

**"PRAXISERGEBNISSE ZUR
ENTKEIMUNG
WÄSSRIGER LÖSUNGEN MIT AGXX"**

PROF. DR. UWE LANDAU
KLAUS-DIETER MEHLER
PROF. DR. THOMAS LISOWSKY



"Praxisergebnisse zur Entkeimung wässriger Lösungen mit AgXX"

Technische Arbeitstagung Hohenheim

Uniti - **Bundesverband mittelständischer Mineralölunternehmen e.V.**

17.-18. März 2009 in Stuttgart

Prof. Dr. Uwe Landau

Klaus-Dieter Mehler

Prof. Dr. Thomas Lisowsky

Largentec Vertriebs GmbH

Innovation Medizintechnik,
Hygiene- und Wassertechnik GmbH

Am Waldhaus 32

14129 Berlin

Tel: 030 - 80 90 31 61

Fax: 030 - 80 90 31 60

info@largentec.de

www.largentec.de

Abstract

AgXX ist ein neuartiger antimikrobieller Kontaktkatalysator. Es handelt sich dabei um eine speziell strukturierte und beschichtete Silberoberfläche, die durch Nachbehandlungen veredelt und konditioniert wird. Die antimikrobielle Wirkung findet hauptsächlich an oder in unmittelbarer Nähe der AgXX-Oberfläche durch Depolarisierung biologischer Membranen mit anschließender Zelllyse statt. Dadurch sind völlig neue Lösungen für die Entkeimung wässriger Systeme möglich. Als Kontaktkatalysator ist AgXX mittlerweile in neuentwickelten Reaktoren, Patronen und Filtermodulen seit mehr als 12 Monaten im Praxiseinsatz. Schwerpunkte sind dabei die Entkeimung von Kühlschmiermitteln sowie Kühl- und Prozesswässern. Die Erfahrungen aus diesen Anwendungen liefern wichtige neue Erkenntnisse, die hier zusammengefasst sind. Neben der effizienten antimikrobiellen Wirkung von AgXX zeigt sich auch eine überraschend effektive Filterwirkung durch Adsorption und Abtötung der Mikroorganismen an AgXX Oberflächen. Zur optimalen Ausnutzung dieser Eigenschaften wurden spezielle Filtermodule konstruiert. Mittlerweile werden in unterschiedlichen Maschinen und Tankanlagen Kühlschmierstoffen sowie in Kühlkreisläufen Prozesswasser durch AgXX langfristig vor Verkeimungen geschützt. Dabei ergeben sich vielfältige Vorteile durch den Einsatz von AgXX gegenüber Bioziden und der klassischen Silbertechnologie. So zeigt AgXX eine hohe Beständigkeit gegenüber aktiven Schwefelverbindungen und anderen die Silberionen komplexierenden Substanzen und tötet auch in Anwesenheit dieser Stoffe alle biozid-resistenten Keime zuverlässig ab. AgXX erlaubt einen fundamentalen Strategiewechsel für die antimikrobielle Konservierung von KSS. Durch die Abtötung der Keime und die Reinigung des Gesamtsystems von Biomasse und anderen Ablagerungen wird mit AgXX eine nachhaltige antimikrobielle Wirkung erzielt.

Einleitung / Übersicht

Silber erlebt aktuell eine Renaissance als Werkstoff für die Erzeugung und den Erhalt von keimfreiem Wasser. Bereits 1869 wurde durch Ravelin [1] und 1893 durch von Nägeli [2] die antibakterielle Wirkung von Silber in sehr niedrigen Dosierungen wissenschaftlich untersucht und beschrieben. Dieser sogenannte oligodynamische Effekt des Silbers, der hohe Wirksamkeit bei niedriger Wirkstoffkonzentration bedeutet, wird durch die Abgabe von Silberionen in wässrige Lösungen bewirkt. Silber ist eine ideale antimikrobielle Wirksubstanz, da es, wie die lange Erfahrung mit Silber gezeigt hat, für den Menschen lediglich in sehr hohen Konzentrationen ein gewisses Gefährdungspotential besitzt [3]. Bis jetzt wurde die keimtötende Wirkung von Silberionen an mehr als 650 Spezies von Bakterien, Pilzen und Viren nachgewiesen. Auf die bioaktive Wirkung des Silbers wird heute als Alternative zu problematischen Bioziden und unwirksam gewordenen Antibiotika wieder verstärkt zurückgegriffen [4, 5]. Die ständige Verbesserung und Weiterentwicklung der Effizienz der Silbertechnologie steht dabei im Mittelpunkt vieler Forschungsprojekte. Mit dem Verständnis des wissenschaftlichen Hintergrundes für die besondere Wirkung des Silbers begann die systematische Nutzung in den verschiedensten Bereichen und die Weiterentwicklung der Technologie [4 - 6].

Erste Auswertungen von Langzeitstudien mit AgXX in der Praxis zeigen, dass AgXX nicht die Nachteile klassischer Silbertechnologien besitzt und grundsätzlich anders funktioniert. Dies zeigt sich besonders deutlich an folgenden kritischen Wirksamkeitslücken der klassischen Silbertechnologie, die man bei AgXX nicht findet:

- zeitlich stark verzögerter Einsatz der keimabtötenden Wirkung
- Abhängigkeit von Freisetzung und Stabilisierung freier Silberionen in wässriger Lösung
- Inaktivierung von Silberionen durch Schwefelverbindungen oder Komplexbildner
- begrenztes Wirkungsspektrum für die effiziente mikrobielle Dekontamination.

Praxisergebnisse

AgXX in KSS

AgXX-Netze mit 200 µm und 50 µm Maschenweite sind mittlerweile in Maschinen und Anlagen mit 200 Liter bis 1500 Liter KSS im Einsatz. Die Netze werden in Reaktoren, Patronen, Modulen und Filterkästen an strategischen Positionen so eingesetzt, dass ein möglichst enger Kontakt zum KSS erreicht wird. Als erstes Fazit aus 12 Monaten Praxistestung ergeben sich folgende wichtige Punkte:

- Langfristige wird bei einer hohen Keimbelastung eine kontinuierliche Absenkung der Keimraten erreicht bzw. niedrige Keimraten werden erhalten
- Mycel-bildende Pilze werden schneller abgetötet als Bakterien
- Effiziente antimikrobielle Wirkung von AgXX auch gegen multi-resistente Keime
- nach 12 Monaten Dauereinsatz werden keine AgXX resistenten Keime gefunden
- AgXX filtert effizient abgestorbene Biomasse und Kleinstpartikel aus dem KSS und beseitigt so Quellen für zusätzliches Keimwachstum
- es werden keine nachteiligen Einflüsse auf den KSS beobachtet
- keine Reduktion der antimikrobiellen Wirkung nach 12 Monaten Dauereinsatz.

Die wichtigsten Details zu den Ergebnissen aus der Praxis werden im folgenden Teil näher vorgestellt.

Verlauf der Entkeimung von KSS durch AgXX

Bestimmt man nach Einbau von AgXX-Systemen in regelmäßigen Abständen die KBE-Werte für den KSS, so stellt man fest, dass AgXX anders als Biozide, die Keimraten langsam aber kontinuierlich absenkt. Die Abbildungen 1A und 1B zeigen den typischen Verlauf der Keimentwicklung über 10 Wochen aus der Praxis. Abbildung 1A zeigt den Einsatz von AgXX in bereits hoch mikrobiell vorbelastetem KSS. In solchen Fällen sollte bei Einbau von AgXX maximal eine Keimrate von 10^6 /

ml vorliegen. Höhere Keimraten führen meistens bereits zu starken Schädigungen des KSS oder sogar zur Zersetzung des Emulgators. Es zeigt sich, dass nach Einbau von AgXX die Keimrate langsam aber kontinuierlich absinkt. Gewisse Schwankungen in den Keimraten mit gelegentlich auch wieder höheren Keimwerten können auftreten. Solche Schwankungen lassen sich meist direkt mit Besonderheiten im Betrieb korrelieren, wie z.B. Ausfall von Pumpen, Stillstand von Produktionsmaschinen, zusätzlicher externer Keimeintrag und anderen ähnlichen Vorgängen. Da AgXX hauptsächlich als Kontaktkatalysator wirkt, ist ein enger, kontinuierlicher Kontakt mit dem KSS Voraussetzung für die effiziente Wirkung.

Abbildung 1B zeigt den Einsatz von AgXX nach Systemreinigung und Erneuerung der Emulsion. Dies sind häufig die besseren Voraussetzungen für nachhaltige Konservierung des KSS und Erhalt einer möglichst langen Standzeit. Auch hier finden sich betriebsspezifische Schwankungen in den Keimraten aus den gleichen Gründen wie vorher schon aufgeführt.

Neben dem Absenken der Gesamtkeimrate beobachtet man zusätzlich signifikante Verschiebungen im Keimspektrum, da es Keime gibt, die von AgXX besonders effizient abgetötet werden. Dies sind vor allem mycelbildende Pilze und sich schnell teilende Bakterien. Daher wird gerade direkt nach Einbau von AgXX eine schnelle Abtötung solcher spezifischer Keime beobachtet.

In diesem Zusammenhang ist es wichtig zu erkennen, dass die Gesamtkeimrate nur ein sehr eingeschränktes Kriterium für die Belastung des KSS ist. Erstens kann man bis jetzt mit keinem Medium und keiner Methode alle im KSS vorhandenen Keime erfassen und zweitens haben die verschiedenen Keime auch sehr unterschiedliche Wirkung auf die Qualität des KSS. Grob kann man die Wirkung verschiedener Keime auf den KSS in drei Klassen einteilen: negativ – neutral – positiv

Diese Befunde verdeutlichen, dass die real gemessenen Keimraten nur eines von vielen Kriterien für die Güte und aktuelle Qualität eines KSS sein kann. Wichtig ist daher eine gründliche und systematische Analyse der Gesamtsituation. Auf diese Weise haben wir mittlerweile umfangreiches neues Wissen zu zusätzlichen Kriterien sowie weiteren positiven Wirkungen von AgXX auf den KSS gewonnen.

Kritische Stellen für Keimeintrag und Keimvermehrung

Die systematische Bewertung der Keimsituation in allen Bereichen verschiedener KSS Anlagen identifizierte stets 4 besonders kritische Stellen für den Keimeintrag und Keimvermehrung:

- Siebkästen mit Metallabrieb und Biomasse
- Toträume mit Ablagerungen
- Vlies vom Bandfilter
- Filtermatten zur Abtrennung von Ölrückständen.

Mischungen aus Metallabrieb und abgestorbener Biomasse bilden den besten Nährboden für schnellen Keimeintrag und Keimvermehrung. Eine effiziente Entfernung solcher Belastungen aus dem System ist daher wichtige Grundvoraussetzung für eine substantielle Absenkung der Keimrate.

Überraschend hohe mikrobielle Belastungen wurden auch auf Filtervlies und Filtermatten gefunden. Nach unseren Analysen ist selbst das neue Vlies auf den Rollen der Bandfilteranlagen in den meisten Fällen schon stark mikrobiell belastet. Eine neue Vliesrolle bleibt bis zu 12 Monate auf der Anlage und akkumuliert dabei durch KSS Spritzer und anderen Eintrag aus der Arbeitsumgebung ständig neue Keime, die sich dort gut vermehren und dann während des Filterprozesses über das kontaminierte Vlies wieder in den durchfließenden KSS abgegeben werden.

Siebkästen, Toträume, Vlies und Filtermatten können durch den Einsatz von AgXX Netzen effizient geschützt werden. Damit sind nach unseren Erfahrungen dann auch die wichtigsten Ursachen für zusätzliche hohe Keimbelastungen des KSS identifiziert und abgedeckt.

Effiziente Filterwirkung von AgXX Netzen

Die Kontrolle der AgXX Netze in den Emulsionen zeigte, je nach Vorbelastung des KSS, Alter der Maschinen, Wartungszustand usw. deutliche substantielle Ablagerungen von Biomasse, Produktionsrückständen und anderen Kleinstpartikeln bereits nach 1 bis 6 Monaten. Die mikroskopische Analyse der AgXX Netzmaschen zeigt eine schnelle Adsorption von Mikroorganismen und Kleinstpartikeln in wässriger Lösung (Abb. 2), wodurch die Filterwirkung positiv unterstützt wird. Die Reinigung der Netze durch kurzes Abspülen, leichte Dampfstrahlung oder in einer speziellen Reinigungslösung entfernt solche Beläge schnell und schonend. Die antimikrobielle Aktivität der Netze wurde nach der Reinigung kontrolliert und war genauso hoch wie zu Beginn des Einsatzes. Die entsprechenden Netze konnten daher wieder in die KSS eingesetzt werden. Die effiziente Filterwirkung der Netze führt daher bei regelmäßiger Reinigung der Netzoberflächen zu einer kontinuierlichen Reduktion von Belägen und Ablagerungen auf Metalloberflächen, an Tankanlagen und in Rohrleitungen. Dieser zusätzliche positive Effekt wird durch weitere konstruktive Anpassungen an Form, Positionierung und Einbringung der AgXX Netze optimiert (Abb. 3). Bei korrekter Auswahl und Anwendung passender AgXX-Module wird damit eine nachhaltige und langfristige Systemreinigung sowie mikrobielle Dekontamination erreicht.

Beständigkeit von AgXX gegenüber aktiven Schwefelverbindungen und Komplexbildnern

Weitere Analysen der Netzoberflächen nach 12 Monaten Dauereinsatz in KSS Tankanlagen zeigten eine hohe Beständigkeit gegen alle chemischen oder physikalischen Belastungen. Bei Versuchen zur Konservierung von KSS mit Produkten der klassischen Silbertechnologie ergab sich sehr schnell, dass Inhaltsstoffe der KSS wie aktive Schwefelverbindungen, organische Moleküle sowie Belastungen durch Biomasse die antimikrobielle Aktivität des Silbers stark verminderten bis hin zur schnellen und völligen Inaktivierung. Nachtestungen von AgXX aus Langzeitanwendungen in KSS Tankanlagen ergab dagegen, dass AgXX seine volle antimikrobielle Aktivität auch über lange Zeiträume behält. Zur

systematischen Überprüfung der Langzeitbeständigkeit von AgXX gegenüber solchen Belastungen wurde ein Qualitätstest mit Kaliumsulfidlösung etabliert (siehe Abb. 4). Dabei wurde auch nach langen Inkubationszeiten in 1%-iger K_2S Lösung keine Reduktion der antimikrobiellen Wirkung von AgXX gefunden. Hingegen zeigen alle bekannten klassischen Silberprodukte ob neuartige Silberoberflächen, Nanosilber oder Silbertextilien schon nach nur sehr kurzfristigen Belastungen mit aktiven Schwefelverbindungen einen vollständigen Verlust ihrer antimikrobiellen Wirkung. In der Praxis der KSS gibt es vielfältige Belastungen durch aktive Schwefelverbindungen und organische Moleküle, sowie Biomasse und Metallabrieb. Weiterhin produzieren viele Mikroorganismen aktive Schwefelverbindungen wie z.B. Schwefelwasserstoff, die alle besonders reaktiv gegenüber freien Silberoberflächen sind. In Zellwänden und Membranen von Mikroorganismen finden sich auch Proteine und Lipidmoleküle mit reaktiven Schwefelgruppen, die Silberionen zusätzlich binden, komplexieren und inaktivieren. Daher ist die Beständigkeit silberbasierter Entkeimungssysteme gegenüber solchen Belastungen eine der wichtigsten Grundvoraussetzungen für den Praxiseinsatz. Nach unseren Testungen hat nur AgXX eine ausreichende Beständigkeit gegenüber diesen Belastungen.

Strategiewechsel für die antimikrobielle Konservierung durch AgXX

Die Erfahrungen aus den laufenden Praxisanwendungen zeigen, dass AgXX eine neue Systemlösung für die nachhaltige Konservierung von KSS bietet. Unsere Systemanalysen in den verschiedensten Anlagen haben mittlerweile die kritischsten Punkte für Keimeintrag und Keimvermehrung identifiziert. Die besonderen Eigenschaften und Vorteile von AgXX für eine solche Systemlösung sind in der Tabelle 1 im Vergleich mit Bioziden und klassischen Silbersystemen zusammengestellt.

Die neue Strategie besteht in der Besetzung besonders kritischer Stellen im Betrieb mit AgXX-Schutzsystemen. Verschiedene industrielle Standardformen von AgXX wie Module, Patronen, Netzrahmen oder Filterkästen erlauben eine flexible und individuell angepasste Problemlösung vor Ort. Dadurch wird dann langfristig eine effiziente Filterung und Keimreduktion erreicht. Dabei zeigt es sich, dass die

Entfernung von Biomasse, Abrieb und anderen Rückständen aus dem Gesamtsystem direkt korreliert mit einer langfristigen mikrobiellen Konservierung des KSS. Bei entsprechender korrekter und konsequenter Anwendung von AgXX wird so eine kontinuierliche Reinigung des gesamten Systems von Biomasse, Trübstoffen, Kleinstpartikeln erreicht.

Nach den Erfahrungen aus unseren Praxistestungen hat jeder Anwender für die Erfolgsbewertung der Wirksamkeit von AgXX seine eigenen Voraussetzungen und Kriterien. Die 6 Hauptkriterien beim Einsatz von AgXX, die unseren Kunden besonders wichtig waren, sind:

- Reduktion von Biomasse und Trübstoffen im System
- Erhalt der Produktionsqualität bei der Metallbearbeitung
- Verlängerung der Standzeit des KSS und damit verringerte Stillstandzeiten
- Verminderung der Keimzahl und Keimbesiedelung
- Verminderung/Absetzung von Bioziden
- Vermeidung/Verringerung problematischer Abfälle und ihrer Entsorgung.

Zusammengefasst liegen die wesentlichen Vorteile der AgXX-Systeme in:

- beschleunigter antimikrobieller Wirkung bei Kontakt mit wässrigen Lösungen
- keiner Abhängigkeit und Freisetzung von großen Mengen Silberionen
- Resistenzentwicklungen wurden bis jetzt nicht beobachtet
- systematischer Reduktion von Biomasse, Trübstoffen und Kleinstpartikeln,
- Verlängerung der Standzeit des KSS
- wartungsarmen Systemen
- langer Haltbarkeit und Beständigkeit der Oberfläche,
- keiner weiteren Biozidzugabe,
- keiner Beeinträchtigung von Zusatzstoffen wie Korrosionsschutz, Emulgatoren etc.
- keiner Erhöhung des Korrosionspotenzials der wässrigen Lösungen,
- einfacher Nachrüstung in bestehende Systeme.

Abbildungen

Abbildungen 1A und 1B

Typische zeitliche Entwicklung der Gesamtzahl Kolonie-Bildender-Einheiten [KBE_{gesamt}] nach Einbau von AgXX in einen mikrobiell hoch belasteten KSS (Abbildung 1A) und in einen KSS nach Systemreinigung und Erneuerung der Emulsion (Abbildung 1B).

Abbildung 1A:

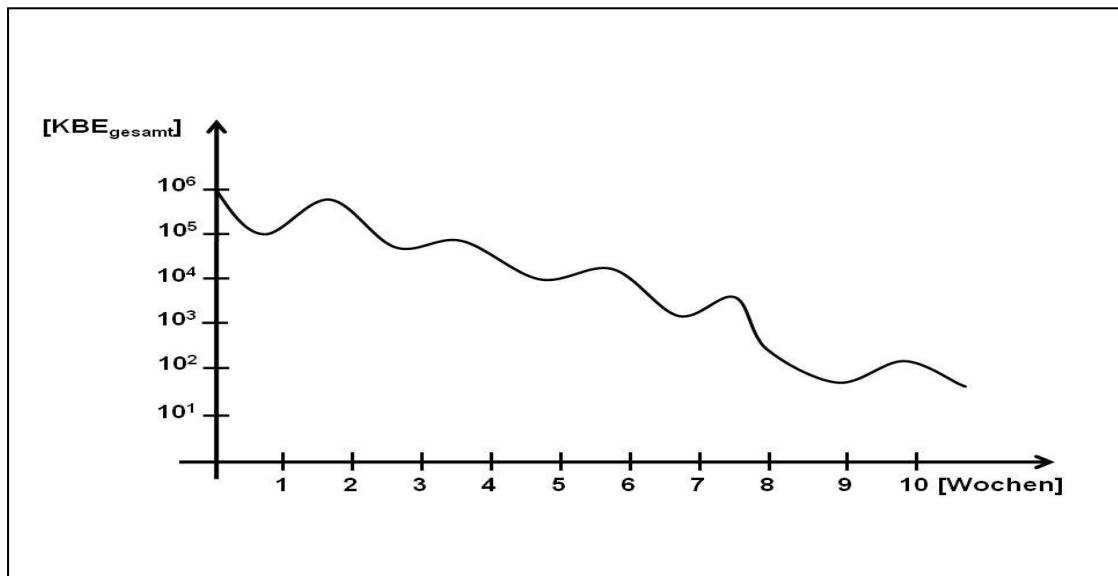


Abbildung 1B:

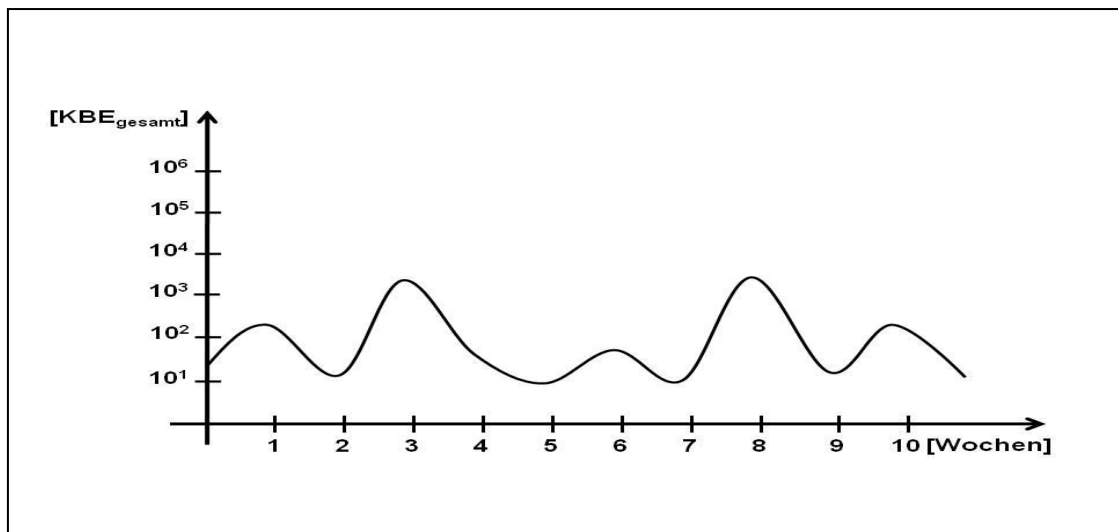
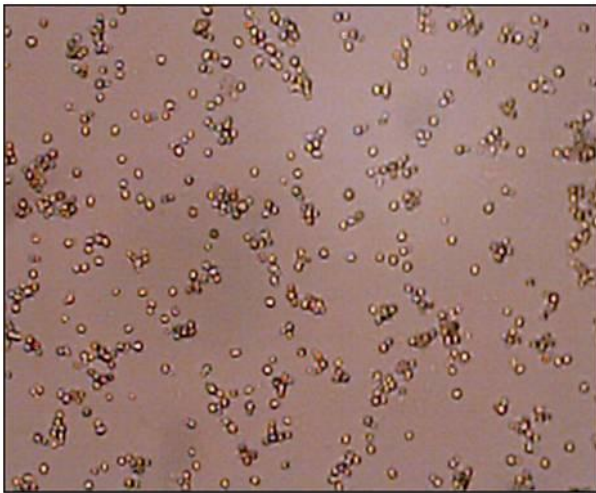
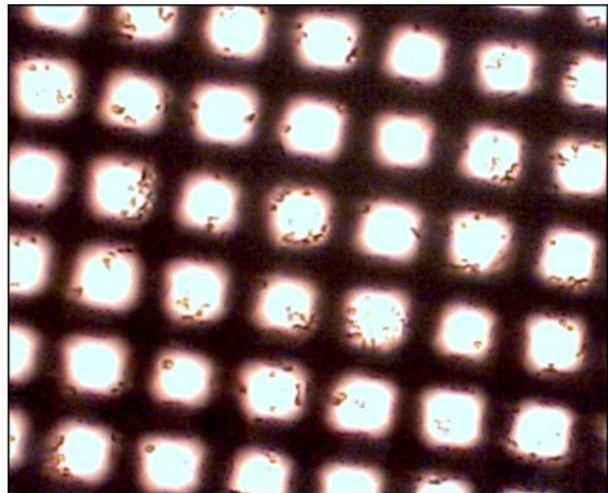


Abbildung 2

Effiziente Filterwirkung von AgXX. Auf AgXX Netze mit einer Maschenweite von 50 μm wurde eine wässrige Lösung mit Mikroorganismen (*Saccharomyces cerevisiae*) aufgetropft. Zur Kontrolle dient ein identisches Aliquot der Suspension ohne AgXX. Die mikroskopische Analyse zeigt, dass sofort nach Auftropfung Mikroorganismen und Kleinstpartikel durch die besonderen Oberflächeneigenschaften an AgXX adsorbieren. Damit wird eine schnelle Abtötung der Mikroorganismen aber auch gleichzeitig eine effiziente Filtration und Reinigung der wässrigen Lösungen erreicht.



Mikrofotografie (100 x)



Mikrofotografie (100 x)

Abbildung 3

Testung zum Einfluss aktiver Schwefelverbindungen auf die antimikrobielle Effizienz von Ag und AgXX. Die verschiedenen Proben wurden unterschiedlich lange in 1%-iger K_2S Lösung inkubiert. Anschließend wurde ihr antimikrobielles Potential auf Nähragar mit *E. coli* Bakterien getestet. Die Ausbildung eines Hemmhofes korreliert dabei mit der antimikrobiellen Effizienz. Inkubationen von AgXX in 1%-iger K_2S Lösung von bis zu 2 Stunden führen zu keiner Blockierung der antibakteriellen Wirkung. Bei einer Vergleichsprobe aus Silber ist die Aktivität schon nach 5 Minuten Inkubation in 1%-iger K_2S -Lösung vollständig blockiert. (Abkürzungen in der Abbildung: K: unbehandelte AgXX Kontrolle, Ag: Silberprobe für 5 min. in K_2S , P1: AgXX für 5 min. in K_2S , P2: AgXX für 10 min. in K_2S , P3: AgXX für 30 min. in K_2S , P4: AgXX für 1h in K_2S , P5: AgXX für 2 h in K_2S).

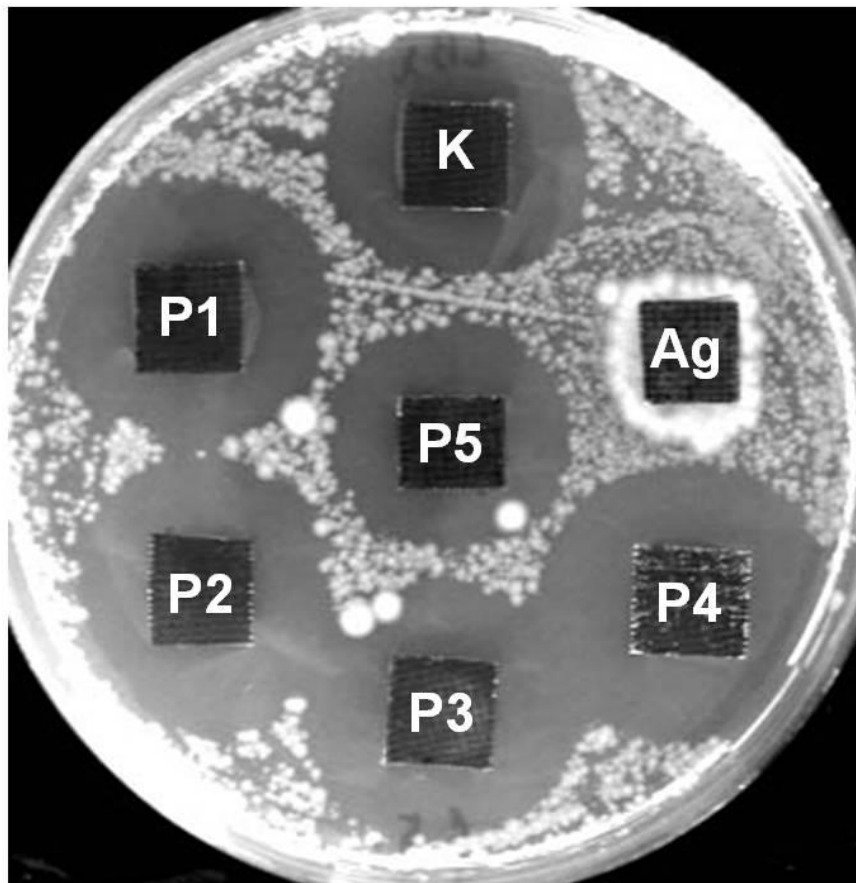


Abbildung 4

Industrielle Standardformen für den Einsatz von AgXX in wässrigen Systemen. Filterkörbe, Schwimmrahmen und Module sind so konstruiert, dass sie platzsparend an allen strategischen Positionen in Tankanlagen, Rohrleitungen und Speicherbecken eingesetzt werden können und dabei eine hohe Filterfunktion entwickeln. Bei entsprechender Anwendung und Wartung erfolgt so eine systematische Reduktion von Biomasse, Trübstoffen, Kleinstpartikeln und Keimen im Gesamtsystem.

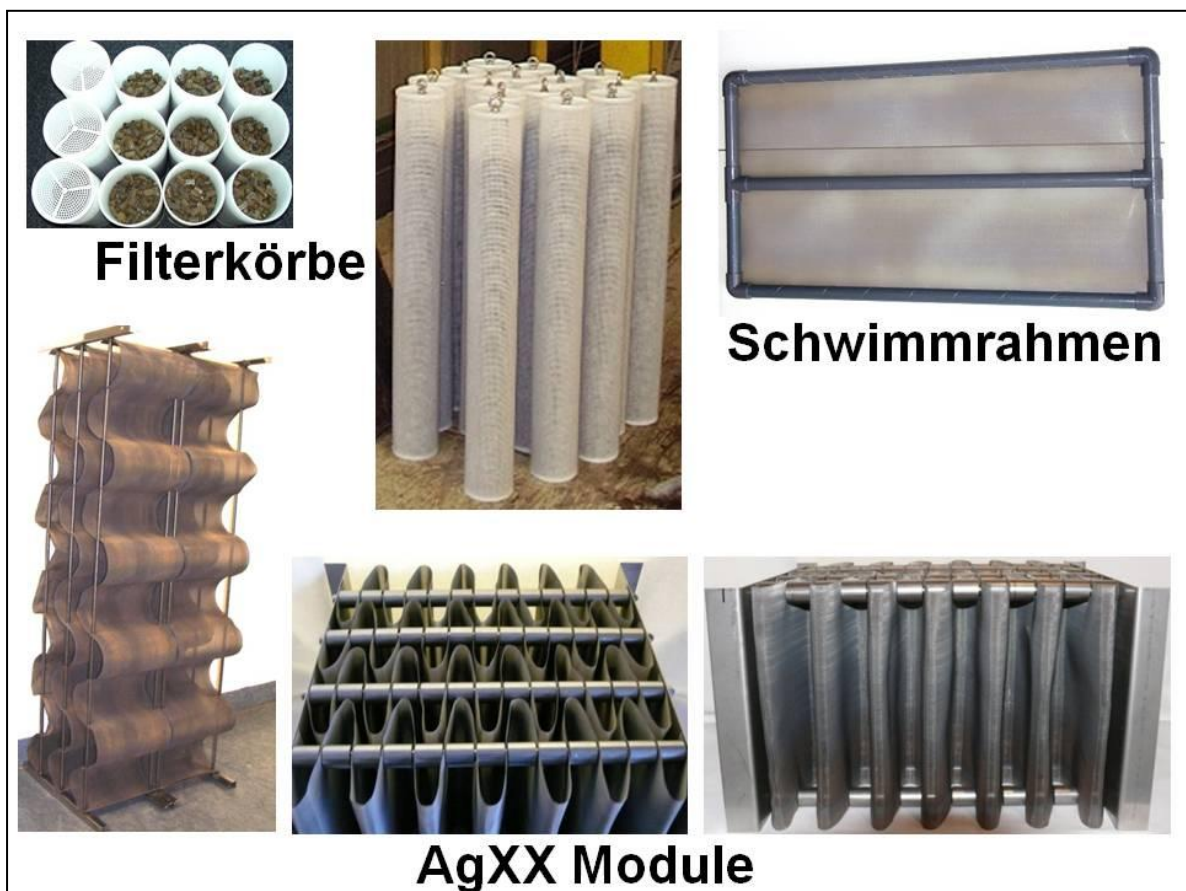


Tabelle 1

Vergleich der besonderen Eigenschaften von Bioziden, klassischem Silber und AgXX.

<u>Vergleich der besonderen grundlegenden Eigenschaften:</u>		
 <u>Biozide</u>	 <u>klassische Silbertechnologie</u>	
komplexe Wirkstoffmischungen selektive Wirkungen hoch toxisch, allergen Multi-Resistenzen hoher Verbrauch aufwendige Analytik, Service	nur Ag ⁺ Ionen Breitband (langsam) toxisch ab 100 µg/L Hemmung, Inhibierung Verbrauch an Ag ⁺ Blockierung! ⇒ Ag ₂ S keine Regeneration fast wartungsfrei	Kontaktkatalysator und Ag ⁺ Ionen Breitband (schnell) nicht-toxisch keine Hemmung keine Resistenzen fast kein Verbrauch keine Blockierung Regeneration fast wartungsfrei

Literatur

- [1] Ravelin, J. (1869) Chemistry of vegetation. *Sci. Nat.* 11, 93-102.
- [2] von Nägeli, K. (1893) Über die oligodynamischen Erscheinungen an lebenden Zellen. *Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Naturwiss.* 33, 174-182.
- [3] Berger, T.J., Spadaro, J.A., Chapin, S.E. & Becker, R.O. (1976) Electrically generated silver ions: quantitative effects on bacterial and mammalian cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 9, No. 2, 357 - 358.
- [4] Landau, U. und Koautoren (2006): Die keimreduzierende Wirkung des Silbers in Hygiene, Medizin und Wasseraufbereitung: Die Oligodynamie des Silbers; Isensee-Verlag, Oldenburg, 2006-10-03; ISBN 3-89995-284-7.
- [5] Landau, U. and Co-Authors (2007): Translated and Extended by A. Kuhn: The Bactericidal and Oligodynamic Action of Silver and Copper in Hygiene, Medicine and Water Treatment; Finishing Publications Ltd., 2007 ISBN 978-0-904477-30-6.
- [6] Landau, U., Mehler, K.-D. und Lisowsky, T. (2008): Neuer bioaktiver Kontaktkatalysator zur Entkeimung wässriger Systeme. „mineralöl technik“ 4: 2008, 1-11.