgewiesen werden (Abb.41). Mit 33,3% positiven Proben fanden sich diese Keime am häufigsten auf der Toilettenbrille und dem Boden vor der Reinigung, gefolgt von der oberen Türklinke und dem Boden nach der Reinigung mit 22,2%. Insgesamt überschritten nur 6 Proben, d.h. 8% die Grenze von  $10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ . Der größte Wert konnte auf der Toilettenbrille nach der Reinigung mit  $2,0 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  nachgewiesen werden. Alle anderen Keimmengen lagen darunter.

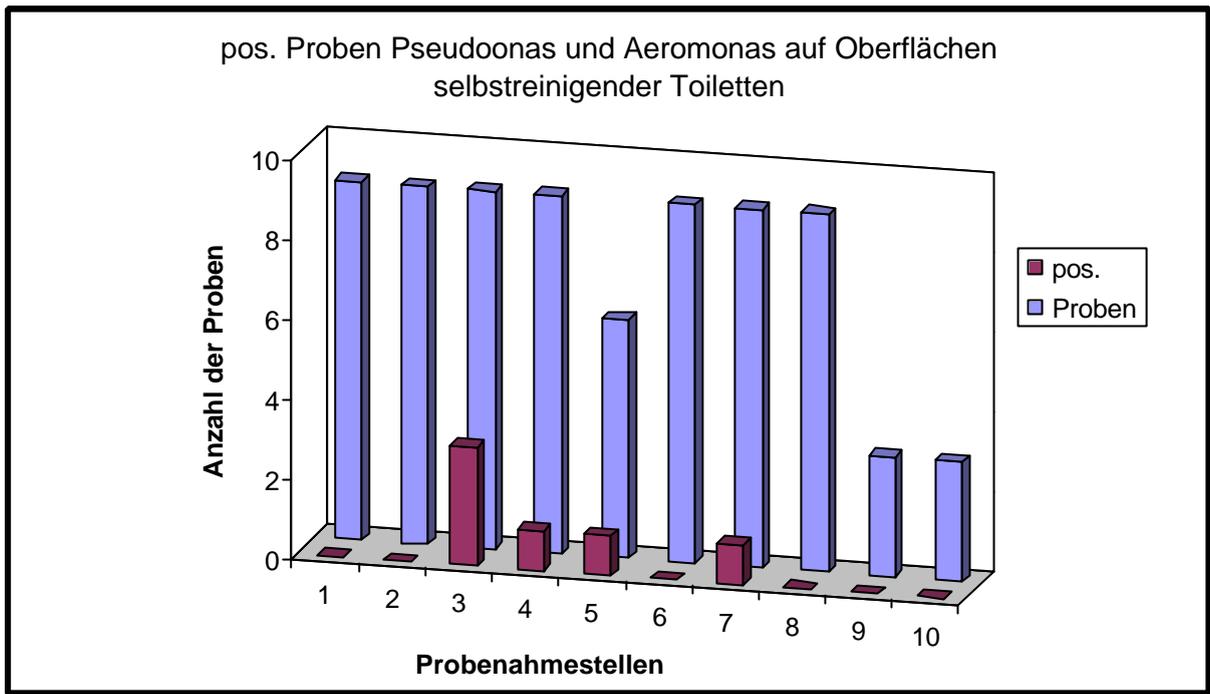


(Legende siehe Abb 38)

Abb.41: Vorkommen von Fäkalstreptokokken auf Oberflächen selbstreinigender Toiletten

### 3.2.3.4. Häufigkeitsverteilung von *Aeromonas* spp. und *Pseudomonas* spp.

Nur in 6 Proben (8%) konnte eine der beiden Spezies nachgewiesen werden. Am häufigsten wurden diese dabei, mit jedoch nur geringen Keimzahlen bis max.  $1,9 \times 10^2$  Pseudomonaden /  $40 \text{ cm}^2$  auf der Toilettenbrille nach der Reinigung gefunden (Abb.42). Den quantitativ höchsten Wert erreichte der Waschbereich, auf dem in der einzigen positiven Probe auf dieser Entnahmestelle ca.  $1 \times 10^4$  *Aeromonas* spp. /  $40 \text{ cm}^2$  gezählt werden konnten.



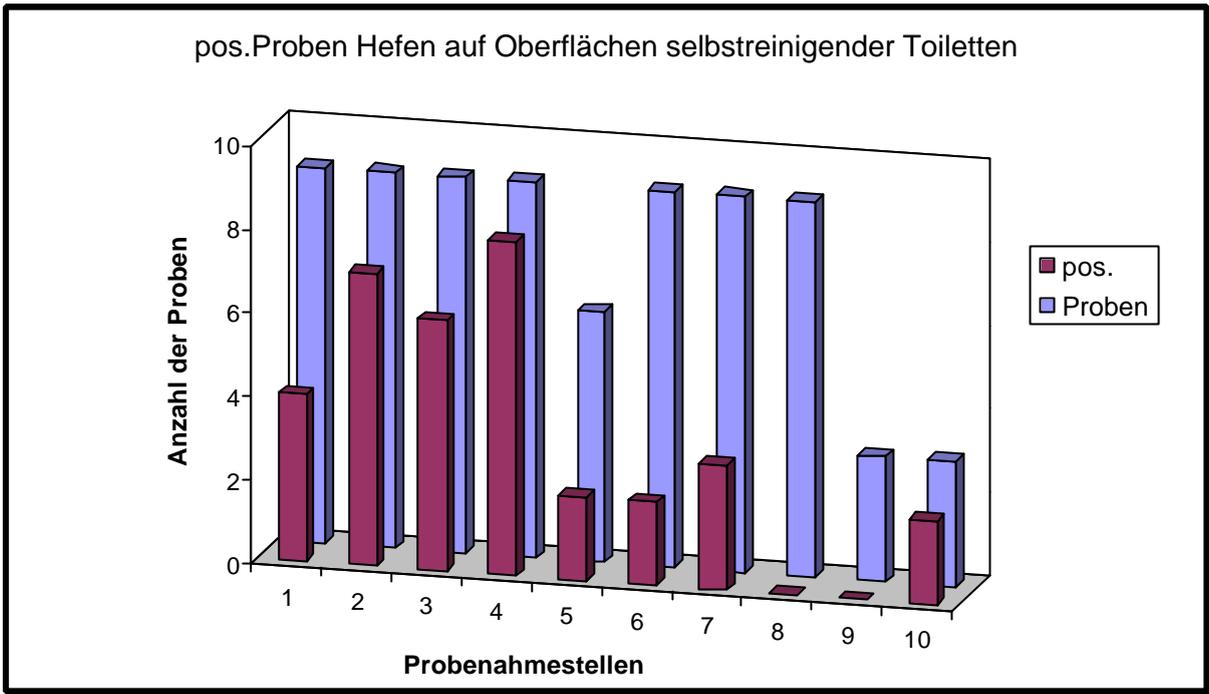
(Legende siehe Abb 38)

Abb.42: Vorkommen von *Aeromonas* spp. und *Pseudomonas* spp. auf Oberflächen selbstreinigender Toiletten

### 3.2.3.5. Häufigkeitsverteilung von *Candida* spp.

Hefen wurden auf 45,3% der Oberflächen nachgewiesen. In 10,7% der Proben überschritt der Wert dabei die Grenze von  $10^3$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ . Am häufigsten fanden sich *Candida* spp. auf dem Toilettenboden nach der Reinigung mit 88,8% positiven Proben, sowie auf der Toilettenbrille nach der Reinigung und dem Boden vor der Reinigung mit 77,7%. Auf der Toilettenbrille vor der Reinigung waren 44,4% positiv (Abb.43).

Drei der sieben positiven Proben auf dem Toilettenboden erreichten den Höchstwert von ca.  $1 \times 10^4$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$ . Das gleiche gilt für die zwei positiven Proben des Waschbereiches und für zwei der acht positiven Proben des Bodens nach der Reinigung. Mit  $9,7 \times 10^2$  KBE /  $40 \text{ cm}^2$  war die höchste Keimzahl der übrigen 36% positiven Proben auf dem Boden nach der Reinigung zu finden.



(Legende siehe Abb 38)

Abb.43: Vorkommen von *Candida* spp. auf Oberflächen selbstreinigender Toiletten

### **3.2.4. Ergebnisse virologischer Untersuchungen**

#### **3.2.4.1. Ergebnisse der virologischen Laboruntersuchungen**

##### **3.2.4.1.1. Stahloberfläche**

###### Ergebnisse in Abhängigkeit von der Viruskonzentration

Auf die Stahloberfläche, die das gleiche Material darstellt wie es auf den Toiletten vorzufinden ist, wurden drei verschiedene Viruskonzentrationen aufgetragen. Die Abb.44 zeigt den Versuchsaufbau mit einem Waschbecken, welches mit dem auf den untersuchten Toiletten verwendeten Material vergleichbar ist.

Bei einer Konzentration von  $10^8$  Viren in einem Milliliter wurden maximal  $3,5 \times 10^5$  /ml und minimal  $6,3 \times 10^3$  Viren /ml zurückgewonnen, bei aufgetragenen  $2 \times 10^7$  Viren / ml waren es max.  $3,5 \times 10^3$  und min.  $2,5 \times 10^1$  Viren / ml die wieder nachgewiesen werden konnten und bei nur noch  $4 \times 10^6$  Viren / ml die aufgetragen wurden, konnten in allen untersuchten Proben  $2,5 \times 10^1$  Viren / ml gezählt werden (Tab.22).



Abb. 44: Versuchsaufbau der Virusrückgewinnung von einer Edelstahloberfläche

In der Abb. 45 ist die logarithmische Kurve der zurückgewonnenen Virusmengen anhand der Mittelwerte dargestellt. Die Ergebnisse im Einzelnen können den Tabellen A3 – A6 entnommen werden.

Tab.22: zurückgewonnene Virusmenge im Vergleich zur aufgetragenen Konzentration auf Stahloberflächen

aufgetragene Virusmenge	$1 \times 10^8$ PBE/ml	$2 \times 10^7$ PBE /ml	$4 \times 10^6$ PBE /ml
Maximalwert	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^1$
Minimalwert	$6,3 \times 10^3$	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$
Mittelwert	$6,2 \times 10^4$	$8 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$
Standardabweichung	$1,0 \times 10^5$	$9,9 \times 10^2$	0

(Werte gerundet in PBE / ml)

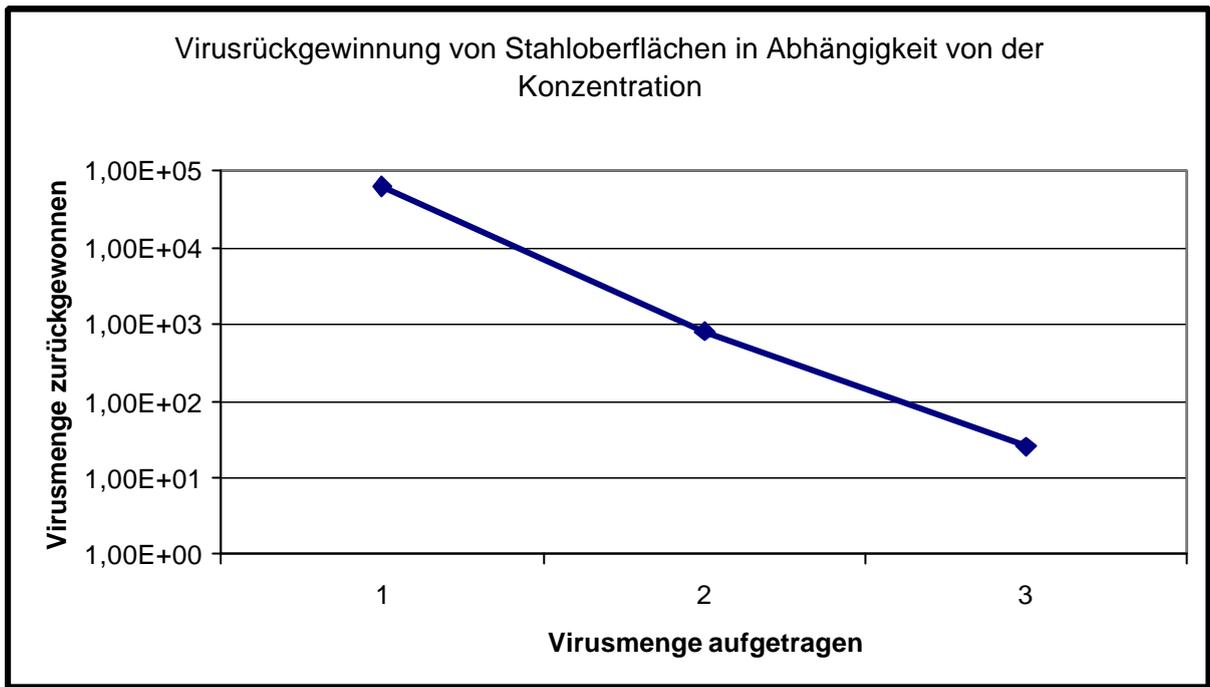


Abb.45: Konzentration der zurückgewonnenen Virusmenge im Vergleich zur Ausgangskonzentration auf Stahloberflächen

1	2	3
$1 \times 10^8$ PBE/ml	$2 \times 10^7$ PBE/ml	$4 \times 10^6$ PBE/ml

Ergebnisse in Abhängigkeit von der Eintrocknungszeit

Außer anhand der verschiedenen Viruskonzentrationen wurde auch anhand verschiedener Einwirkzeiten versucht die Rückgewinnungsrate an Virus zu bestimmen.

Bei einer bekannt aufgetragenen Viruskonzentration von  $1 \times 10^8$  Viren / ml wurden in Abhängigkeit von der Zeit im Mittel bei sofortiger Rückgewinnung  $1,85 \times 10^6$  Viren / ml und nach 80 min. noch  $3,8 \times 10^2$  Viren / ml zurückgewonnen. Die Werte sind im Einzelnen der Tabelle 23 zu entnehmen. Die aufgrund der Mittelwerte erstellte Kurve ist aus Abb. 46 ersichtlich.

Tab.23: zurückgewonnene Virusmengen in Abhängigkeit von der Zeit auf Stahloberflächen

Zeit	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min
<b>Maximalwert</b>	$5,6 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$1,8 \times 10^3$	$1 \times 10^3$
<b>Minimalwert</b>	$5,6 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$
<b>Mittelwert</b>	$1,85 \times 10^6$	$7 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$8,3 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$
<b>Standardabweichung</b>	$1,35 \times 10^6$	$8,3 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	$5,5 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$

(Werte gerundet in PBE / ml)

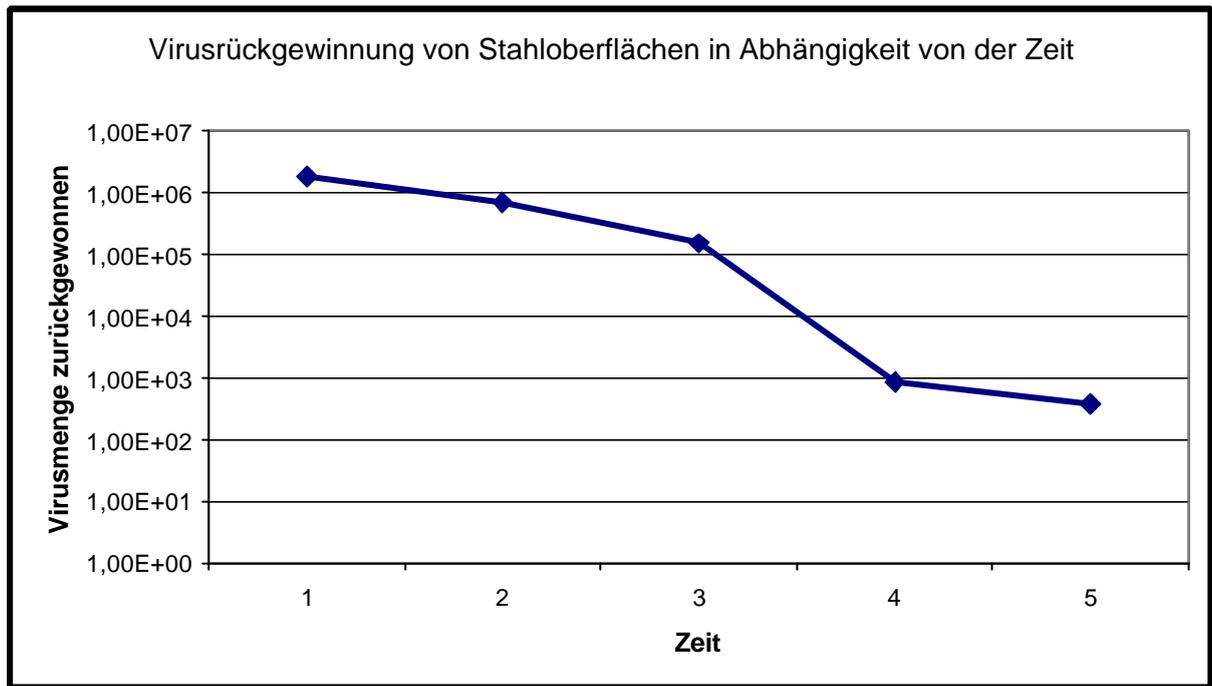


Abb.46 Konzentration der zurückgewonnenen Virusmenge von Stahl in Abhängigkeit von der Zeit

1	2	3	4	5
0 min	20 min	40 min	60 min	80 min

### 3.2.4.1.2. Kunststoffoberfläche

#### Ergebnisse in Abhängigkeit von der Viruskonzentration

Vergleichend wurden die Versuche zur Rückgewinnung von Viren von Stahloberfläche auch auf einer handelsüblichen Plastiktoilette wiederholt. Abb. 47 zeigt den Versuchsaufbau.

Hier wurden in Abhängigkeit von der Konzentration vier verschiedenen Virusmengen aufgetragen. Bei  $3,16 \times 10^8$  aufgetragenen Viren / ml wurden max.  $3,5 \times 10^6$  und min.  $3,5 \times 10^5$  Viren / ml mittels Tupfern nachgewiesen. Bei der niedrigsten untersuchten Konzentration von  $1,26 \times 10^6$  Viren / ml wurden durchschnittlich nur noch  $1,39 \times 10^3$  Viren / ml über die Tupfer wieder von der Oberfläche zurückgewonnen (Tab.24).

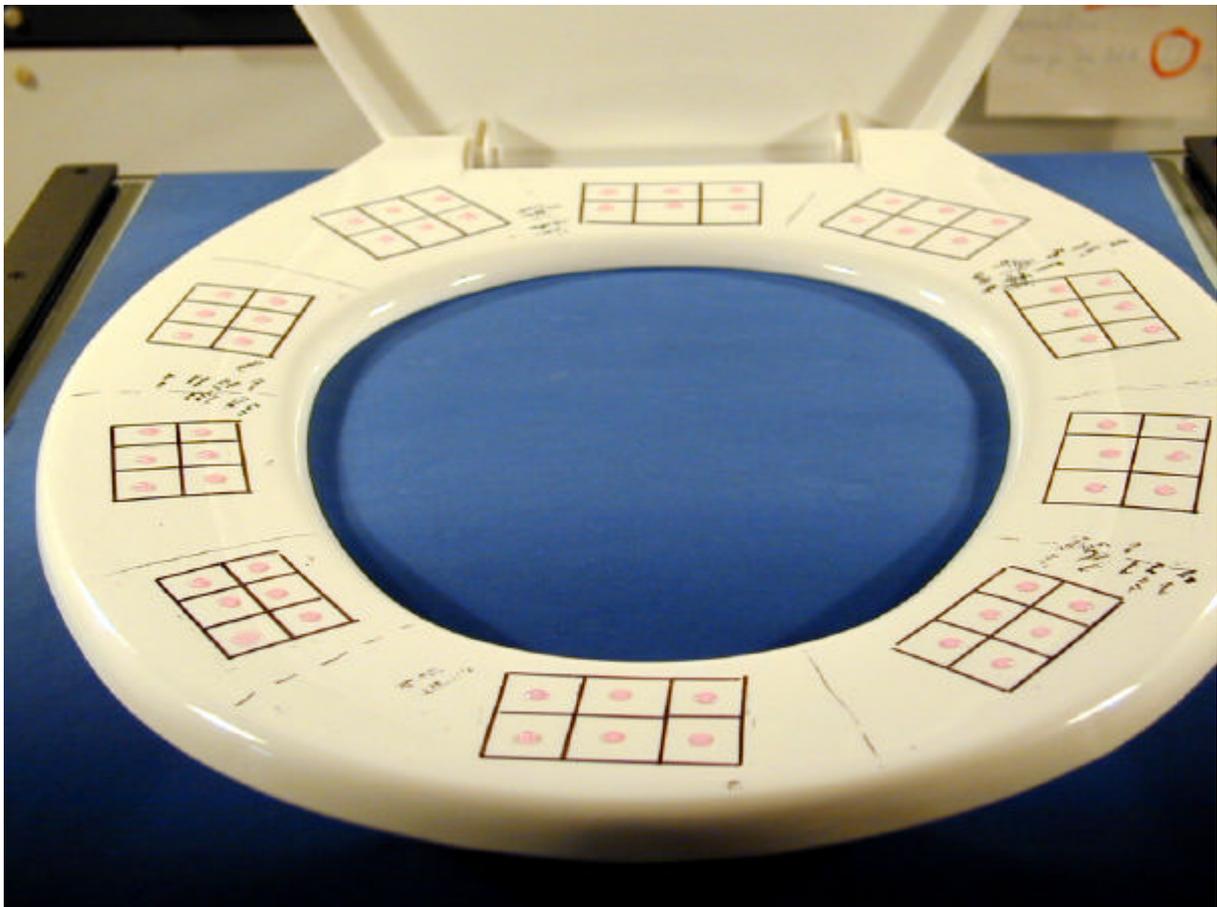


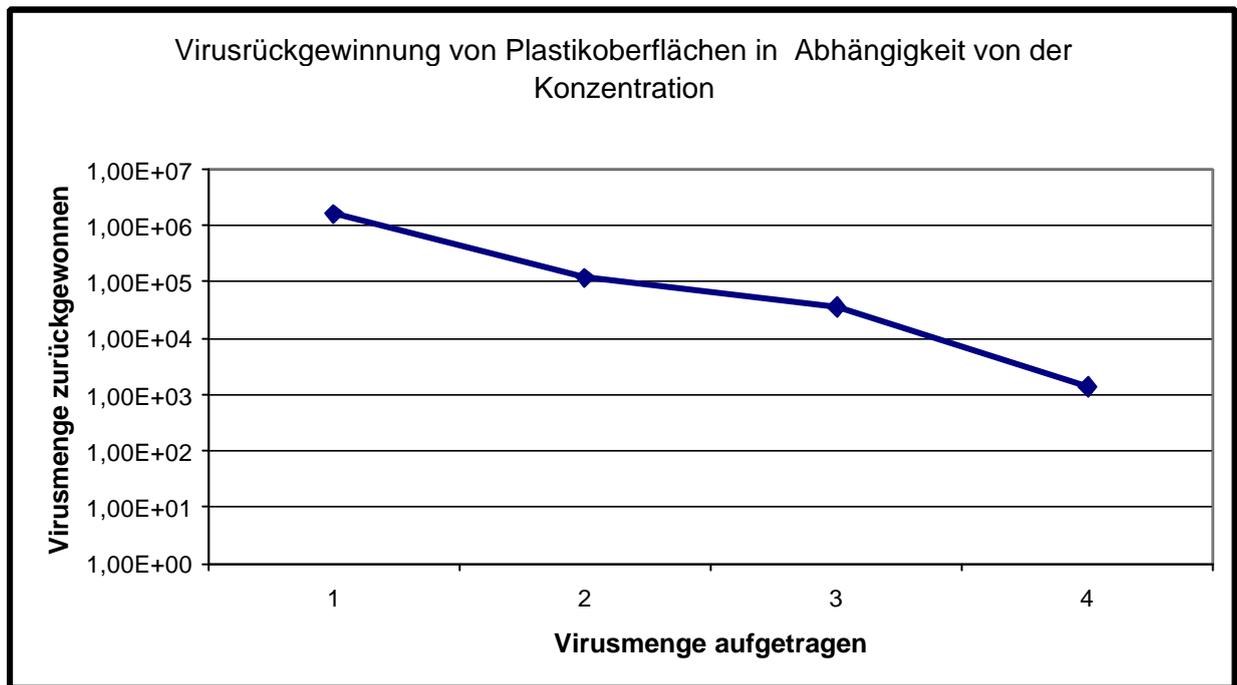
Abb. 47: Versuchsaufbau der Virusrückgewinnung von der Kunststoffoberfläche

Die übrigen Werte können der Tab. 24 entnommen werden. Auch die Kurve der Abb. 48 baut sich aus den in Tab.24 ersichtlichen Mittelwerten auf.

*Tab.24: zurückgewonnene Virusmenge im Vergleich zur aufgetragenen Konzentration auf Plastikoberflächen*

Aufgetragene Virusmenge	$3,16 \times 10^8$ PBE/ml	$6,32 \times 10^7$ PBE/ml	$1,26 \times 10^7$ PBE/ml	$1,26 \times 10^6$ PBE/ml
Maximalwert	$3,5 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	$2 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$
Minimalwert	$3,5 \times 10^5$	$6,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$2,5 \times 10^1$
Mittelwert	$1,58 \times 10^6$	$1,17 \times 10^5$	$3,50 \times 10^4$	$1,39 \times 10^3$
Standardabweichung	$9,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$5,1 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$

(Werte gerundet in PBE / ml)



*Abb.48: Konzentration der zurückgewonnenen Virusmenge im Vergleich zur Ausgangskonzentration auf Plastikoberflächen*

1	2	3	4
$3,16 \times 10^8$ PBE / ml	$6,32 \times 10^7$ PBE / ml	$1,26 \times 10^7$ PBE / ml	$1,26 \times 10^6$ PBE / ml

Ergebnisse in Abhängigkeit von der Eintrocknungszeit

In der Tab. 25 sind die Werte für die Versuche auf der Plastiktoilette in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt.

Auch hier wurde eine Ausgangskonzentration von  $1 \times 10^8$  Viren / ml aufgetragen und für unterschiedliche Zeit auf der Oberfläche belassen.

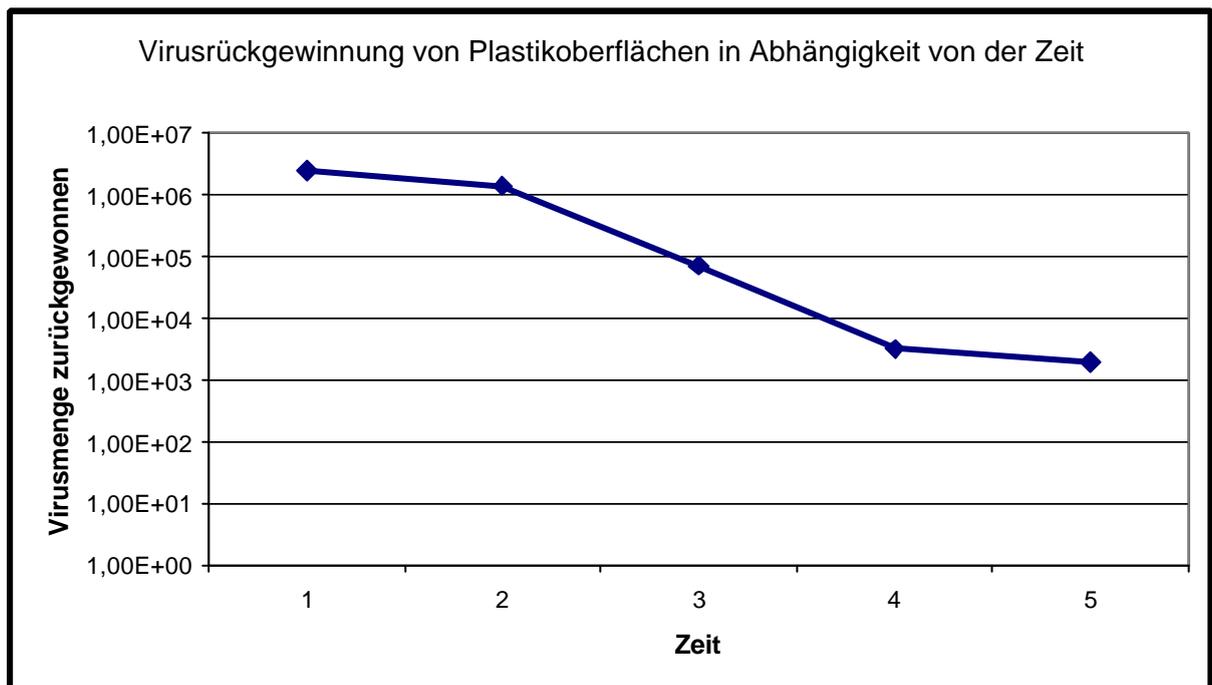
Direkt nach dem Auftragen und auch nach 20 min konnten  $5,6 \times 10^6$  Viren / ml als Maximalwert zurückgewonnen werden. Nach 80 min lag der Maximalwert bei nur noch  $5,6 \times 10^3$  Viren / ml und der Minimalwert betrug  $1,9 \times 10^3$  Viren / ml.

Die Kurve der Mittelwerte ist in Abb. 49 dargestellt.

Tab.25: zurückgewonnene Virusmengen in Abhängigkeit von der Zeit auf Plastikoberflächen

Zeit	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min
<b>Maximalwert</b>	$5,6 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$	$5,6 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$	$5,6 \times 10^3$
<b>Minimalwert</b>	$5,6 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$	$3,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$
<b>Mittelwert</b>	$2,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$7,2 \times 10^4$	$3,2 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$
<b>Standardabweichung</b>	$1,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,65 \times 10^5$	$4,5 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$

(Werte gerundet in PBE / ml)



(Legende siehe Abb.46)

Abb.49: Konzentration der zurückgewonnenen Virusmenge von Plastik in Abhängigkeit von der Zeit

### 3.2.4.2. Ergebnisse des virologischen Feldversuches

Im hier durchgeführten Feldversuch konnten auf keiner der 105 untersuchten Oberflächen mit der oben beschriebenen Methode Enteroviren gefunden werden (Tab.26).

*Tab.26: Probennahmepunkte, Anzahl der Proben und Resultate des virologischen Feldversuches*

	Anzahl der Proben	Toilette 1		Toilette 2		Toilette 3	
		Herren	Damen	Herren	Damen	Urinal	Sitztoilette
Toilettenbrille	25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Boden v. Toil.	25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Spülknopf	25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Klinke Eingang	30	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.