

Aus dem Institut für Hygiene
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktorin: Prof. Dr. med. habil. Marianne Borneff-Lipp)



**Aufbereitung von Endoskopen mit einer neuen Geräteversion des Nieder-
Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens für zentrale Sterilgut-
versorgungsabteilungen**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Rainer Schenk
geboren am 03.07.1977 in Neuburg an der Donau

Gutachter:

1. Frau Prof. Dr. M. Borneff-Lipp
2. Prof. Dr. G. Keyßer
3. Prof. Dr. P. Heeg (Tübingen)

verteidigt am 19.04.2007

urn:nbn:de:gbv:3-000012015

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000012015>]

Meinen Eltern und Großeltern

Kurzreferat

Das Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisationsverfahren, das in den 80er Jahren entwickelt wurde und seit 1994 mit der Erstversion Sterrad[®] 100 auf dem Markt erhältlich ist, stellt eine neuartige Möglichkeit zur Behandlung von thermolabilen Medizinprodukten ohne toxische Rückstände dar. Jedoch ist die NTP-Sterilisation von Instrumenten mit durchgängigen englumigen Hohlräumen oder mit metallischer Abschirmung, wie z. B. Endoskopen oder anderer minimal invasiver (MIC) Instrumente, seit Einführung dieser Technologie Gegenstand kritischer Beurteilungen.

Die Entwicklung der neuen Geräteversion Sterrad[®] 200 für den Großbetrieb einer zentralen Sterilgutversorgungsabteilung (ZSVA) forderte eine Evaluierung der mikrobiziden Leistungsfähigkeit, um mögliche Verbesserungen gegenüber früheren Versionen feststellen und gegebenenfalls Vor- und Nachteile für die Praxis beurteilen zu können.

Als praxisnahe Prüfkörper verwendeten wir exemplarisch gewählte flexible und starre Endoskope mit unterschiedlichem Durchmesser und unterschiedlicher Länge. Sporen von *Geobacillus stearothermophilus* kamen als Testkeim zum Einsatz und wurden mit einer Keimzahl $>10^6$ auf Stahldraht- bzw. Stahlcoupon-Keimträger aufgebracht. Diese „Bio-indikatoren“ wurden zur Simulation einer worst case-Kontamination in der Mitte des Arbeitskanals der Endoskope platziert. Um während der Versuche eine Routinebeladung des Sterilisators zu simulieren, wurde der Sterilisator mit vier Standardbeladungen bestückt, wobei jede medizinische Instrumente mit einer Masse von 2 kg enthielt.

Es wurde die Abhängigkeit der Sterilisationssicherheit vom Innendurchmesser und der Länge der Prüfkörper anhand qualitativer und quantitativer Kriterien untersucht. Außerdem wurde festgestellt, ob der Einsatz eines sogenannten Diffusionsverstärkers im Einzelfall notwendig ist. Dies war z. B. für die Sterilisation der Prüfkörper „flexibles Cranioskop“ und „starres Ureterorenoskop“ notwendig, um eine Keimzahlreduktion von 6 log-Stufen zu erreichen. Die Sterilisation der Prüfkörper „flexibles Gastroskop“ und „starres Laparoskop“ war im kurzen halben Zyklus dagegen ohne den Einsatz eines Diffusionsverstärkers möglich. Die jeweilig zusätzlich durchgeführten quantitativen Versuche bestätigten die Ergebnisse. Im Sinne der Konformitätsbewertungen von Medizinprodukten, entsprechend dem Gesetz über Medizinprodukte (2002), kann somit die Sterilisierbarkeit für gleichartige Instrumente, wie sie im Test verwendet wurden, für die Praxis bestätigt werden.

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	Einleitung	
1.1	Pro und Kontra verschiedener Sterilisationsverfahren	1
1.2	Technologie der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation	6
2	Zielsetzung der Arbeit	11
3	Material und Methodik	
3.1	Testgerät	12
3.2	Prüfkörper	18
3.3	Validierungssets	20
3.4	Diffusionsverstärker	22
3.5	Testorganismen	22
3.6	Keimzahlbestimmung der Sporenstamm suspension	23
3.7	Gebrauchssuspension	24
3.7.1	Herstellung der Gebrauchssuspension	24
3.7.2	Reinheitskontrolle	25
3.8	Keimträger	25
3.8.1	Kontamination der Keimträger	26
3.8.2	Keimrückgewinnung der inokulierten Keimträger	27
3.9	Durchführung der Sterilisationsversuche	31
3.10	Auswertung der Bioindikatoren	32
3.10.1	Qualitative Bioindikatorenauswertung	33
3.10.2	Quantitative Bioindikatorenauswertung	35
3.11	Statistische Auswertung	35
4	Ergebnisse	
4.1	Umfang der Untersuchungen	37
4.2	Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten flexiblen Cranoskop	37
4.3	Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten starren Ureterorenoskop	38
4.4	Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten flexiblen Gastroskop ohne Optik	38
4.5	Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten starren Laparoskop	39
4.6	Zusammenfassung der ermittelten Ergebnisse	39
4.7	Auswertung der Kontrollen	40
5	Diskussion	
5.1	Wirkungsspektrum der NTP-Sterilisation	44
5.2	Konzept der praxisnahen Versuchsdurchführung	47
5.3	Testkeim und Keimträger	48
5.4	Kontamination und Rückgewinnung	49
5.5	Bewertung der Ausgangskeimzahlen	50

5.6	Problematik der Diffusionsverstärker	51
5.7	Technische Standardisierung und Innovationen der Sterrad® 200-Technologie	52
5.8	Schlussfolgerungen und Ausblick	54
6	Zusammenfassung	56
7	Literaturverzeichnis	59
8	Anhang	
8.1	Quantitative Ergebnisse	68
8.1.1	Flexibles Cranioskop	68
8.1.2	Starres Ureterorenoskop	69
8.1.3	Flexibles Gastroskop	70
8.1.4	Starres Laparoskop	71
8.2	Qualitative Ergebnisse	72
9	Thesen	73
	Lebenslauf	
	Selbständigkeitserklärung	
	Erklärung über frühere Promotionsversuche	
	Danksagung	

Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Aspergillus</i>
AKI	Arbeitskreis für Instrumentenaufbereitung
A.S.P.	Advanced Sterilization Products
ATCC	American Type Culture Collection
B.	<i>Bacillus</i>
CASO	Caseinpepton-Sojamehlpepton
CSA	Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar
CSB	Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon
cm	Zentimeter
d	Tag
DAB	Deutsches Arzneibuch
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DIN	Deutsches Institut für Normung
D-Wert	Dezimalreduktionszeit
EN	Europäisches Komitee für Normung
EO	Ethylenoxid
FCKW	Fluorchlorkohlenwasserstoff
FO	Formaldehyd
G.	<i>Geobacillus</i>
h	Stunde
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
IU/ml	International Units/Milliliter
KBE	Koloniebildende Einheiten
kg	Kilogramm
kHz	Kilohertz
l	Liter
MIC	Minimal Invasive Chirurgie
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mtorr	Millitorr

NamSA	North American Science Associates
NTP	Nieder-Temperatur-Plasma
p	Druck
RF	Reduktionsfaktor
s	Sekunde
SAL	Sterility Assurance Level (Sterilisationssicherheitsniveau)
T	Temperatur
t	Zeit
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
U/min	Umdrehungen pro Minute
ZSVA	Zentrale Sterilgutversorgungsabteilung
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
%	Prozent

1 Einleitung

1.1 Pro und Kontra verschiedener Sterilisationsverfahren

Bis zum heutigen Zeitpunkt wurden verschiedene Sterilisationsverfahren entsprechend den unterschiedlichen Anforderungen zur Aufbereitung der Instrumente in Krankenhäusern und Praxen entwickelt. Aufgrund des komplexen Aufbaus einer Vielzahl thermolabiler, aber auch thermostabiler, leicht korrodierender Produkte, wie z. B. Glasfaserkabel, Endoskope, Kauterelektroden, Katheter usw., ist heute kein Sterilisationssystem universell anwendbar, sei es aus Gründen der Materialverträglichkeit, Wirtschaftlichkeit oder den eventuellen gesundheitlichen Risiken für Patienten und Personal.

Als einfachstes Verfahren steht die Aufbereitung mit trockener Hitze zur Verfügung. Allerdings können hiermit nur hitzestabile Materialien wie Metalle, Glas, Porzellan oder wasserfreie Substanzen sterilisiert werden, da hierbei Temperaturen bis zu 200 °C erreicht werden. Ein alternatives Verfahren stellt die Anwendung von gespanntem Wasserdampf bei 121 °C bis 134 °C dar. Aber auch diese Betriebstemperatur ist zu hoch, um thermolabile Materialien sterilisieren zu können. Außerdem verursacht der Wasserdampf Korrosionsprobleme auf metallischen medizinischen Instrumenten. Zu vermeiden wäre dieses Problem bei der Sterilisation mittels energiereicher Strahlen, wie sie bei der industriellen Herstellung von Einmalmaterialien aus Kunststoffen angewendet werden. Jedoch ist diese Methode im Klinikbetrieb durch die sehr aufwendige Technik, die strengen Sicherheitsauflagen und die hohen Investitionskosten nicht generell anwendbar. (Zu Funktionsparametern und Anwendungsbereichen dieser Sterilisationsmethoden siehe Tabelle 1).

Tab.1: Traditionelle Sterilisationsverfahren unter Berücksichtigung ihrer Verfahrensparameter, der Anwendungsbereiche sowie der Vor- und Nachteile
(nach Borneff und Borneff 1991 und Wallhäußer 1995)

Verfahren	Funktions-Parameter	Anwendungsbereiche	Vorteile	Nachteile
Heißluftsterilisation	T: bis 200 °C p: atmosphär. t: ca. 1 h	thermostabile Materialien	einfache Handhabung, keine Korrosion	für thermolabile Materialien ungeeignet, Verpackungs- und Validierungsproblematik
Dampfsterilisation	T: 121-134 °C p: 2-3 bar t: ca. 1 h	thermostabile Materialien	einfache Handhabung	für thermolabile Materialien ungeeignet, Korrosion
Energiereiche Strahlen	⁶⁰ CO-Quelle Kathodenstrahlen	hauptsächlich medizinische Einwegartikel	keine toxischen Rückstände	extrem aufwendige Apparatur

p = Druck, T = Temperatur, t = Chargenzeit

Spätere Entwicklungen von Sterilisatoren betrafen Nieder-Temperatur-Verfahren, die zur Sterilisation von thermolabilen Geräten und Instrumenten tauglich waren. Die in der Vergangenheit im Klinikalltag am häufigsten verwendeten Verfahren sind die Nieder-Temperatur-Gassterilisationsverfahren mit Ethylenoxid oder Formaldehyd.

Seit den 40er-Jahren wurde die Ethylenoxid-(EO)-Sterilisation besonders in amerikanischen Krankenhäusern verwendet. Dieses Verfahren zeigt den Vorteil einer zuverlässigen Sterilisation nach geltenden DIN-Normen durch ein gutes Penetrationsvermögen, auch bei langen,

englumigen und endständig geschlossenen Lumina. Die bakterizide Wirkung beruht zum einen auf Alkylierungsreaktionen zur Inaktivierung von Nukleinsäuren und zum anderen auf einer Reaktion mit funktionellen Gruppen in Seitenketten von Proteinen bei einer Betriebstemperatur von 50 – 60 °C. Allerdings ist Ethylenoxid ein starkes Protoplasmagift mit mutagenen und karzinogenen Eigenschaften. Durch die Gefahr der chronischen Schädigung des Personals und der Patienten, die mit unzureichend ausgegasteten Materialien in Berührung kommen, sind besondere Vorsichtsmaßnahmen zu treffen und aufwendige Personalschulungen notwendig (TRGS 513, 2000).

Die Desorptionszeit ist aufgrund der starken physikalischen Adsorption und chemischen Absorption (Jordy 1990) bei diesem Verfahren am längsten und beinhaltet ein Restrisiko für den Patienten, falls die Ausgasungszeit aus Unkenntnis oder Zeitnot nicht eingehalten wird. Zur Vermeidung dieses Gefahrenpotentials ist ein umfangreicher Instrumenteneinsatz erforderlich. Ethylenoxid ist leicht entflammbar und bildet mit Luft in einem Konzentrationsbereich zwischen 2,6 und 100 Volumenprozent ein explosives Gemisch (Scherrer und Daschner 1995). Daher wird in der Regel im Unterdruckverfahren mit Gasmischungen aus 100 % Ethylenoxid aus vordosierten Gaskartuschen oder im Überdruckverfahren mit 85 % Kohlendioxidbeimengung gearbeitet. Das Verfahren ist nur mikrobizid wirksam, wenn die zu sterilisierenden Keime einen ausreichend hohen Wassergehalt besitzen und das Ethylenoxid mittels Diffusion die Membran der Keime passieren kann. Deshalb müssen die Sterilisationsgüter vor der EO-Zugabe mit Wasserdampf befeuchtet werden und Temperaturen von über 50 °C entstehen (Jordy 1990).

Die in Europa seit den 70er-Jahren eingesetzte Formaldehyd-(FO)-Sterilisation war die einzige Alternative zur EO-Sterilisation (Wallhäußer 1995) und ist ebenso mit einer Reihe von Nachteilen behaftet. Ein negativer Aspekt ist wie bei der EO-Sterilisation die aufwendige Handhabung durch Desorptionszeiten, die aufgrund der Toxizität und Rückstandsproblematik bestehen.

Ebenfalls besteht der Verdacht, dass Formaldehyd für den Menschen kanzerogen wirkt, weil im Tierversuch tumorinduzierendes Potential festgestellt wurde. Da das wirksame Agens der FO-Sterilisation sein aus wässriger Lösung stammendes Hydrat ist, das eine geringe Penetrationsfähigkeit besitzt, muss es in mehreren Schüben durch fraktioniertes Vakuum in den Sterilisator eingegeben werden (Jordy 1990).

Die FO-Sterilisation unterliegt wie diejenige mit EO den gleichen Sicherheitsanforderungen (TRGS 513, 2000) hinsichtlich Aufstellungsraum des Sterilisators, Abgasentsorgung und Schulung des bedienenden Personals. Jedoch kann unter bestimmten Voraussetzungen die Anwendung eines Formaldehydsterilisators laut der Gefahrstoff-Verordnung (2004) von der Erlaubnispflicht durch die Genehmigungsbehörde und von dem Nachweis von mindestens zwei Befähigungsschein-Inhabern nach TRGS 513 (2000) befreit sein. Aufgrund der genannten Defizite der FO- und EO-Sterilisation lag es nahe, nach Alternativen zur Behandlung thermolabiler Instrumente zu suchen.

Mit der Entwicklung der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation mittels H_2O_2 in den 80er Jahren wurde ein vielversprechendes Verfahren entwickelt, das die Behandlung von Sterilisationsgut ohne toxische Rückstände ermöglicht (Netter 1992). Die praktische Umsetzung dieser Technologie auf der Wirkstoffbasis von Wasserstoffperoxid-Plasma erfolgte durch die Entwicklung des Sterrad[®]-Verfahrens, das am 10.01.1993 in den USA seine erste Zulassung erhielt (Food and Drug Administration 1993).

Wesentlich fortschrittlich im Sinne der modernen Geräte- und Instrumententechnik erscheint die NTP-Sterilisation durch den vergleichsweise einfachen Installations- und Betriebsaufwand sowie das Fehlen wesentlicher toxischer Risiken. Nachteile ergeben sich durch die relativ eingeschränkte Palette der in diesem Verfahren sterilisierbaren Güter.

Zusammenfassend gibt Tab. 2 einen Überblick zum Vergleich der NTP-Sterilisation mit den Verfahren der FO- und der EO-Sterilisation.

Tab. 2: Vor- und Nachteile von Nieder-Temperatur-Sterilisationsverfahren
(modifiziert nach Dettenkofer und Daschner 1997, Bux 1997)

Ethylenoxid	Formaldehyd	Nieder-Temperatur-H₂O₂-Plasma
Temperaturen : 50 – 60 °C Sterilisierzeit: 20 min – 6 h	Temperaturen: 60 – 75 °C Sterilisierzeit: bis 90 min	Temperaturen: < 50 °C Sterilisierzeit: 45 – 90 min
Vorteile - gutes Penetrationsvermögen auch bei langen, englumigen und endständig geschlossenen Lumina	Vorteile - unter Geruchsschwelle nicht toxisch - Desorption noch im Sterilisator	Vorteile - keine toxischen Rückstände im Sterilgut, deshalb keine Auslüftzeiten erforderlich - materialschonend - einfache Installation - keine besondere Qualifikation zur Bedienung erforderlich - automatischer Zyklusabbruch, falls vorgeschriebene Prozeßparameter nicht eingehalten werden
Nachteile - toxisch - kanzerogen - allergisierend - erfordert speziell qualifiziertes Personal - hohe Investitionskosten (Abluftbehandlung, Entgasungsschränke) - lange Desorptionszeiten	Nachteile - toxisch - Verdacht auf krebserregendes Potential - mutagene Wirkung auf Bakterien, Insekten, verschiedene Pflanzen - starkes Allergen - schlechtes Penetrationsvermögen bei langen englumigen Gegenständen - stechender Geruch - umweltbelastend: Formaldehyd wird mit dem Abwasser entsorgt - erfordert speziell qualifiziertes Personal	Nachteile - Probleme bei blindendenden engen Lumina - bei langen, englumigen Hohlinstrumenten evtl. Booster erforderlich - nicht für Flüssigkeiten, Textilien, Papier, Pulver

1.2 Technologie der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation

Der Begriff Plasma beschreibt ganz- oder teilionisierte Gase und stellt neben fest, flüssig und gasförmig den vierten Aggregatzustand dar, in dem sich Materie befinden kann (Addy 1991). Diese reaktive Wolke von Ionen, Elektronen und elektrisch neutralen Teilchen entsteht durch sehr hohe Temperaturen oder durch starke elektrische bzw. magnetische Felder. Man unterscheidet in Hoch-Temperatur-Plasma mit Temperaturen größer 5000 °C und in Nieder-Temperatur-Plasma mit Temperaturen um 50 °C. Das Hoch-Temperatur-Plasma ist somit für Sterilisationszwecke nicht geeignet.

99 % der gesamten Materie im Universum befinden sich im Plasmazustand. Plasma kann in der Natur z. B. als Aurora borealis (Nordlicht) beobachtet werden.

Nieder-Temperatur-Plasma, auch glow discharge (Entladungsglimmern) genannt, ist vom Licht der Neonröhre bekannt. Das Plasma wird durch Wechselstrom erzeugt und durch ein elektromagnetisches Hochfrequenzfeld erhalten (Rose und Liston 1985). Mit steigender Leistung der Radiofrequenz nimmt proportional einerseits die bakterizide Wirkung des Plasmas zu, andererseits ist damit eine Temperaturerhöhung verbunden (Addy 1991). Verschiedene Gase können als Ausgangsmedium für das Plasma dienen, wie z. B. Sauerstoff, Stickstoff, Stickstoffoxid, Helium, Argon, Wasserdampf, Ammoniak, Wasserstoffperoxid-dampf, Peressigsäuregas. Je reaktionsfreudiger das eingebrachte Gas ist, desto reaktiver ist auch das gewonnene Plasma (Weidenfeller 1996).

Deshalb ist die antibakterielle Wirkung und die Toxizität der entstandenen Produkte entscheidend für die Auswahl des Plasma-Vorläufers. Die sporizide Aktivität des Wasserstoffperoxid-Plasmas hat sich gegenüber Vorläufern, wie H_2O , H_2 , N_2O , O_2 als das effektivste Verfahren erwiesen (Addy 1991). Deshalb benutzt das Sterrad[®]-Verfahren Wasserstoffperoxid als Vorläufer.

Weitere Gründe dafür sind die niedrige Bindungsenergie von ca. 213,7 kJ/mol, die zur Bildung der Radikale überwunden werden muss, und die Tatsache, dass die aktivierten Moleküle, die aus Wasserstoffperoxid erzeugt werden, besonders Hydroxyl-Radikale ($\cdot\text{OH}$) und Hydroxy-Radikale ($\cdot\text{O}_2\text{H}$), zu den reaktionsfreudigsten gehören, die man kennt

Addy 1991). Durch Erhöhung der H_2O_2 -Konzentration wird die bakterizide Wirkung des generierten Plasmas verstärkt (Addy 1991).

In der Sterilisationskammer des NTP-Sterilisators liegen Anode und Kathode, zwischen denen durch Anlegen einer Frequenz, z. B. für den Sterrad[®] 200 von 13,65 MHz, das primäre Plasma gebildet wird. Es kommt zum Zusammenstoßen von Wasserstoffperoxid-Molekülen, wodurch eine Vielzahl von Ionen, Elektronen und elektrisch neutralen Teilchen entstehen. Im Gegensatz zur Instabilität bei Atmosphärendruck, sind diese bei 0,6 torr einige Sekunden stabil. Je niedriger der Druck ist, umso höher ist auch die Plasmareaktivität (Jordy 1990).

Folgende Reaktionen der Wasserstoffperoxid-Moleküle in der Plasmawolke sind denkbar (Venugopalan u. Shih 1981):

1. $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot$ ($\text{HO}\cdot$ = Hydroxyl-Radikal)
2. $\text{HO}\cdot + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}\cdot + \text{HO}_2\cdot$ ($\text{HO}_2\cdot$ = Hydroperoxyl-Radikal)
3. $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2^*$ (H_2O_2^* = aktiviertes H_2O_2 -Molekül)
4. $\text{H}_2\text{O}_2^* \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{sichtbare und/oder UV-Strahlung}$
5. $\text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}\cdot$ ($\text{O}\cdot$ = Sauerstoff-Radikal)
6. $\text{HO}\cdot + \text{O}\cdot \rightarrow \text{H}\cdot + \text{O}_2$ ($\text{H}\cdot$ = Wasserstoff-Radikal)
7. $\text{HO}\cdot + \text{HO}_2\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
8. $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}\cdot + \text{HO}\cdot$
9. $\text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot \rightarrow \text{HO}_2\cdot + \text{H}\cdot$

Die Reaktionen 1–9 laufen im Plasma kontinuierlich ab. Bevorzugt werden aus Wasserstoffperoxid jedoch das Hydroxyl- und daraus das Hydroperoxyl-Radikal (Reaktionen 1+2) gebildet. Die z.B. aus den Reaktionen 1, 2, 5, 8 und 9 entstandenen Radikale wirken durch Wechselwirkung mit Zellmembranen, Enzymen und Nukleinsäuren mikrobizid.

Die Mehrheit der Anforderungen, die an ein ideales Niedrigtemperatur-Sterilisationsverfahren gestellt werden, kann die NTP-Sterilisation erfüllen (Rutala 1996). Die NTP-Sterilisation ist nicht toxisch, die TRGS 513 (2000) wird nicht berührt. Umfangreiche Tests, wie z. B. In-vitro-Thromboresistenztests, Komplement-Aktivierungstests, Zytotoxizitätstests, Okular-Irritationstests (Draize-Test), Haemolysentests sowie die Prüfung der akuten systemischen

Toxizität (NAmSA, Northwood, Boston, Cincinnati) hatten zum Ergebnis, dass einzelne und wiederholte Sterilisationen bei vorher nicht toxischen und nicht irritierenden Materialien zu keinem Auftreten eines toxikologischen Risikos führten.

Nach der NTP-Sterilisation von medizinischen Geräten besteht nach derzeitigem Kenntnis- und Beurteilungsstand keine Gefährdung für den Patienten (Martius u. Janzen 1993). Das wirkende Agens ist nur solange existent, wie Energie zugeführt wird. Nach Beendigung der Plasmaphase fällt das Plasma innerhalb von Mikrosekunden in sich zusammen (Hilbert 1997) und im Falle des Einsatzes von Wasserstoffperoxid bleiben vorwiegend Wasser, Sauerstoff und andere nichttoxische Endprodukte zurück.

Das Sterilisiergut kann ohne Abkühlungsphase oder Auslüftung sofort wieder eingesetzt werden. Zudem passiert das gesamte Gas in der Kammer in der Entlüftungsphase einen Filter und persistierendes Wasserstoffperoxid reagiert kupferkatalysiert zu Wasser und Sauerstoff. Im Vergleich mit einer zu Reinigungszwecken verwendeten 0,3%igen Wasserstoffperoxid-Lösung ist die über Rückstände in den Körper eingebrachte Konzentration minimal und toxikologisch nach Netter (1992) ohne Gewicht, da Wasserstoffperoxid durch die ubiquitäre Katalase in den Zellen sofort gespalten wird.

Aus humantoxikologischer Sicht kommen Scherrer und Daschner (1995) zu der Aussage, dass in Bezug auf die Gefährdung von Patienten und Personal die NTP-Sterilisation im Vergleich zur Ethylenoxid- und der Formaldehyd-Gassterilisation das bei weitem vorteilhafteste Verfahren ist.

Durch die hohe Varianz der Einsatzmöglichkeiten des NTP-Verfahrens kann sehr unterschiedliches Sterilisiergut, das zur selben Zeit verfügbar sein muss, in einem Zyklus eingebracht werden, ohne dass ein nachträgliches Einsortieren von thermolabilen Instrumenten notwendig wäre (Dräger u. Prüter 1990, Förtsch et al. 1993). Folgendes Sterilisiergut wurde vom Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg zur Behandlung mit dem NTP-Verfahren empfohlen (Weidenfeller 1996): Lichtleiter, flexible Endoskope, Kauterelektroden, Katheter, Kabel, alle Optiken, elektrische Teile, Kameras, Teile von Ultraschallgeräten, flexible Bougies ohne Lumen.

Die NTP-Sterilisation mit H_2O_2 als wirksames Agens erwies sich als effektiv in der Elimination von *Cryptosporidium parvum* (Barbee et al. 1999), Human Immunodeficiency Virus Typ 1, Hepatitis A und B Virus, Respiratory Syncytial Virus, Vaccinia Virus, Herpes Simplex Virus Typ 1 und Poliovirus Typ 2 (Vickery et al. 1999). Yan et al. (2004) konnten zeigen, dass mit Prionen kontaminierte Edelstahldrähte zu keiner Erkrankung von Hamstern führten, wenn sie vor der Implantation in die Gehirne von Hamstern mit einem alkalischen Detergenz behandelt und in einem NTP-Sterilisator aufbereitet wurden. Im Gegensatz dazu kam es zu einer Erkrankung von 2 von 10 Testtieren, wenn anstelle der Aufbereitung im NTP-Sterilisator eine Autoklavierung bei 134 °C für 18 Minuten erfolgte.

Da es sich bei der NTP-Sterilisation um ein „trockenes“ Sterilisationsverfahren mit einer Luftfeuchtigkeit von nur 5 % handelt, kann eine korrosive Wirkung ausgeschlossen werden. Desweiteren konnte die hohe Materialverträglichkeit durch Versuche, wie z. B. den Gewichtsvarianten-Test, die Kontaktwinkelmessung, eine Oberflächenanalyse per Elektronenmikroskop, nachgewiesen werden, da keine Korrosion oder Abnutzung der Oberfläche feststellbar war. Auch der atomare Wasserstoff führte zu keiner Schädigung von z. B. gehärtetem Stahl (Förtsch et al. 1993).

In Tierversuchen wurden Bioimplantate (Gehörknöchelchen, Sehnenmaterial) mittels NTP wirkungsvoll sterilisiert. Jedes andere Verfahren, sei es Ethylenoxid, Formaldehyd, γ -Strahlung, trockene oder feuchte Hitze, hätte diese Art von Bioimplantaten irreversibel geschädigt (Eggers et al. 1995). Zudem konnte auch nach vielfacher NTP-Sterilisation von Polyethylen-Modellen für Endoprothesen im Vergleich zur γ -Sterilisation keine nennenswerte Oxidation und damit Haltbarkeitsverkürzungen sowie Verschiebungen des Kristallgitters, Veränderungen der Viskosität und des Molekulargewichtes nachgewiesen werden (Förtsch et al. 1999).

Nach Jordy (1990) wurde auch nach mehrfacher Behandlung von mikrochirurgischen Instrumenten keine Veränderung des Materials festgestellt (Jordy 1990).

Bezüglich der Wirtschaftlichkeit gilt die NTP-Sterilisation als kostengünstige Aufbereitungsmethode, wenn der Standort des Gerätes möglichst in der Nähe des Anwenders ist und eine optimale Logistik stattfindet (Adler et al. 1998). Außerdem müssen durch die relativ kurze

Sterilisationszeit im Vergleich zur EO- und FO- Sterilisation weniger der benötigten Instrumente angeschafft werden. Betrachtet man die Kosten für die Sterilisation selbst, liegen diese bei der NTP-Sterilisation deutlich unter denen der Ethylenoxid-Sterilisation und wenig über denjenigen der Formaldehyd-Sterilisation. Gegenüber der Dampfsterilisation weisen die thermostabilen Materialien zwar eine verlängerte Lebensdauer auf, jedoch muss auch hier eine gewisse Korrosion auf lange Sicht bei wirtschaftlichen Überlegungen berücksichtigt werden (Adler et al. 1998).

Die Markteinführung der NTP-Sterilisation erfolgte 1994 mit dem Sterrad[®] 100 durch die Firma Advanced Sterilization Products (A.S.P., Johnson & Johnson, Irvine, USA). Eine Verbesserung dieser Version wurde durch die Bildung eines Luftplasmas (Vorplasma) in der initialen Vakuumphase und einer doppelten Wirkstoffinjektion mit jeweils anschließenden Diffusions- und Plasmaphasen erreicht (Jacobs 1997). Mit dieser Version Sterrad[®] 100 S wurde 1996 die Sterilisationszeit verkürzt und die Sterilisationssicherheit verbessert. Im Frühling 2000 stand das erste Gerät der neuen Generation Sterrad[®] 200 in Europa zur Verfügung.

Mit dem Verfahren wurde ein vergleichsweise längerer Zyklus eingeführt. Durch die Vergrößerung des Kammervolumens auf 150 l gegenüber 100 l im Sterrad 100 ergeben sich eine verlängerte initiale Vakuumphase und Endphase.

Systematische Untersuchungen des Leistungsvermögens dieser neuen Geräteversion hinsichtlich der mikrobiziden Wirkung in realen Instrumenten lagen zu Beginn dieser Arbeit noch nicht vor und wurden somit als Ziel dieser Arbeit definiert.

2 Zielsetzung der Arbeit

Unsere Untersuchungen hatten zum Ziel, die Leistungsgrenzen und Möglichkeiten der Sterilisation durch eine neue Version des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens Sterrad[®] 200 bei der Behandlung von englumigen Objekten aufzuzeigen. Ein besonderes Problem besteht z. B. in der Routinebehandlung von Endoskopen aufgrund ihrer Dimensionen und komplexen Materialbeschaffenheit.

Aufbauend auf den Versuchen der Arbeitsgruppe Borneff-Lipp et al. (1997) in den Geräteversionen Sterrad[®] 100 und Sterrad[®] 100 S, verwendeten wir ebenfalls exemplarisch gewählte flexible und starre Endoskope. Dabei interessierte, inwieweit die Dimensionierung des Lumens und die Prüfkörperlänge einen Einfluss auf das Sterilisationsergebnis ausübt. Das Stahldrahtgeflecht bzw. der Stahlmantel der flexiblen bzw. starren Endoskope schirmt dessen Innenlumen wie durch einen Faradayschen Käfig von den hochfrequenten Wellen ab. Deshalb kann Wasserstoffperoxid-Plasma im Inneren der Prüfkörper nicht oder nur in geringem Ausmaß gebildet werden. Daher kann vermutlich nur diffundiertes Wasserstoffperoxid-Plasma oder Wasserstoffperoxiddampf im Innenlumen wirken. Die Diffusion ist durch die langen englumigen Prüfkörper erschwert.

Unter bestimmten Bedingungen ist nach Angaben des Geräteherstellers die Verwendung eines Wirkungsverstärkers in den Geräteversionen Sterrad[®] 100 und Sterrad[®] 100 S notwendig. Von großer Bedeutung für die Praxis war daher, ob bei der neuen Version Sterrad[®] 200 auf den Einsatz eines Wirkungsverstärkers verzichtet werden kann, da dieser in der Praxis eine Risikoquelle für falsche Handhabung darstellt.

3 Material und Methodik

3.1 Testgerät

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurde ein Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisator vom Typ Sterrad[®] 200 (A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) mit spezieller Software-Ausstattung verwendet (Abb. 1).



Abb. 1: Sterrad[®] 200

(A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)

Dadurch konnte das Testgerät im sog. Halbzyklus betrieben werden, d. h., dass Anteile bestimmter Phasen des Sterilisationsprozesses verkürzt bzw. ausgelassen wurden. Diese Halbzyklenmethode (EN ISO 14937, 2001), auch „Overkill“ genannt, ist eine der am häufigsten genutzten Methoden zur Validierung von Sterilisationsprozessen. Diese Methode beruht darauf, dass ein Bioindikator mit 10^6 Mikroorganismen in der halben Einwirkzeit des Gesamtsterilisationsprozesses eine Keimreduktion von 6 log-Stufen attestiert. Der zweite Halbzyklus würde bei gleichen Prozessparametern nochmals eine Reduktion um 6 log-Stufen erbringen, wodurch das Sterilisationssicherheitsniveau (SAL) von 10^{-6} erreicht wird.

Wichtigste Voraussetzung für diese Methode ist eine bei halblogarithmischer Darstellung lineare Absterbekurve des Testkeims, die für den ersten Halbzyklus nachgewiesen sein muss. Für den zweiten Halbzyklus kann die Gerade um weitere 6 log-Stufen bis zum Erreichen des Sterilitätssicherheitsniveaus 10^{-6} (\log_{10} Überlebende = -6) extrapoliert werden (Abb. 2, Jacobs und Smith 1998).

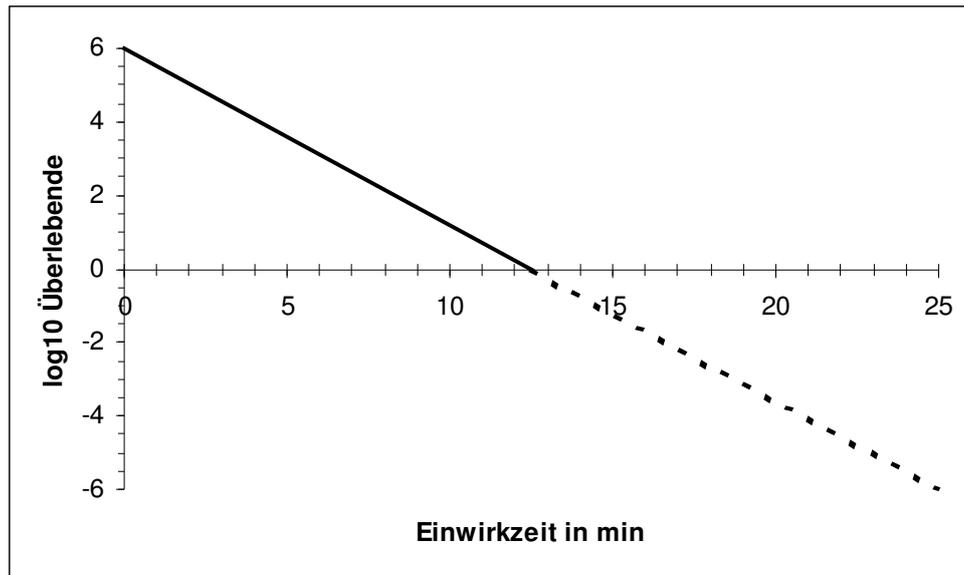


Abb. 2: Grafische Darstellung der Halbzyklenmethode
(modifiziert Jacobs und Smith 1998)

Die Verwendung der Halbzyklenmethode dient ausschließlich Testzwecken, um die Wirksamkeitsgrenzen des Sterilisators herauszufinden. Die Geräte für die Routine können ausschließlich im Vollzyklus betrieben werden.

Der verwendete Sterrad[®] 200 kann für die Testsituation ebenfalls wie die vorhergehende Version 100 S im kurzen Halbzyklus für die Sterilisation ohne und im langen Halbzyklus für die Sterilisation mit Diffusionsverstärker betrieben werden.

Der Sterilisationsprozess durchläuft bei den verschiedenen Halbzyklen verschiedene Phasen, deren Zeitspannen der Tabelle 3 zu entnehmen sind.

Tab. 3: Phasenzeiten der Version Sterrad® 200 im kurzen und langen Halbzyklus bei einer Betriebsdauer von 66 min bzw. 89 min.

Phasen	kurzer Halbzyklus (min)	langer Halbzyklus (min)
Vakuumphase	30	45
Injektionsphase	7	7
Diffusionsphase	2	10
Plasmaphase	7	7
Belüftungsphase	20	20

Im einzelnen handelt es sich dabei um folgende physikalisch-chemischen Vorgänge (Abb. 3 und 4):

(1) Vakuumphase („V“):

Während dieser Phase wird ein Hochvakuum von 0,6 torr mittels Drehschieber-
vakuumpumpe erzeugt. Die Dauer beträgt im kurzen Zyklus ca. 30 min und bei der
Anwendung des langen Zyklus bis zu 45 min, da in diesem Modus das Vakuum viermal
nach Belüftungsphasen von 1 min erzeugt wird. Diese Hochvakuumzeiten sind sowohl für
den Testzyklus (half cycle), als auch für den Routinezyklus (full cycle) zutreffend.
Zudem wird in dieser Phase durch das Anlegen einer hochfrequenten Spannung ein Luft-
oder Preplasma (ohne Wirkstoff) erzeugt, was zur Konditionierung des Sterilisiergutes
dient. Dadurch wird eventuell vorhandene Restfeuchtigkeit schneller abgedampft und
damit die Erzeugung des Hochvakuums unterstützt (Rudolph und Hilbert 1997). Diese
sehr geringen Druckverhältnisse werden zur Erzeugung des Nieder-Temperatur-Plasmas
benötigt.

In der Praxis wird man nach erfolgter Desinfektion und Reinigung nicht immer völlig
trockene Sterilisiergüter vorfinden. Deshalb ist es sinnvoll, dass ein Sterilisations-
verfahren diese Praxisbedingungen berücksichtigt. Bei der NTP-Sterilisation wird deshalb
eine Form plasmaunterstützter Vakuumtrocknung eingesetzt. Der Kammerdruck fällt bis
weit unter den Gleichgewichtsdampfdruck des Wassers durch das Evakuieren der
Sterilisationskammer. Das dem Sterilisiergut anhaftende Wasser beginnt zu verdampfen.

Die benötigte Verdampfungswärme wird dem Sterilisiergut und seiner direkten Umgebung (Sterilisationskammer) entzogen. Dadurch kühlt das restliche Wasser stark ab und kann im ungünstigsten Fall gefrieren.

Das Eis kann dann nur noch durch Sublimation in den gasförmigen Aggregatzustand übergehen. Die Sublimation erfolgt im Gegensatz zum Verdampfen um ein Vielfaches langsamer. Infolgedessen wird möglicherweise der angestrebte Unterdruck nicht in der dafür vorgesehenen Zeit erreicht und die Sterilisation noch in der Vakuumphase abgebrochen (Spencer und Addy 1996). Sollte das Vakuum trotzdem erreicht werden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass das Eis enge Lumina im Sterilisiergut blockiert und die Sterilität nicht erreicht wird. Einerseits wird diese Problematik durch die Sterilisationstemperatur von 50 °C bekämpft und andererseits sorgt das elektromagnetische Wechselfeld für ausreichend Energie zur Verdampfung des Wassers.

Außerdem kann man davon ausgehen, dass die Wechselfeldspannung in metallischen Sterilisiergütern Wirbelströme erzeugt, die eine zusätzliche, wenn auch nur geringfügige Erwärmung zur Folge haben dürften. Am Ende der Vakuumphase wird durch Einlaß steril gefilterter Raumluft in der Sterilisationskammer wieder Atmosphärendruck hergestellt (Jacobs 1997).

(2) Injektionsphase („I“):

In die Kammer werden über vier Einlässe 2500 µl einer 58%igen Wasserstoffperoxid-Lösung injiziert und im Hochvakuum verdampft. Dieser Vorgang ist für beide Zyklusversionen gleich und dauert 7 min. Am Ende dieser Phase liegt der Kammerdruck zwischen 12 und 14 torr. Bei der Geräteversion Sterrad[®] 200 findet erstmals eine Kontrolle der vorhandenen Wasserstoffperoxidkonzentration während des Sterilisationszyklus statt.

(3) Diffusionsphase („D“):

Der injizierte gasförmige Wirkstoff diffundiert in der gesamten Kammer aufgrund des geringen Druckes. Dadurch verteilt sich der Wasserstoffperoxiddampf auf den Ober-

flächen der eingelegten Sterilisiergüter. Dabei herrscht durch den Einlaß sterilgefilterter Luft ein Druck zwischen 15 und 30 torr in der Sterilisationskammer, um die Diffusion zu verbessern. Diese Phase dauert 2 min im kurzen Halbzyklus (Abb. 3) und 10 min im langen Halbzyklus (Abb. 4). Am Ende dieses Zyklusabschnittes wird durch erneute Vakuumerzeugung ein Druck von 0,6 torr erreicht, um Plasma erzeugen zu können.

(4) Plasmaphase („P“):

Durch Anlegen einer Wechselspannung wird Nieder-Temperatur-Plasma mit einer Leistung von 485 Watt erzeugt, welches 7 min im kurzen und langen Halbzyklus einwirkt. Die diffus in der Sterilisationskammer verteilten Wasserstoffperoxid-Moleküle werden angeregt und zum größten Teil in Radikale gespalten. Diese hochreaktiven Molekülbruchstücke interagieren mit bestimmten Zellkomponenten (Zellmembranen, Enzyme, Nukleinsäuren) der abzutötenden Mikroorganismen und unterbrechen so deren Lebensfunktion (Crow 1995). Durch die Interaktion verlieren die Radikale ihre hohe Energie und reagieren entweder zu Wasser und Sauerstoff oder zu anderen nahezu nichttoxischen Endprodukten (Feldman und Hui 1997). Die Temperatur in der Kammer von 50 °C wird während der gesamten Sterilisation nicht überschritten.

(5) Belüftungsphase:

Die Sterilisationskammer wird mit steril gefilterter Raumluft belüftet und der Atmosphärendruck hergestellt.

Die Dauer des kurzen Halbzyklus beträgt 66 min und der Durchlauf im langen Halbzyklus 89 min. Anschließend öffnet sich das Gerät bei der Version Sterrad® 200 auf der Gegenseite und das Sterilgut kann auf der räumlich getrennten „sterilen Seite“ entnommen werden.

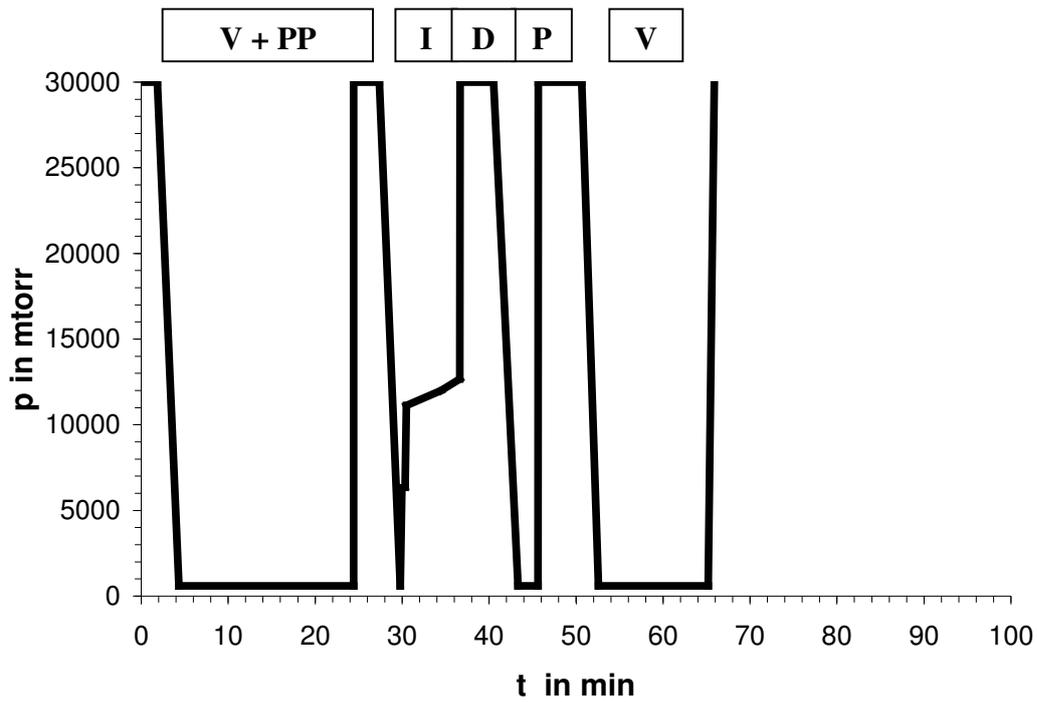


Abb. 3: Druckverlauf des Teststerilisationszyklus im Sterrad[®] 200 (kurzer Halbzyklus)

- | | | | |
|----|-----------------|---|-----------------|
| V | Vakuumphase | D | Diffusionsphase |
| PP | Preplasmaphase | P | Plasmaphase |
| I | Injektionsphase | | |

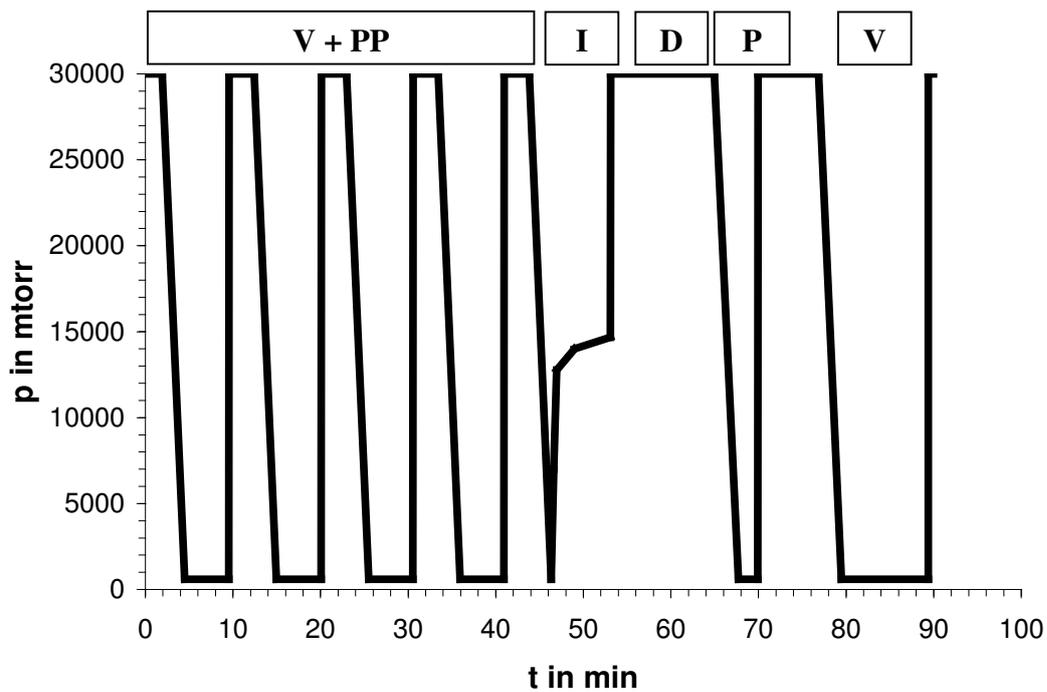


Abb. 4: Druckverlauf des Teststerilisationszyklus im Sterrad[®] 200 (langer Halbzyklus)

3.2 Prüfkörper

In Anlehnung an bereits durchgeführte Versuche der Arbeitsgruppe Borneff-Lipp et al. (1997, 1998) in den Geräteversionen Sterrad[®] 100 und Sterrad[®] 100 S verwendeten wir flexible und starre Endoskope als Prüfkörper, um eine entsprechende Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Im Einzelnen handelte es sich dabei um folgende Produkte des Herstellers Richard Wolf GmbH, Knittlingen (Abb. 5-8):

1. Prüfkörper „flexibles Cranioskop“ ohne Optik (Länge: 70 cm, Innendurchmesser: 0,6 mm):



Abb. 5: Flexibles Cranioskop

2. Prüfkörper „starres Ureterorenoskop“ (Länge: 48,5 cm, Innendurchmesser: 1,7 mm):



Abb. 6: Starres Ureterorenoskop

3. Prüfkörper „flexibles Gastroskop“ ohne Optik (Länge: 116 cm, Innendurchmesser: 2,8 mm):



Abb. 7: Flexibles Gastroskop

4. Prüfkörper „starres Laparoskop“ (Länge: 33 cm, Innendurchmesser: 5 mm):



Abb. 8: Starres Laparoskop

3.3 Validierungssets

Um während der Versuche eine Routinebeladung des Sterilisators zu simulieren, wurde das Gerät mit jeweils vier Sterrad[®]-Trays (Art.-Nr. 13621, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) bestückt. Jedes Tray enthielt dabei die gleiche Art und Anzahl medizinischer Instrumente mit einer Masse von 2 kg. Dabei handelte es sich um folgendes Set mit metallischen und nichtmetallischen Werkstoffen (Zusatzbeladung, Tab. 4, Abb. 9):

Tab. 4: Art und Anzahl medizinischer Instrumente in einem Tray

Instrument	Anzahl	Instrument	Anzahl
Fiberoptic Cable	2	Adson Elevator	2
Mathieu Retractor	2	Guedel Airways	8
Richardson Retractor	2	Biopsy Brush	2
Codman Rongeur	2	Sealing Cap (red)	2
Backhaus Towel Clamp	6	Sealing Cap (gray)	2
Allis Tissue Forcep	2	Retractor	2
Suture Wire Scissors	2	Misc. Clamp (Forcep)	2
Rumel Thoracic Forcep	2	Trocar	2
Potts-Smith Tissue Forcep	2	Chisel	2
Children Dressing Forcep	2	Natural Rubber Tubing (1,30 m)	1



Abb. 9: Zusatzbeladung

Zusätzlich wurde in jedes Tray ein Sterrad[®]-Chemoindikatorstreifen (Abb. 10, Art. Nr. 14100, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) zur Überprüfung der Injektion von H₂O₂ während des Sterilisationsprozesses beigelegt. Bei diesem Vorgang veränderte der Sterrad[®]-Chemoindikatorstreifen seine Farbe von rot nach gelb und zeigt damit an, dass der Wirkstoff mit dem Streifen in Kontakt war, nicht jedoch, ob die Parameter, wie z. B. Wirkstoffkonzentration und Zeit eingehalten wurden und somit die Sterilität gewährleistet ist (Schneider et al. 2000).

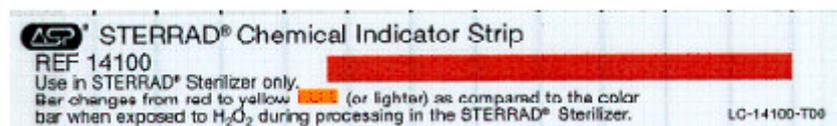


Abb. 10: Sterrad[®]-Chemoindikatorstreifen vor der Einwirkung von H₂O₂ (A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)

Entsprechend DIN 58953 Teil 1 (1987) für Sterilgut wurden die Trays doppelt in Sterrad[®]-Sterilisationsbögen (Abb. 11, Art. Nr. 10740, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) verpackt und mit Sterrad[®]-Chemo-Indikatorband (Art. Nr. 14200, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) verschlossen.



Abb. 11: Doppelt in Sterrad[®]-Sterilisationsbögen verpacktes Sterrad[®]-Tray (A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)

3.4 Diffusionsverstärker

Manche Prüfkörper verlangen aufgrund ihres zu geringen Innendurchmessers oder zu großer Länge eine Wirkungsverstärkung. Mittels eines sog. Diffusionsverstärkers (Abb. 12, Sterrad[®] Booster, Art. Nr. 15400, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) wurde über einen dem Prüfkörper angepassten Adapter aus Silikon (Art. Nr. 15400 oder 15403, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) zusätzlich 145 µg 58%iges Wasserstoffperoxid in das Lumen des Endoskops befördert. Die Aktivierung dieses Hilfsmittels erfolgte durch Abziehen eines Sicherungsringes und einer 360°-Drehung des Diffusionsverstärkerkopfes frühestens 10 min vor Testbeginn. Die zusätzliche Menge an mikrobizidem Wirkstoff verdampft während der Vakuumphase und diffundiert in das Innere des Prüfkörpers.

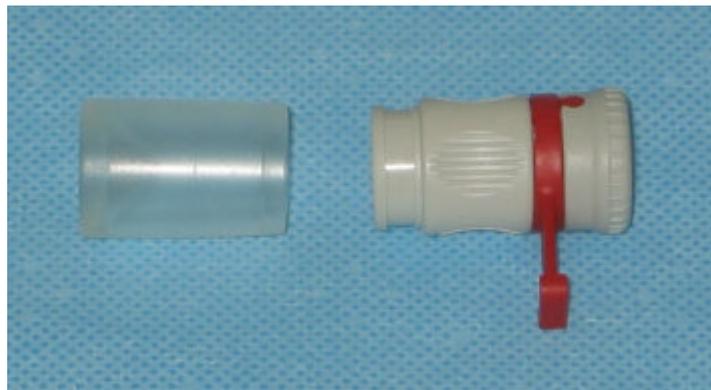


Abb. 12: Diffusionsverstärker mit Adapter (A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)

3.5 Testorganismen

Für sämtliche Versuche wurden Sporen von *Geobacillus (G.) stearothermophilus* ATCC 7953 als Testorganismen eingesetzt. Der ursprüngliche Stamm („mother crop“) wurde von Prof. Irving Pflug (Environmental Sterilization Laboratory, University of Minnesota, Minneapolis, USA) hergestellt und von uns weitergezüchtet. Die daraus hergestellte Sporenstamm suspension hatte eine Ausgangskeimzahl von $2,0 \times 10^9$ koloniebildenden Einheiten pro ml (KBE/ml). Der D-Wert für die Dampf-Sterilisation der in den Versuchen verwendeten Chargen von *G. stearothermophilus* betrug in Suspension $D_{121^\circ\text{C}} = 4,3$ min

(Analyse von Prof. Pflug vom 11.01.2001). Der D-Wert für die Plasmasterilisation (variable Diffusionszeiten, konstante Plasmazeit von 15 min, 50 % der Zusatzbeladung) wurde in Polyethylen-Röhrchen (Länge 31 cm, Innendurchmesser 6 mm) bei 2,65 min notiert.

Die geforderten Eigenschaften des Testkeims für unsere Versuche fanden wir bei *G. stearothermophilus*-Sporen in der bekannt hohen Resistenz gegenüber NTP-Sterilisation unter den untersuchten bakteriellen Sporen (Peters und Borchers 1995, Koller und Lessky 1996), die infektiologisch unproblematisch zu verwenden sind (Costin und Grigo 1974) und der Konstanz der Keimzahl bei längerer Lagerung, wie Versuche von Borneff et al. (1995) zeigten. Desweiteren kommt der verwendete Testkeim auch in der Formaldehyd-Sterilisation (nach DIN EN 866 Teil 5, 2000) und Dampfsterilisation (nach DIN EN 866 Teil 3, 1997) zum Einsatz; somit ist ein Vergleich zwischen den verschiedenen Sterilisationsverfahren möglich.

3.6 Keimzahlbestimmung der Sporenstammsuspension

Die Keimzahl der Sporenstammsuspension von *G. stearothermophilus* ATCC 7953 wurde im dreifachen Ansatz ermittelt, um einen Ausgangswert für die Berechnung zur Herstellung der Gebrauchssuspension zu erhalten. Nachdem die Stammsuspension für 2 min auf einem Reagenzglasschüttler (Reax top control, Heidolph, Art.-Nr. 444E1380, Merck-Eurolab, Darmstadt) geschüttelt wurde, sind unter sterilen Voraussetzungen dreimal 10 µl der Suspension zu 9990 µl sterilem, doppelt destilliertem Wasser pipettiert worden. Um eine Verunreinigung der Suspension durch vegetative Keime zu verhindern, wurden die Verdünnungen nach dem Schütteln für weitere 2 min, für 15 min auf 100 ± 1 °C erhitzt und sofort danach für 15 min im Eisbad gekühlt. Bei den anschließend durchgeführten dezimalen Verdünnungsstufen wurde zwischen jeder Verdünnung 1 min lang geschüttelt.

Die Anzüchtung erfolgte mit Hilfe des Koch'schen Plattengussverfahrens entsprechend dem Vorgehen von Bodendorf (2000). Ein Milliliter der Verdünnungsstufen 10^{-6} und 10^{-7} wurde jeweils in eine 94 x 16 mm Petrischale (Art. Nr. 633102, Greiner, Frickenhausen) dreifach pipettiert. Danach wurden somit in 18 Petrischalen jeweils 20 ml Caseinpepton-Sojamehlpepton (CASO)-Agar (Art. Nr. 5458, Merck, Darmstadt) eingegossen und die Platten für ca. 45 min bei Raumtemperatur stehen gelassen, bis der Agar erstarrt war.

Die Petrischalen mit dem erstarrten Agar wurden für 48 h bei 56 ± 1 °C bebrütet, wobei sie mit dem Deckel nach unten und in Folie verpackt gelagert wurden. Hierdurch sollte das Kondenswasser von den Kolonien ferngehalten werden und ein Austrocknen während der Inkubation verhindert werden. Um eine möglichst hohe Genauigkeit zu erhalten, wurden bei der Auswertung der koloniebildenden Einheiten nur Ergebnisse berücksichtigt, deren Keimzahlen zwischen 30 und 300 Kolonien betragen (American Public Health Association 1985).

3.7 Gebrauchssuspension

Für die Testläufe war eine Konzentration pro Keimträger von $1,0-2,0 \times 10^6$ Koloniebildenden Einheiten (KBE)/ml zu erreichen. Bei höheren Konzentrationen kann es einerseits zu Koagulationsphänomenen kommen, andererseits wird zur Wirksamkeitsprüfung eines Sterilisationsverfahrens nach dem Deutschen Arzneibuch (DAB 2005) und der United States Pharmacopeia (USP) 29 - National Formulary (NF) 24 (2006) eine Keimreduktion von 6 log-Stufen gefordert. Die Keimzahl der Sporenstammsuspension lag bei mindestens 10^8 KBE/ml. Deshalb musste eine Gebrauchssuspension vor der Kontamination durch Verdünnung der Sporenstammsuspension hergestellt werden.

Zur Verbesserung der Benetzbarkeit der Keimträgeroberfläche und Reduzierung der Aggregation der Sporen enthielt die Gebrauchssuspension 0,1 % Tween 80.

3.7.1 Herstellung der Gebrauchssuspension

Abhängig von der erforderlichen Gebrauchssuspensionsmenge und der Keimzahl der Sporenstammsuspension wurden die entsprechenden Teilvolumina 10%iges Tween 80 und Aqua bidest. errechnet, damit die gewünschte Keimzahl von $2,0 \times 10^6$ erreicht wurde. Die benötigte Menge bestimmte sich durch die Anzahl der zu kontaminierenden Keimträger, wobei ein Keimträger mit 10 µl Gebrauchssuspension versehen wurde. Zunächst wurde unter einer sterilen Sicherheitswerkbank (Herasafe Typ HSP 12, Art.-Nr. 51012206, Heraeus, Gera) das erforderliche Volumen an Aqua bidest. in ein steriles Gewebekultur-Röhrchen (Art.-Nr. 525Q4210, Merck, Darmstadt) pipettiert. Dann wurde das erforderliche Volumen Tween 80

dazugegeben. Die Sporenstammsuspension wurde auf einem Reagenzglasschüttler für 2 min kräftig geschüttelt, um danach für 2 min in einem Eisbad zu verweilen. Nachfolgend wurde wiederum für 2 min geschüttelt und dann die berechnete Menge Stammsuspension mit einer Pipette abgenommen und zu dem mit Tween 80 versetztem bidestillierten Wasser gegeben. Das Gewebekultur-Röhrchen mit der hergestellten Gebrauchssuspension wurde 30 s geschüttelt und bis zur Kontamination der Keimträger bei 6–8 °C gelagert (Bodendorf 2000). Die Keimzahl dieser Gebrauchssuspension wurde nun in gleicher Weise wie für die Sporenstammsuspension bestimmt und somit vor der Kontamination überprüft.

3.7.2 Reinheitskontrolle

Die Reinheitskontrolle wurde von der Sporenstammsuspension und der Gebrauchssuspension vor der Inokulation der Keimträger durchgeführt, um gegebenenfalls Verunreinigungen durch Bakterien und Pilze festzustellen.

Unter sterilen Voraussetzungen wurden jeweils 10 µl Suspension abpipettiert und auf eine Platte mit Sabouraud-Agar zur Erfassung von Pilzverunreinigungen (Art.-Nr. PO 5001 A, Oxoid, Wesel), zwei Platten mit Blutagar (Art.-Nr. 1.10455, Merck, Darmstadt) sowie auf zwei CASO-Agar-Platten zur Darstellung vorhandener Bakterien gegeben und ein Drei-Ösen-Ausstrich angelegt. Die Petrischalen wurden mit ihrem Deckel nach unten in Plastikfolie verpackt. Die Sabouraudplatte wurde für 7 Tage bei 22 °C bebrütet und die restlichen Platten für 48 Stunden, wobei jeweils eine Platte von einem Medium bei 37 °C bzw. 56 °C inkubiert wurde. Nach der entsprechenden Zeit wurde auf Reinheit überprüft. Kolonien, die auf CASO-Agar oder Blutagar bei 56 °C gewachsen waren, wurden auf ihre Morphologie unter dem Mikroskop (Olympus Model CH40RF200, Art.-Nr. 9D07784, Olympus Optical. Co., LTD.) untersucht. Wenn keine Anzeichen für eine Fremdkontamination der Suspensionen vorhanden waren, konnten diese verwendet werden.

3.8 Keimträger

Die Testkeime wurden möglichst homogen auf spezielle Oberflächen („Keimträger“) aufgebracht. Für das Cranioskop und Ureterorenoskop wurde wegen ihrer engen Lumina V4A

Stahldraht (Abb. 13, Art.-Nr. 99057801, Weidling GmbH, Berlin) mit einem Durchmesser von 0,3 mm und einer Länge von ca. 1,5 cm als Keimträger gewählt. Das Gastroskop und das starre Laparoskop wurden mit Stahlcoupons der Größe 10 mm x 2 mm (Abb. 14, Art.-Nr. 99056700, Weidling GmbH, Berlin) bestückt. Versuche, bei denen der Keimträger unter sterilen Bedingungen ohne vorherige Teilnahme an einem Sterilisationszyklus durch den Prüfkörper gezogen wurde, zeigten eine hohe Reproduzierbarkeit bei der Rückgewinnung der Testkeime. Der V4A Stahldraht wurde am Stück geliefert und auf einem Reagenzglasgestell aus Edelstahl (Art.-Nr. 212Q6480, Merck, Darmstadt) aufgespannt. Beide Keimträgersorten wurden mit 70%igen Ethanol entfettet, um die Benetzbarkeit zu erhöhen. Das Reagenzglasgestell mit dem aufgespannten V4A-Stahldraht und die -Stahlcoupons wurden in Sterilisationsschläuche eingeschweißt und bei $121 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 15 min im Varioklav Typ 400 EC (Art.-Nr. 140300697, H&P GmbH, Oberschleißheim) sterilisiert. Das Sterilgut wurde bis zur Inokulation bei Zimmertemperatur gelagert.



Abb. 13: Keimträger Stahldraht

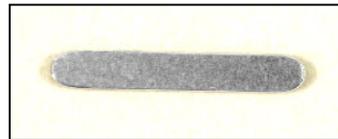


Abb. 14: Keimträger Stahlcoupon

3.8.1 Kontamination der Keimträger

Die Kontamination der Keimträger erfolgte nach dem von Okpara (1998) vorgeschlagenen Vorgehen zur Herstellung sogenannter Bioindikatoren. Die Keimträger wurden unter einer sterilen Werkbank (Herasafe Typ HSP 12, Art.-Nr. 51012206, Heraeus, Gera) ausgepackt und die Stahlcoupons zu 50 Stück in Petrischalen aus Glas der Größe 50 x 200 mm (Art.-Nr. 191130361, Anumbra, Glaswerk Wertheim, LHD, Heidelberg) ausgelegt. Dadurch konnte eine statische Aufladung und ein Anheften der Coupons untereinander und an der Seitenwand, wie dies bei Kunststoffpetrischalen erfolgt, verhindert werden.

Die Gebrauchssuspension wurde für 5 min in einem Ultraschallbad (Sonorex RK Super 102 P, 35 kHz, Bandelin, Berlin) beschallt, dann für 2 min ins Eisbad gestellt, für 2 min bei

2800 U/min geschüttelt und erneut für 2 min gekühlt. Der gesamte Zyklus wurde zweimal wiederholt. Im Anschluß wurde die Suspension 30 s geschüttelt und mit Hilfe einer Mehrfunktionspipette (Multipette 470, Eppendorf-Netheler-Hinz, Hamburg) wurden jeweils 10 µl auf die Keimträger aufgebracht.

Nach 50 Kontaminationen wurde die Gebrauchssuspension wiederum für 10 s geschüttelt. Für die folgenden 24 h der Trocknung wurden die Stahlcoupons in halb abgedeckten Petrischalen und die Stahldrähte auf dem Reagenzglasgestell unter der sterilen Werkbank gelagert, das UV-Licht wurde währenddessen ausgeschaltet.

Anschließend wurden die Stahldrähte in ca. 1,5 cm lange Stücke geschnitten und in Petrischalen gesammelt. Alle Petrischalen wurden mit Klebeband verschlossen und für mindestens 96 h lichtgeschützt aufbewahrt. Danach wurden diese kontaminierten Keimträger zur Durchführung sämtlicher Versuche verwendet.

3.8.2 Keimrückgewinnung der inokulierten Keimträger

Zur Bestimmung der Keimzahl der Kontrollen wurden jeweils drei kontaminierte Stahldrähte bzw. Stahlcoupons in drei Reagenzglasröhrchen (25 x 150 mm, Art.-Nr. 261313309, Duran[®], Schott, Mainz) mit Metalldeckel (CAP-O-TEST 24/26, Art.-Nr. 64.0395.43, Lüdi, Flawil, Schweiz), fünf sterilen Glasperlen mit 0,4 mm Durchmesser (Art.-Nr. 140683, Scherf Präzision, Ostheim) und 10 ml Rückgewinnungsflüssigkeit („stripping fluid“; 9,5 g Na₂HPO₄, 4,54 g KH₂PO₄, 10 ml 10%igem Tween 80 ad 1000 ml Aqua bidest.) gegeben. Die Verarbeitung erfolgte mit folgenden Schritten (Okpara 1998, vgl. Abb. 15):

1. 5 min Beschallung im Ultraschallbad
2. 2 min Kühlung im Eisbad bei $0 \pm 1^\circ\text{C}$
3. 2 min Schütteln bei 2.800 U/min
4. 2 min Kühlung im Eisbad $0 \pm 1^\circ\text{C}$
zweimalige Wiederholung der Schritte 1-4
5. 15 min im Wasserbad bei $100 \pm 1^\circ\text{C}$
6. 15 min Kühlung im Eisbad bei $0 \pm 1^\circ\text{C}$

Die Inkubation für 15 Minuten im Wasserbad bei $100 \pm 1^\circ\text{C}$ diente zur Beseitigung eventuell vorhandener vegetativer Keime. Die zwischenzeitlichen Temperaturstürze auf $0 \pm 1^\circ\text{C}$ sollten ein frühzeitiges Auskeimen der Sporen verhindern. Die Anzahl vorhandener Keime auf einem Keimträger wurde mittels einer dezimalen Verdünnungsreihe (Abb. 15) bis zur Verdünnungsstufe 10^{-4} für jeden der überprüften Keimträger bestimmt. Dafür wurde von der Verdünnungsstufe 10^{-4} dreimal für jeden Keimträger jeweils 1 ml mit Seropipetten (Falcon®, Art.-Nr. 357522, Becton Dickinson Labware Europe, Le Pont De Claix, France) in Petrischalen pipettiert.

Danach wurde jede dieser Petrischalen mit ca. 20 ml CASO-Agar gefüllt und eine Agarkontrolle angelegt. Nach ca. 45 min wurden alle Platten mit dem Deckel nach unten in Plastiktüten verpackt und für 48 h bei 56°C bebrütet. Die vorhandenen Keime je Platte wurden ausgezählt und das hieraus errechnete arithmetische Mittel wurde aus jeweils Parallelwerten errechnet und diente als Tages-Kontrollwert.

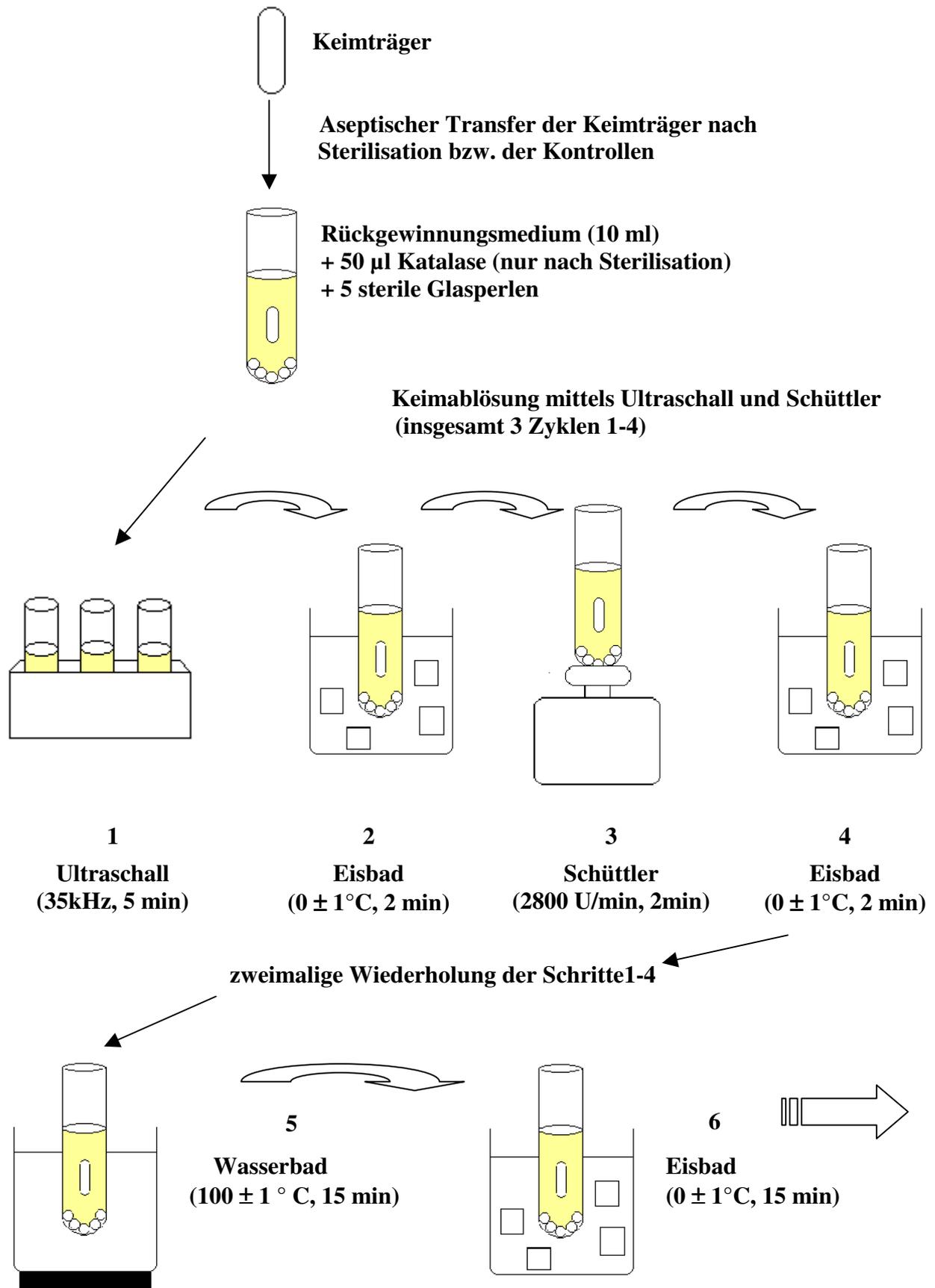


Abb. 15: Quantitative Bioindikatoren-Auswertung (modifiziert nach Okpara 1997)

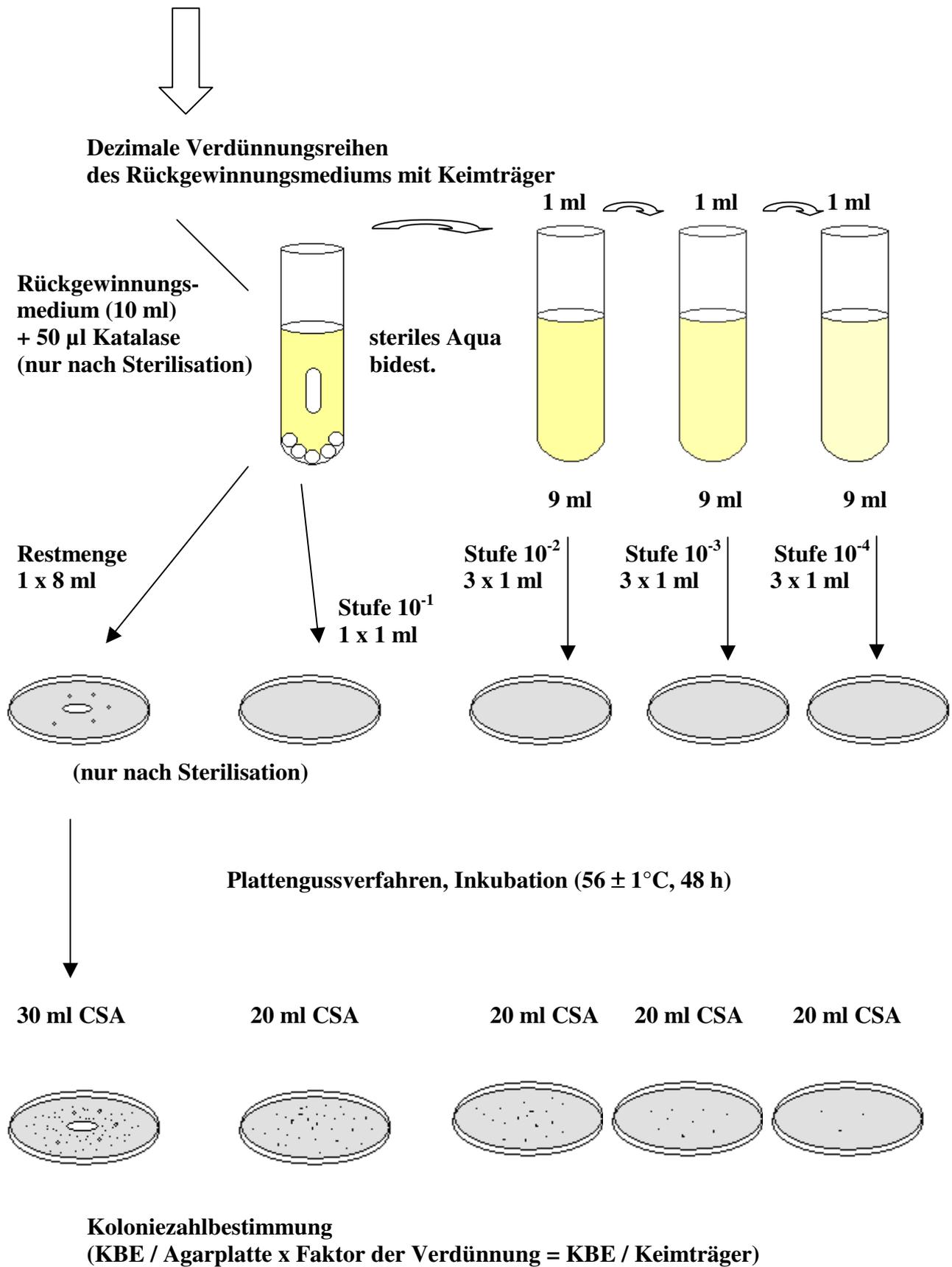


Abb. 15: Quantitative Bioindikatoren-Auswertung (Fortsetzung)

3.9 Durchführung der Sterilisationsversuche

Um bei jedem Zyklus mit Prüfkörperinhalt eine konstante Betriebstemperatur des Gerätes zu erreichen, wurde vorher ein Testlauf mit voller Beladung, aber ohne Prüfkörper durchgeführt („warm up“).

In einem Versuchslauf wurden jeweils 2 Prüfkörper getestet. Der für den Prüfkörper entsprechend hergestellte Bioindikator wurde zuvor mit Hilfe des für ihn spezifischen Führungsdrahtes in der Mitte des Prüfkörpers, d. h. des Arbeitskanals des Prüfkörpers, platziert. Dies repräsentiert eine worst-case Situation. Sollte ein Diffusionsverstärker verwendet werden, so wurde dieser mittels eines Adapters aus Silikon (Art. Nr. 15400 oder 15403, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) jeweils mit einem Ende jedes Prüfkörpers verbunden und nicht früher als 10 min vor der Sterilisation aktiviert (siehe Kap. 3.4).

Die beiden Prüfkörper wurden stets gleich bleibend in ihrer Ablage auf die Zusatzbeladung (siehe Kap. 3.3) verteilt. Die beiden Beladungen je Ablage ergeben die Möglichkeit, den Prüfkörper links oder rechts zu positionieren. Bei jedem Sterilisationszyklus wurde die Position des Prüfkörpers innerhalb der Ablage gewechselt, wobei die beiden Prüfkörper je Testlauf immer seitenungleich eingebracht wurden. Daraus ergibt sich eine gleichmäßige Nutzung aller Positionen. Die beiden Trays mit Prüfkörperinhalt wurden mit einem Sterrad[®]-Chemioindikator versehen, doppelt in Sterilisationsvlies verpackt und mit Sterrad[®]-Indikator-Klebeband verschlossen (siehe Kap. 3.3).

Nach Ende des Versuchszyklus wurden die Prozessparameter ausgedruckt und die Trays entnommen und die Prüfkörper mit den Keimträgern in die sterile Werkbank gelegt. Nach der weiteren Verarbeitung der Bioindikatoren erfolgte eine Sterilisation der Prüfkörper (siehe Kap. 3.10).

Zwischen den Sterilisationsprozessen wurden Wartezeiten von jeweils 30 min eingehalten, um eine praxisnahe Situation einzuhalten.

Die jeweiligen Versuchsbedingungen der verschiedenen Prüfkörpertypen sind Tabelle 5 zu entnehmen.

Tab. 5: Übersicht über die Prüfkörpertypen und deren Testbedingungen

	Prüfkörpertyp	Sterilisationsverfahren im Sterrad[®] 200	Zusatz- beladung	Keim- träger	Diffusions- verstärker
1	Flexibles Cranioskop ohne Optik	langer Halbzyklus	4 fach	Stahldraht	mit
2	Starres Ureterorenoskop	langer Halbzyklus	4 fach	Stahldraht	mit
3	Flexibles Gastroskop ohne Optik	kurzer Halbzyklus	4 fach	Stahl- coupon	ohne
4	Starres Laparoskop	kurzer Halbzyklus	4 fach	Stahl- coupon	ohne

3.10 Auswertung der Bioindikatoren

In Anlehnung an bereits durchgeführte Versuche von Bodendorf (2000) im Sterrad[®] 100 S wurde für jede Prüfkörpersorte die qualitative Auswertung von 50 Bioindikatoren in 25 Sterilisationszyklen und die quantitative Auswertung von 10 Bioindikatoren in fünf Testläufen durchgeführt. Mithilfe der qualitativen Ergebnisse konnten wir feststellen, ob unter den geschaffenen Voraussetzungen im Lumen der Prüfkörper eine ausreichende Sterilisation der Bioindikatoren mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,5 % erreicht wurde. Falls Keime überlebten, wurde der Reduktionsfaktor durch die quantitative Auswertung berechnet und gleichzeitig die qualitativen Ergebnisse bestätigt. Persistierendes Wasserstoffperoxid nach dem Sterilisationszyklus wurde durch Katalase (7500-16667 IU/ml, Art. Nr. 14331, A.S.P., Johnson & Johnson, Irvine, USA) inaktiviert, um eine nachträgliche Verminderung der Keimzahl zu verhindern (Curran und Evans 1940). Dafür wurde 1 Tropfen der Katalase in die Reagenzgläser gegeben.

An jedem Versuchstag wurde eine Wachstumskontrolle eines unbehandelten Keimträgers jeder Art (Stahldraht bzw. Stahlcoupon in 10 ml CASO-Bouillon), eine Reinheitskontrolle der benötigten Katalase (1 Tropfen Katalase in 10 ml CASO-Bouillon) und eine Negativkontrolle

der verwendeten Charge Bouillon (10 ml CASO-Bouillon) angelegt. Alle Referenzen wurden im Brutschrank bei 56 ± 1 °C für 14 Tage bebrütet.

Außerdem wurden parallel zu den quantitativen Versuchen pro Testtag Keimzahlbestimmungen der Kontrollen und Negativkontrollen des verwendeten Agars durchgeführt.

3.10.1 Qualitative Bioindikatorenauswertung

Unter sterilen Voraussetzungen wurden die Bioindikatoren gemäß DIN EN ISO 11737, Teil 2 (2000) nach dem Testlauf in mit 10 ml CASO-Bouillon (Art. Nr. 5459, Merck, Darmstadt) und 1 Tropfen Katalase gefüllte Reagenzgläser überführt. Die Keimträger wurden mittels eines sterilen Drahtes in kompletter Prüfkörperlänge aus dem Prüfkörper herausgeschoben. Anschließend erfolgte die Inkubation bei 56 ± 1 °C für 14 Tage, wobei alle 24 Stunden auf Veränderung der Bouillon überprüft wurde. Nach 14 Tagen wurde die Anzahl der Proben mit Wachstum denjenigen ohne Wachstum gegenüber gestellt.

Von jeder Bouillon mit Wachstum wurde eine Subkultur auf einer CASO-Agarplatte angelegt. Anschließend wurde ausgehend von 1 Kolonie ein Gram-Präparat angefertigt, um zu bestätigen, dass es sich um den Testorganismus handelt (siehe Abb. 12). Ein Sterilisationsverfahren wird per Definition als ausreichend gewertet, wenn nicht mehr als 68 % der Bioindikatoren Wachstum des Testkeimes im Halbzyklus aufweisen (siehe DIN EN ISO 14161, 2000). Das Vorgehen ist in Einzelschritten in Abbildung 16 dargestellt.

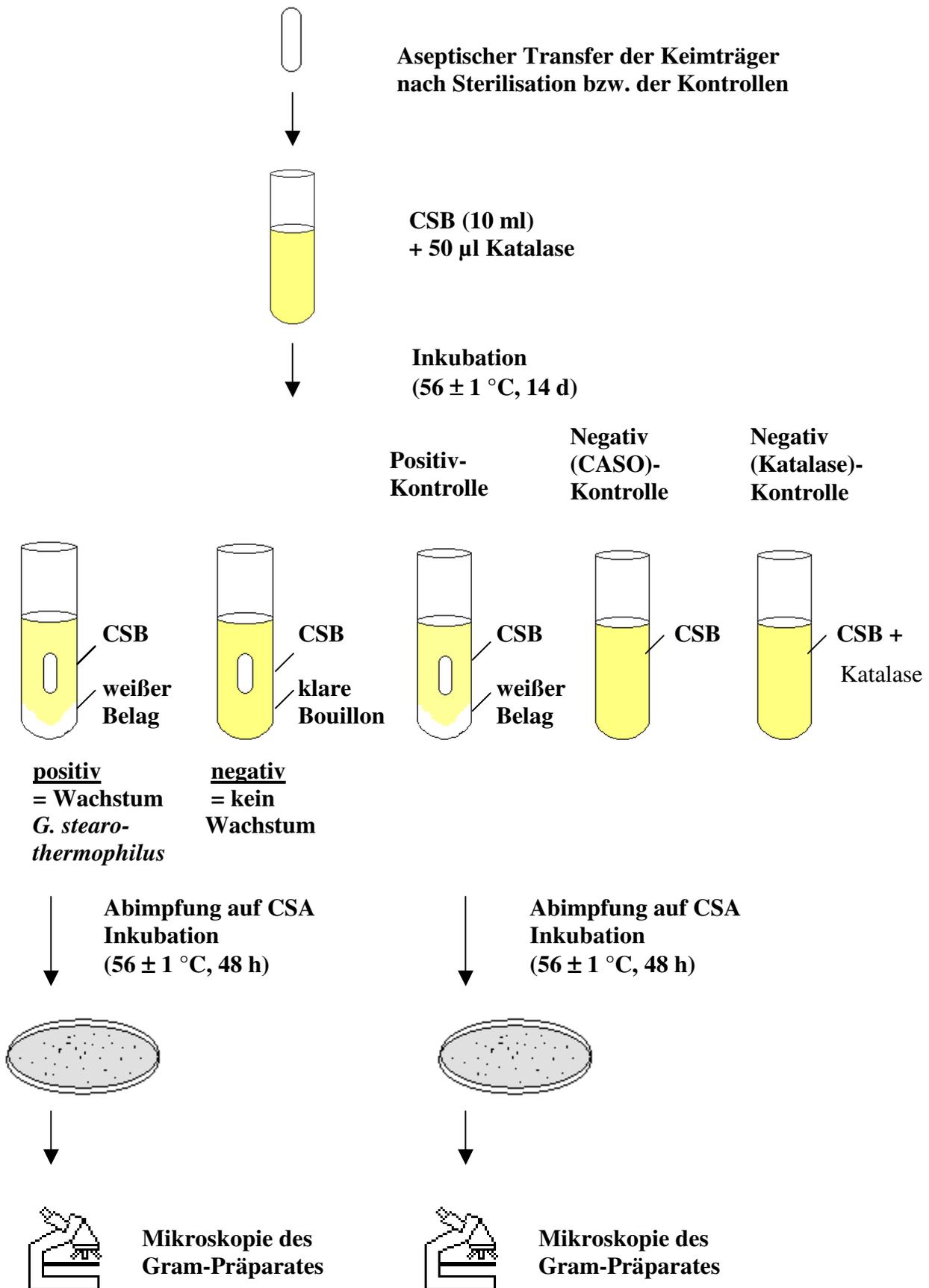


Abb. 16: Qualitative Bioindikatoren-Auswertung (modifiziert nach Okpara 1997)

3.10.2 Quantitative Bioindikatorenauswertung

Die quantitative Auswertung der sterilisierten Keimträger erfolgte wie bei der Keimzahlbestimmung der kontaminierten Keimträger („Kontrollen“) beschrieben (Kap. 3.8.2), jedoch ohne die in Abbildung 15 dargestellte Hitzebehandlung bei 100 ± 1 °C und die anschließende Kühlung bei 0 ± 1 °C. Außerdem wurde dem Rückgewinnungsmedium 50 µl Katalase zugegeben, um persistierendes Wasserstoffperoxid zu inaktivieren.

Mit dem hergestellten Rückgewinnungsmedium stellten wir Gussplatten mit CASO-Agar her. Nach 45 min Erstarrungszeit wurden die Platten zum Schutz gegen Austrocknung in Plastiktüten verpackt und mit dem Deckel nach unten gelagert, damit das Kondenswasser nicht auf den Agar tropfen konnte. Alle Platten wurden bei 56 ± 1 °C für 48 Stunden bebrütet, bevor die KBE je Platte ausgewertet wurden.

Falls es möglich war, wurde die Summe der überlebenden Keime pro Keimträger ermittelt. Wenn Platten verschiedener Verdünnungsstufen eines Bioindikators Wachstum aufwiesen, wurde das gewichtete arithmetische Mittel der überlebenden Keime berechnet. Der Reduktionsfaktor RF ($RF = \log_{10}$ Keimzahl vor Sterilisation - \log_{10} Keimzahl nach Sterilisation; vgl. Höller et al. 1993) wurde je Bioindikator ermittelt. Ein Sterilisationsverfahren wird definitionsgemäß (vgl. Block 1991) als ausreichend bewertet, wenn ein $RF > 6$ im Halbzyklus erreicht wird.

3.11 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen sollten mit den berechneten Reduktionsfaktoren durchgeführt werden. Ein statistischer Vergleich der ermittelten Reduktionsfaktoren ist jedoch nicht sinnvoll, da die Anzahl der Keime, welche die Sterilisation überlebt haben, in allen Versuchen „0“ war.

Mathematisch ist der dekadische Logarithmus von „0“ nicht definiert. Zur Berechnung des Reduktionsfaktors muss daher die Anzahl der überlebenden Keime nach Sterilisation mit „1“ angenommen werden. Die Berechnung des Reduktionsfaktors wäre damit möglich, alle Schwankungen in den Reduktionsfaktoren würden in der Folge aber ausschließlich aus schwankenden Ausgangskeimzahlen resultieren.

Ein direkter experimenteller Nachweis der maximalen Leistungsfähigkeit des Sterilisators anhand der Abhängigkeiten des Reduktionsfaktors von Länge und Durchmesser des Endoskops ist auf diese Weise jedoch nicht möglich.

Es wurde sich daher darauf beschränkt, die Unterschiede der Ausgangskeimzahlen für die beiden Keimträger (Stahldraht, Stahlcoupon) darzustellen (siehe Kap. 4.7, Abbildung 17).

4 Ergebnisse

4.1 Umfang der Untersuchungen

Im Rahmen der Untersuchungen wurden insgesamt 309 Bioindikatoren ausgewertet, die bei 110 Sterilisationszyklen anfielen. Es wurden 100 qualitative (n = 50 pro Prüfkörpertyp), 20 quantitative (n = 10 pro Prüfkörpertyp) Bioindikatorenauswertungen und 27 Positiv-Kontrollenauswertungen anhand des Stahldrahtes als Keimträger ausgewertet. Für die Versuche mit Stahlcoupons als Keimträger wurden 100 qualitative (n = 50 pro Prüfkörpertyp), 20 quantitative (n = 10 pro Prüfkörpertyp) Ergebnisse und 42 Positiv-Kontrollenergebnisse erzielt.

4.2 Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten flexiblen Cranioskop

Im Rahmen der Untersuchungen im Sterrad[®] 200 wurden – außerhalb der Herstellerangaben – zwei flexible Cranioskope ohne Optik mit einem Innendurchmesser von 0,6 mm und einer Länge von 70 cm unter Verwendung eines Diffusionsverstärkers im langen halben Zyklus getestet, um die Grenzen des Verfahrens auszuloten. Zusätzlich wurde der Sterilisator mit der 4-fachen Zusatzbeladung (siehe Kap. 3.3) bestückt.

Die qualitativen Versuche ergaben keine positiven Proben aus einer Stichprobe von 50. Dies entspricht einer Wachstumsrate der Testkeime nach dem Sterilisationszyklus von 0 %.

Die quantitativen Versuche ergaben im arithmetischen Mittel einen Reduktionsfaktor von 6,1 (Einzelergebnisse siehe Anhang, Tab. 6), was der Anforderung des DAB (2005) und USP 29 - NF 24 (2006) bezüglich eines Keimreduktionsnachweises der Sporen von $\geq 10^6$ entspricht.

4.3 Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten starren Ureterorenoskop

Im Rahmen der Untersuchungen im Sterrad[®] 200 wurden zwei starre Ureterorenoskope mit einem Innendurchmesser von 1,7 mm und einer Länge von 48,5 cm unter Verwendung eines Diffusionsverstärkers im langen halben Zyklus getestet. Zusätzlich wurde das Gerät mit der 4-fachen Zusatzbeladung (siehe 3.3) bestückt.

Die qualitativen Versuche ergaben keine positiven Proben aus einer Stichprobe von 50. Dies entspricht einer Wachstumsrate der Testkeime nach dem Sterilisationszyklus von 0 %.

Die quantitativen Versuche ergaben im arithmetischen Mittel einen Reduktionsfaktor von 6,1 (Einzelergbnisse siehe Anhang, Tab. 7), was der Anforderung des DAB (2005) und USP 29 - NF 24 (2006) bezüglich eines Keimreduktionsnachweises der Sporen von $\geq 10^6$ entspricht.

4.4 Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten flexiblen Gastroskop ohne Optik

Im Rahmen der Untersuchungen im Sterrad[®] 200 wurden – außerhalb der Herstellerangaben – zwei flexible Gastroskope ohne Optik mit einem Innendurchmesser von 2,8 mm und einer Länge von 116 cm ohne einen Diffusionsverstärker im kurzen halben Zyklus getestet, um die Grenzen des Verfahrens auszuloten. Zusätzlich wurde das Gerät mit der 4-fachen Zusatzbeladung (siehe Kap. 3.3) bestückt.

Die qualitativen Versuche ergaben eine positive Probe aus 50 getesteten. Dies entspricht einer Wachstumsrate der Testkeime nach dem Sterilisationszyklus von 2 %. Der Testorganismus *G. stearothermophilus* wurde nachgewiesen.

Die Keimträger für die quantitative Auswertung zeigten im Gegensatz dazu keine überlebenden Sporen nach der Sterilisation und somit ergab sich im arithmetischen Mittel ein Reduktionsfaktor von 6,1 (Einzelergbnisse siehe Anhang, Tab. 8), was der Anforderung des DAB (2005) und USP 29 - NF 24 (2006) bezüglich eines Keimreduktionsnachweises der Sporen von $\geq 10^6$ entspricht.

4.5 Ergebnisse der Versuche mit einem exemplarisch gewählten starren Laparoskop

Im Rahmen der Untersuchungen im Sterrad[®] 200 wurden zwei starre Laparoskope mit einem Innendurchmesser von 5 mm und einer Länge von 33 cm ohne einen Diffusionsverstärker im kurzen halben Zyklus getestet. Zusätzlich wurde das Gerät mit der 4-fachen Zusatzbeladung (siehe 3.3) bestückt.

Die qualitativen Versuche ergaben keine positiven Proben aus einer Stichprobe von 50. Dies entspricht einer Wachstumsrate der Testkeime nach dem Sterilisationszyklus von 0 %.

Die quantitativen Versuche führten im arithmetischen Mittel zu einem Reduktionsfaktor von 6,0 (Einzelergebnisse siehe Anhang, Tab. 9), was der Anforderung des DAB (2005) und USP 29 - NF 24 (2006) bezüglich eines Keimreduktionsnachweises der Sporen von $\geq 10^6$ entspricht.

4.6 Zusammenfassung der ermittelten Ergebnisse

Die Auswertung aller im Rahmen unserer Untersuchung verwendeten Bioindikatoren zeigte, dass die Keimreduktion bei jeder der getesteten Prüfkörperart sowohl für die qualitativen Auswertungen, als auch für die quantitativen Auswertungen den Anforderungen an ein Sterilisationssystem nach DIN EN ISO 14161 bzw. DAB (2005) und USP 29 - NF 24 (2006) entsprach. Die Prüfkörper „flexibles Cranioskop ohne Optik“ und „starres Ureterorenoskop“ wurden aufgrund ihrer geringen Innendurchmesser unter Einsatz eines Diffusionsverstärkers im langen halben Zyklus getestet. Im Gegensatz dazu konnten die Prüfkörper „flexibles Gastroskop ohne Optik“ und „starres Laparoskop“ im kurzen halben Zyklus ohne Diffusionsverstärker behandelt werden. Nach den Vorgaben des Herstellers für den Sterrad[®] 200 ist die Behandlung des Prüfkörpers „flexibles Cranioskop“ wegen des zu geringen Innendurchmessers überhaupt nicht vorgesehen und der Prüfkörper „flexibles Gastroskop“ sollte laut Hersteller nur unter Verwendung eines Diffusionsverstärkers sterilisiert werden. Trotz der Überschreitung dieser Herstellervorgaben konnte für alle Prüfkörper mittels der quantitativen Bioindikatorenauswertung eine Keimreduktion von $\geq 10^6$ nachgewiesen werden.

Die Auswertung führte nur für den Prüfkörper „flexibles Gastroskop ohne Optik“ zu einem positiven Ergebnis, d. h. Wachstum des Testkeims - wenn auch in geringer, nicht relevanter Keimzahl.

4.7 Auswertung der Kontrollen

Die Auswertung der Kontrollen führte zu folgenden Ergebnissen:

1. Alle durchgeführten qualitativen Wachstumskontrollen mit unbehandelten Bioindikatoren zeigten Wachstum der Testkeime am ersten Tag der Bebrütung bei $56 \pm 1^\circ \text{C}$.
2. Alle Reinheitskontrollen der Katalase wiesen nach 14 Tagen Bebrütung bei $56 \pm 1^\circ \text{C}$ keine Trübung, d. h. kein Wachstum, auf.
3. Alle Negativkontrollen des CASO-Agars wiesen nach zwei Tagen Bebrütung bei $56 \pm 1^\circ \text{C}$ kein Wachstum auf.
4. Alle Chemoindikatoren zeigten einen deutlichen Farbumschlag, d. h. belegten eine Einwirkung des sterilisierenden Agens.

Quantitative Auswertung der Positivkontrollen

Die Ergebnisse der Bestimmung der Ausgangskeimzahlen für Stahlcoupon- und Stahldrahtkeimträger sind den Tabellen 6 und 7 zu entnehmen.

Tab. 6: Ergebnisse der quantitativen Untersuchung von unbehandelten Stahlcouponkeimträgern

Bioindikator 1 KBE (n = 3)	Bioindikator 2 KBE (n = 3)	Bioindikator 3 KBE (n = 3)	Arithmetisches Mittel KBE
$5,7 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
$1,6 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$
$1,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
$1,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
$1,5 \times 10^6$	$2,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
$2,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$

Tab. 7: Ergebnisse der quantitativen Untersuchung von unbehandelten Stahldrahtkeimträgern

Bioindikator 1 KBE (n = 3)	Bioindikator 2 KBE (n = 3)	Bioindikator 3 KBE (n = 3)	Arithmetisches Mittel KBE
$1,6 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$
$1,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$
$1,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
$1,7 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$
$1,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$

Die Tageskontrollwerte, d. h. die arithmetischen Mittel aus jeweils drei Parallel-Werten, lagen bei allen Versuchsreihen wie gefordert zwischen $1,0 \times 10^6$ und $2,0 \times 10^6$ KBE pro Keimträger.

Zur Darstellung der Ausgangskeimzahlen wurde der Box-and-Whisker Plot gewählt (Abb. 17):

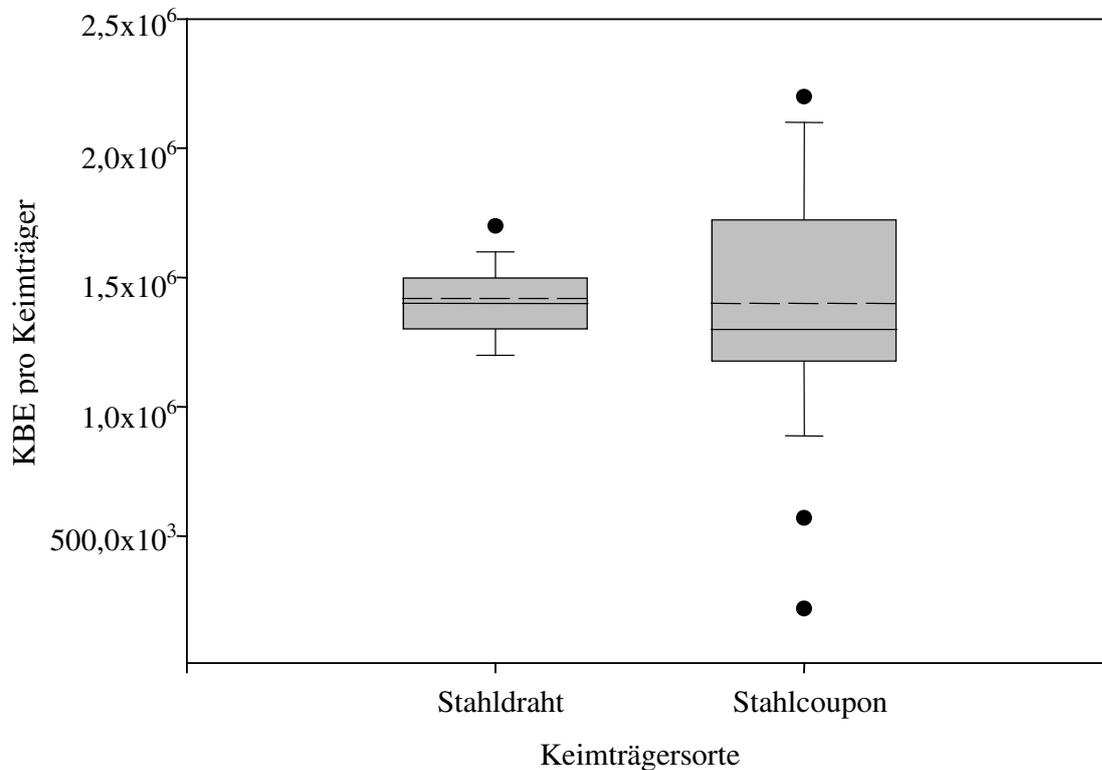


Abb. 17: Ausgangskeimzahlen für Stahlcoupons und Stahldraht als Keimträger

Die grau hinterlegte Box begrenzt den Bereich vom 25. bis 75. Perzentil. Die durchgezogene Linie in der Box repräsentiert den Median, die gestrichelte den Durchschnitt. Die mit einer Linie verbundenen beiden Querlinien (die „Whisker“) beschreiben den Bereich vom 5. bis 95. Perzentil, in dem 90 % aller Beobachtungen liegen. Ferner werden Ausreißer punktförmig dargestellt. Je symmetrischer der Box-and-Whisker Plot ist, umso eher sind die Daten normal verteilt. Je kleiner die grau hinterlegte Box ist, in dem 50 % aller Beobachtungen zu finden sind, umso mehr Datenpunkte liegen dicht beim Median, umso geringer ist die Varianz.

Zu den in Abbildung 17 als Box-and-Whisker Plots dargestellten Daten, gehören die in Tabelle 8 aufgeführten Daten der beschreibenden Statistik.

Tab. 8: Beschreibende Statistik der Ausgangskeimzahlen

	Stahldraht	Stahlcoupon
Durchschnittliche Ausgangskeimzahl	1,42 x 10 ⁶	1,40 x 10 ⁶
Varianz	2,31 x 10 ¹⁰	2,47 x 10 ¹¹
Standardabweichung	1,52 x 10 ⁵	4,97 x 10 ⁵
Minimum	1,2 x 10 ⁶	2,2 x 10 ⁵
Maximum	1,7 x 10 ⁶	2,2 x 10 ⁶
Spannweite	5 x 10 ⁵	1,98 x 10 ⁶
Schiefe	0,28	- 0,57
Wölbung	- 0,72	0,45

Für beide Keimträgerarten ergab sich eine annähernd identische durchschnittliche Ausgangskeimzahl (gestrichelte Linie in Abb. 17), wobei die Spannweite für den Stahlcouponkeimträger ($1,98 \times 10^6$) deutlich größer als diejenige für den Stahldrahtkeimträger (5×10^5) war. Während die positive Schiefe von 0,28 für den Stahldraht eine linksgipflige Verteilung aufzeigt, stellt sich die Verteilung der Ausgangskeimzahlen für den Stahlcouponkeimträger rechtsschief (- 0,57) dar. Die Mediane der Ausgangskeimzahlen der beiden Keimträgerarten zeigten einen etwas größeren Unterschied als die Durchschnitte, jedoch ergab der t-Test keinen signifikanten Unterschied der Datensätze. Die deutlich unterschiedliche Varianz (auch in den großen Unterschieden der Spannweite beschrieben) ist statistisch signifikant, der F-Test ergab bei der Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied.

Die Frage nach einer Abhängigkeit des Sterilisationseffektes von der Positionierung der Instrumente in der Sterilisationskammer konnte nicht beantwortet werden, da die Anzahl überlebender Keime nach der Sterilisation stets „0“ war und damit eventuelle Positionseffekte nicht sichtbar werden konnten.

5 Diskussion

5.1 Wirkungsspektrum der NTP-Sterilisation

Mit der Einführung der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation gilt es in der internationalen Literatur als unbestritten, dass dieses Verfahren im Vergleich zu anderen Nieder-Temperatur-Sterilisationsverfahren eine kostengünstige und zukunftsorientierte Alternative darstellt. Des Weiteren ist die NTP-Sterilisation vorteilhaft in punkto Arbeitssicherheit und Materialverträglichkeit gegenüber der Verwendung von Ethylenoxid oder Formaldehyd, da keine toxischen Rückstände auf dem sterilisierten Gut zurückbleiben und somit Ausgasungszeiten vermieden werden können. Zusätzlich verursachen auch die baulichen Aufwendungen sowie die Notwendigkeit kostenintensiver Personalschulungen bei den letztgenannten Verfahren einen Mehraufwand, der das NTP-Sterilisationsverfahren als ein für den Einsatz in Praxis und Klinik interessantes Verfahren erscheinen lässt.

Jedoch wurde das mikrobizide Wirkungsspektrum dieses Verfahrens von Beginn seiner Einführung an kontrovers diskutiert; möglicherweise würde nicht unter allen Umständen eine ausreichend hohe Konzentration von Wasserstoffperoxid-Plasma an sämtlichen Oberflächen des Sterilisiergutes erreicht. Ein nicht unerheblich negativer Einfluss kann während der Sterilisation dadurch entstehen, dass der Wirkstoff durch entsprechende Materialien gezehrt wird oder das Vorläufer-Substrat Wasserstoffperoxid-Gas erschwert diffundiert. Auch kann eine metallische Abschirmung des elektromagnetischen Feldes stattfinden, wodurch eine insuffiziente Entstehung des Wasserstoffperoxid-Plasmas verursacht wird.

Stoffe, wie z.B. Leinen, Cellulose, Nylon, Baumwolle und Papierprodukte, die in der Lage sind, Flüssigkeiten zu absorbieren, können zu einer Wirkstoffzehrung führen (Jacobs und Kowatsch 1993). Die resultierende niedrigere Konzentration des Wirkstoffes erkennt das Gerät in der Injektionsphase über einen Druckabfall und der Sterilisationsprozeß wird automatisch abgebrochen. Die benötigte Menge an Wirkstoff liegt bei der NTP-Sterilisation zumindest in der Plasma-Phase wesentlich niedriger als bei den anderen Gassterilisationsverfahren, wodurch dessen Belastbarkeit deutlich geringer ist. Für einen erhöhten Verbrauch von Wasserstoffperoxid und seinen Radikalen sind organische Begleitstoffe verantwortlich.

Deshalb hängt der Reduktionsfaktor einerseits von der Anzahl und der Biomasse der vorhandenen Keime ab und zum anderen von deren Anordnung. Das heißt, dass die Zuverlässigkeitsgrenze des Verfahrens durch aggregierte Keime eher überschritten werden kann, als wenn diese in dünnen einschichtigen Lagen vorliegen (Koller und Lessky 1996). Peters und Borchers (1995) weisen darauf hin, dass die Wirkstoffzehrung durch eine erhöhte Menge des wirksamen Agens ausgeglichen werden müsste. Möglichkeiten, ein erhöhtes Wirkstoffdefizit auszugleichen, wären, die Menge von H_2O_2 während der Diffusionsphase zu vergrößern oder das Verfahren mehrfach einwirken lassen, ähnlich wie es bei der Gassterilisation mit Formaldehyd mit der Fraktionierung die Regel ist.

Die NTP-Sterilisation ist nach Literaturangaben empfindlich gegenüber Blut- und Salzverunreinigungen (Gundermann 1992, Förtsch et al. 1993, Mecke 1992a), daher muss das Sterilisiergut vorher gereinigt (Alfa 1996, Mecke 1992a), mit salzfreiem Wasser abgespült (Förtsch et al. 1993, Höller et al. 1993) und getrocknet werden.

Der Hersteller schreibt die Grenzen für die Sterilisation von langem englumigen Sterilisationsgut aufgrund der FDA-Zulassung (Nr. K030429) vor. Eine sichere Behandlung ist über diese so genannten „claims“ hinaus nur mit Hilfe eines Diffusionsverstärkers möglich. Dabei kann bei durchgängigen Lumina der Durchmesser zu eng (< 1 mm Innendurchmesser), die Lumina zu lang (> 2 m bei Kunststoffschläuchen bzw. > 50 cm bei Metallrohren) oder zu leicht verklebend sein, wie das Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg (Weidenfeller 1996) feststellte. Blindende Hohlinstrumente sind ab einer Länge von 25 cm und 1 mm Innendurchmesser nicht zu sterilisieren (Mecke 1992a). Weitere Voraussetzung für die Wirksamkeit ist die potentielle Durchdringbarkeit des Verpackungsmaterials und des Sterilgutes für Wasserstoffperoxiddampf, weshalb flüssigkeitsgefüllte Behälter, nicht belüftete feste Behälter und pulverförmiges Material nicht sterilisierbar sind.

Trays und Sterilisiercontainer sollten nicht metallisch sein, da sie sonst wie ein Faradayscher Käfig wirken und das Sterilgut vom Plasmafeld abgeschirmt wird (Jacobs und Kowatsch 1993). Auch bei metallischen Instrumenten oder Instrumenten mit metallischer Ummantelung kann dadurch im Inneren kein oder nur eine geringere Menge Wasserstoffperoxid-Plasma gebildet werden. Dabei wirkt entweder diffundiertes Wasserstoffperoxid-Plasma, wobei die Diffusionsstrecken aufgrund der kurzen Stabilität der reaktiven Radikale begrenzt sind, als

reaktives Agens oder Wasserstoffperoxiddampf, der eine geringere mikrobizide Wirkung als Wasserstoffperoxid-Plasma hat (vgl. Jordy 1991). Für den routinemäßigen Gebrauch im Krankenhaus wird die Verwendung von Diffusionsverstärkern vom Arbeitskreis der DGHM und von Kramer (1995) nicht akzeptiert, da dieser auch bei sorgfältigster Handhabung eine erhebliche Unsicherheit für die Sterilisation darstellt. Befindet sich auf und in den zu sterilisierenden Instrumenten noch Restfeuchtigkeit, so wird der Sterilisationsprozess automatisch abgebrochen, da kein ausreichend hohes Vakuum erzeugt werden kann. Um Fehler in der Instrumentenvorbereitung zu vermeiden, sollte das Personal in der gründlichen Reinigung und nötigen Trocknung von Instrumenten sowie der Applikation von Diffusionsverstärkern vor der Sterilisation geschult werden.

Der Gerätetyp Sterrad[®] 200 wurde im Gegensatz zu seinen Vorgängerversionen mit einer Tür zur Bestückung der Kammer vor der Sterilisation und einer Tür zu Entnahme des Sterilgutes auf der entgegengesetzten Seite ausgestattet. Dadurch kann eine vorteilhafte räumliche Trennung im Aufbereitungszyklus für Sterilgut in der Krankenhaushygiene eingehalten werden. Außerdem wird im Sterrad[®] 200 erstmals die Wasserstoffperoxidkonzentration gemessen und aufgezeichnet. Dadurch kann eine permanent vorhandene ausreichend hohe Konzentration des wirksamen Agens nachgewiesen werden. Diese Messung ist wiederum eine Grundlage zur Validierung dieser Geräteversion. Aufgrund dieser Eigenschaften ist der Sterrad[®] 200 der erste Gerätetyp von dem eine GMP-Version erhältlich ist. Dadurch ist der Benutzer in der Lage die Prozessparameter nach entsprechenden Richtlinien zu verändern und dem Sterilisationsgut anzupassen (Angabe durch A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA).

Den Problemen der Wirkstoffdiffusion und der damit verbundenen Notwendigkeit des Einsatzes von Diffusionsverstärkern, trat der Hersteller mit einer Verdopplung der Wirkstoffmenge und der Zyklusfraktionierung im Sterrad[®] 100 S-Verfahren entgegen. Die deutlich größere Leistungsfähigkeit dieses Verfahrens wurde auch im Sterrad[®] 200 bei größerem Kammervolumen umgesetzt und reduziert die nötige Anwendung eines Diffusionsverstärkers gegenüber dem Sterrad[®] 100, 1.8-Verfahren (Borneff-Lipp 1998).

5.2 Konzept der praxisnahen Versuchsdurchführung

Bei der Auswahl der geeigneten Prüfkörper für die Testung der mikrobiziden Wirksamkeit des Plasmasterilisators konnten wir uns an den bisher festgestellten Grenzen der Plasmasterilisation orientieren. Nach Spicher und Borchers (1984) muss der Testkörper die Eigenschaften des Sterilisiergutes simulieren und einen Hohlraum aufweisen, der mindestens so eng und lang ist, wie derjenige des zu sterilisierenden Gutes. Blindende Prüfkörper, wie sie zur Überprüfung von FO- und EO-Sterilisatoren eingesetzt werden (DIN 58948 Teil 13, 1987) kamen nicht zum Einsatz, weil diese vom Hersteller der Geräte aus verfahrenstechnischen Gründen abgelehnt werden (Benutzerhandbuch Sterrad[®] 100, Johnson & Johnson, 1993).

Die Effektivität der NTP-Sterilisation kann unter dem Einfluß einer metallischen Abschirmung der elektromagnetischen Wellen, die zur Erzeugung des Plasmas nötig sind, und bei der Verwendung von langem englumigen Sterilisationsgut herabgesetzt sein (Kyi et al. 1995). Bei Hohlinstrumenten mit metallischer Ummantelung (z. B. Endoskope) kann nur noch eindiffundiertes Peroxid-Plasma bzw. Wasserstoffperoxiddampf zur Wirkung kommen, weil die elektromagnetischen Wellen abgeschirmt werden. Der Nachteil besteht darin, dass die bakterizide Wirkung von Wasserstoffperoxiddampf deutlich geringer ist, als diejenige von Wasserstoffperoxid-Plasma (vgl. Addy 1991). Wird gleichzeitig ein langer englumiger Prüfkörper verwendet, ist die Diffusion von extern erzeugtem Wasserstoffperoxid-Plasma in das Hohlinstrument dementsprechend erschwert. Versuche von Mecke (1992a) zeigten, dass bei Prüfkörpern von 1 mm Innendurchmesser und einer Ummantelung mit einem Kupferdrahtgeflecht eine Sterilisation bei einer Länge von 30 cm nicht mehr gewährleistet war, ohne Metallabschirmung hingegen selbst bei einer Länge von 120 cm. Okpara et al. (2002) belegten darüber hinaus eine Wirksamkeit bei endständigen Teflonprüfkörpern bei einer Länge von 200 mm und einem Innendurchmesser von 1 mm sowohl im Sterrad[®] 100 S-, als auch im Sterrad[®] 200-Verfahren.

In Anlehnung an bisher durchgeführte Versuche im Sterrad[®] 100 S verwendeten wir starre und flexible Endoskope als Prüfkörper (Okpara et al. 2005). Dabei haben wir die Prüfkörperlängen und Durchmesser entsprechend so ausgewählt, dass der Grenzbereich der Effektivität des Sterrad[®] 200 möglichst praxisnah festgestellt werden konnte. Außerhalb der vom Hersteller vorgegebenen Grenzen lagen die Prüfkörper „flexibles Craniskop“ aufgrund des

Innendurchmessers < 1 mm und „flexibles Gastroskop“ wegen der fehlenden Anwendung eines Diffusionsverstärkers. Für jede Prüfkörperart wurde ein Führungsdraht mit dem entsprechenden Durchmesser angefertigt, um die Bioindikatoren in der Mitte des Prüfkörpers zu positionieren. Dadurch wurden für jeden Testlauf die gleichen Bedingungen geschaffen. Nach der Behandlung im Plasmasterilisator wurden die Keimträger mittels eines sterilen Drahtes in kompletter Prüfkörperlänge schnell und mit möglichst geringem Risiko einer erneuten Kontamination den verschiedenen Auswertungsverfahren zugeführt.

Praxisversuche im Sterrad[®] 100 wurden in diesem Zusammenhang bereits von Höller et al. (1993) mit kompletten Endoskopen und von Förtsch et al. (1993) mit augenchirurgischen Instrumenten durchgeführt. Diese Versuche - wie auch diejenigen von Mecke (1992 a, b) - bezogen sich sämtlich jedoch auf eine experimentelle Kontamination mit *Bacillus (B.) pumilus*-Sporen und sind somit nicht unmittelbar vergleichbar mit den eigenen Experimenten.

5.3 Testkeim und Keimträger

In Anlehnung an bereits durchgeführte Versuche im Sterrad[®] 100 S verwendeten wir *G. stearothermophilus* als Testkeim, obwohl die Handhabung bezüglich der notwendigen hohen Keimzahl von größer 10^6 und die Konstanz der Keimzahl auf den Bioindikatoren bei der Lagerung im Vergleich zu *B. pumilus* als schwieriger angesehen werden muss (Kramer 1995). Versuche von Borneff et al. (1995) zeigten jedoch, dass auch nach längerer Lagerung die Konstanz der Keimzahl gegeben war.

Als wichtige Grundvoraussetzung für die Verwendung als Testkeim ist die Apathogenität von *G. stearothermophilus* zu werten (Costin und Grigo 1974). Da von den durch Peters und Borchers (1995) und Koller und Lessky (1996) untersuchten bakteriellen Sporen (*B. pumilus*, *B. subtilis*, *G. stearothermophilus*), die Sporen von *G. stearothermophilus* gegen das zu testende Verfahren die höchste Resistenz aufwiesen, war der höhere Aufwand bei der Handhabung dieses Keimes gerechtfertigt. Lediglich Sporen von *Aspergillus (A.) niger* weisen eine noch höhere Resistenz gegenüber der NTP-Sterilisation auf (Peters u. Borchers 1995), jedoch

kamen sie aus Gründen der problematischen Handhabung und des potentiellen Infektionsrisikos nicht in Betracht.

Die beobachtete höhere Resistenz der Sporen von *A. niger* könnte auf ihre im Vergleich zu bakteriellen Sporen größere Masse und die damit verbundene Wirkstoffzehrung zurückgeführt werden (Peters und Borchers 1995). Nach Angaben von Mecke (1992a) ist *B. pumilus* leichter in hohen Ausgangskeimzahlen zu kultivieren. Höller et al. (1993) zogen *B. pumilus* als Testkeim *G. stearothermophilus* vor, weil dieser kein einheitliches Resistenzverhalten zeigte und somit schwierige Standardisierungsanforderungen gegeben waren. Allerdings weist *G. stearothermophilus* ein einheitlicheres Resistenzmuster gegenüber Sterilisationsverfahren, wie z.B. der Dampf-Sterilisation (nach DIN EN 866 Teil 3, 1997) auf und ist somit als Vergleichsparameter qualifiziert. Ein noch einheitlicheres Resistenzmuster soll nach Caputo (1994) *B. circulans* zeigen, eine Vergleichbarkeit mit anderen Verfahren wäre jedoch bei dieser Spezies nicht gegeben.

Dagegen spricht die Tatsache, dass *G. stearothermophilus* unter anderem als Testkeim für die Formaldehyd-Sterilisation (nach DIN EN 866 Teil 5, 2000) und unmittelbar auch im Rahmen der NTP-Sterilisation eingesetzt wird. Dadurch werden die Ergebnisse verschiedener Gassterilisationsverfahren vergleichbar. Als Keimträger kamen V4A-Stahldraht und -Stahlcoupons zur Anwendung, da die Keimträger aus Materialien bestehen sollen, die üblicherweise in der klinischen Praxis zum Einsatz kommen. Es ist sinnvoll, bei der Überprüfung des Sterilisationseffektes in Gegenständen aus einem bestimmten Material, wie in unserem Fall Metall bzw. Metallummantelung, diesen Werkstoff auch als Keimträgermaterial einzusetzen. Des Weiteren darf das Trägermaterial kein Wasser aufnehmen, da infolge der Wasseraufnahme die Effizienz der aktiven Partikel in der NTP-Sterilisation herabgesetzt wird (Lundholm und Nyström 1994).

5.4 Kontamination und Rückgewinnung

Aufgrund der Anforderung des DAB (2005) und der USP 29 – NF 24 (2006) bezüglich eines Keimreduktionsnachweises von $\geq 10^6$ musste die Keimzahl auf den Bioindikatoren zwischen mindestens 1×10^6 und 2×10^6 liegen. Zudem hatten Versuche von Ruppert (1995) gezeigt,

dass es bei Keimzahlen von mehr als 2×10^6 zu Koagulationsphänomenen kommt, wodurch die Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse erschwert wird.

Zur Herstellung der Gebrauchssuspension wurde der Titer der Sporenstammsuspension im Dreifachansatz festgestellt. Die dabei durchgeführte Hitzeinaktivierung unterstützte das Ergebnis, dass während unserer Untersuchungen zu keinem Zeitpunkt eine Verunreinigung der Suspension mit vegetativen Keimen festgestellt werden konnte. Vor der Kontamination der Bioindikatoren und bei der Rückgewinnung wurde zur Optimierung der Reproduzierbarkeit eine dreimalige Kombination von Ultraschall- und Schüttelverfahren angewendet und Glasperlen hinzugegeben, wie es in der Methodenbeschreibung von Okpara (1998) empfohlen wurde.

Die Verdünnung der Sporenstammsuspension mit der oberflächenaktiven Substanz Tween 80 (10 %) und der Zusatz im Rückgewinnungsmedium von 0,1%igem Tween 80 erfolgte um Koagulationsphänomene zu verhindern und dem Inokulum zu ermöglichen, eine größere Fläche zu benetzen.

Vor der Verwendung der Bioindikatoren und mindestens am Ende der Testdurchführung einer Prüfkörperart wurde eine Keimzahlbestimmung durchgeführt. In die Auswertung überlebender Keime nach der Koch'schen Gussplattenmethode wurden nur Platten einbezogen, deren Keimzahlen zwischen 30 und 300 lagen (American Public Health Association 1985). Die Berechnung der Keimzahl des Bioindikators erfolgte, wie schon bei der Keimzahlbestimmung der Sporenstammsuspension, über das gewichtete arithmetische Mittel, wenn bei mehr als einer Verdünnungsstufe der Rückgewinnungssuspension eines Bioindikators die Keimzahlen in dem zuvor genannten Bereich lagen (DGHM 1981).

5.5 Bewertung der Ausgangskeimzahlen

Sämtliche quantitativen Auswertungen der beiden unbehandelten Bioindikatorenarten ergaben, dass die Tageskontrollwerte, d.h. die arithmetischen Mittel aus jeweils drei Parallelwerten zwischen 1×10^6 und 2×10^6 KBE lagen. Die ermittelten Keimzahlen weisen nahe zu eine Normalverteilung auf (siehe Abb. 17 und Tab. 8). Die errechneten Werte für Schiefe und Wölbung liegen im Bereich von -2 und $+2$. Dies kann dahin gehend interpretiert werden, dass kein systematischer Fehler vorliegt und die Kontamination der Stahldrähte und Coupons akkurat durchgeführt wurde.

Die Ausgangswerte für den Stahlcouponkeimträger zeigten eine geringfügige asymmetrische Lage der Median-Linie in dem grau hinterlegten Bereich des Box-and-Whisker Plots (Abb. 17, Schiefe von $-0,57$).

Die drei Punkte in der Abb. 17 markieren Ausreißer, da sie mehr als 1,5 Kantenlängen von der Box entfernt liegen. Eine Ursache für die im Vergleich zum Stahldrahtkeimträger größere Varianz der Ausgangswerte ($2,31 \times 10^{10}$ bzw. $2,47 \times 10^{11}$) könnte der gegenseitige Abrieb durch scharfe Kanten der Stahlcoupons beim Transport in der Petrischale sein. Außerdem ist es möglich, dass ein Teil der $10 \mu\text{l}$ Gebrauchssuspension zur Kontamination des Keimträgers Kontakt mit dem Petrischalenboden während der Trocknung bekommen hat und dieser Anteil an Sporen von *G. stearothermophilus* auf dem Boden der Petrischale verblieben ist. Kritisch ist anzumerken, dass die Reproduzierbarkeit der Keimzahlen auf den Stahlcoupons ungünstiger als diejenige auf den Stahldrähten war.

5.6 Problematik der Diffusionsverstärker

Zur Steigerung der Sterilisationssicherheit im Inneren von langen, englumigen medizinischen Instrumenten, wie Endoskopen, wurde vom Hersteller des Verfahrens ein Diffusionsverstärker entwickelt (Art.-Nr. 15400, Johnson & Johnson 1993). Der Einsatz dieser Diffusionsverstärker war bei unseren Untersuchungen unter folgenden Bedingungen notwendig:

- 1) Sterilisation des flexiblen Cranioskops mit einer Länge von 70 cm und einem Innendurchmesser von 0,6 mm.
- 2) Sterilisation des starren Ureterorenoskops mit einer Länge von 48,5 cm und einem Innendurchmesser von 1,7 mm.

Die Verwendung der Diffusionsverstärker bedeutete für die beiden vorgenannten Prüfkörpermodelle eine sichere Sterilisation im Gegensatz zur Sterilisation ohne Diffusionsverstärker. Der Hersteller begründet den Einsatz eines Diffusionsverstärkers mit der Tatsache, dass die NTP-Sterilisation im Gegensatz zur FO- und EO-Sterilisation nicht mit einem Wirkstoffüberschuss arbeitet.

Auch Mecke (1992a) bescheinigte durch die Anwendung eines Diffusionsverstärkers eine erhebliche Steigerung der bakteriziden Wirksamkeit, auch bei Anwesenheit einer Metallabschirmung und unter Blutbelastung. Es ist nicht bekannt, ob die deutliche Steigerung der bakteriziden Wirksamkeit unter Einsatz eines Diffusionsverstärkers im Inneren von Instrumenten mit metallischer Abschirmung nur auf die Wirkung von konzentriertem Wasserstoffperoxiddampf oder auf die Wirkung von Wasserstoffperoxid-Plasma zurückzuführen ist (Mecke 1992a).

Versuche von Borneff-Lipp et al. (1997) zeigten, dass auch im Sterrad[®] 100 S eine sichere Sterilisation von starren Ureterorenoskopen im langen Halbzyklus nur durch die Applikation eines Diffusionsverstärkers erreichbar war und bereits im Sterrad[®] 100 S die Sterilisation der flexiblen Gastroskope ohne Diffusionsverstärker erfolgen konnte.

Die Problematik beim Einsatz eines Diffusionsverstärkers besteht in der erheblichen Vergrößerung des Unsicherheitsfaktors für die Sterilisation, auch bei sorgfältiger Handhabung und entsprechenden Anwenderschulungen (Kramer 1995). Die Unsicherheit liegt vorwiegend in der Zuverlässigkeit der Entleerung und der Wirksamkeit von Plasma an der Kontaktfläche von Diffusionsverstärker und Sterilisiergut. Ein Risiko besteht auch in dem sicheren gasdichten Abschluss zwischen Adapter und Eingang zum Hohlsystem. Dadurch könnte Wasserstoffperoxid nicht in das Innere des Lumens, sondern in die Kammer freigesetzt werden. Dieses Problem trat vorwiegend bei Diffusionsverstärkern der ersten Generation auf.

5.7 Technische Standardisierung und Innovationen der Sterrad[®] 200-Technologie

Die Wartezeit zwischen den einzelnen Testzyklen und nach dem Warmlauf betrug immer 30 min bei geschlossener Kammertür, um die äußeren Bedingungen bei der Sterilisation konstant zu halten. Pro Testzyklus wurde immer seitenungleich je Ablage in einer der beiden Zusatzbeladungen ein Prüfkörper eingelegt. Dieses Vorgehen sollte eine Beurteilung sämtlicher Positionen für Prüfkörper in der Sterilisationskammer ermöglichen. Da die Anzahl der Keime, welche die Sterilisation überlebt haben, in allen Versuchen „0“ war, kann keine Aussage über Inhomogenitäten in der Sterilisationseffizienz innerhalb der Sterilisationskammer getroffen werden.

Sofort nach Beendigung eines Sterilisationsprozesses wurden die Bioindikatoren ihrer jeweiligen Auswertungsmethode zugeführt. Dadurch und durch die Zugabe von Katalase zum entsprechenden Nährmedium konnte die Nachwirkung von persistierendem Wasserstoffperoxid verhindert werden. Zur Überprüfung eines jeden Prozessverlaufs wurde in jedes Tray ein Chemioindikator eingelegt und die Prozessparameter ausgedruckt (Chargenkontrolle).

Die Innovationen des Sterrad[®] 200 gegenüber dem Sterrad[®] 100 S sind:

1. Beim Gerätetyp Sterrad[®] 200 ist neben dem eintürigen Standardmodell auch eine zweitürige Ausführung erhältlich. Die zweitürige Ausführung bietet den Vorteil, dass die Beladung des Gerätes auf der reinen Seite und die Entnahme des Sterilgutes auf der sterilen Seite einer ZSVA erfolgen kann. Eine strikte Trennung des Instrumentariums vor und nach der Sterilisation ist somit möglich.
2. Aufgrund des um 50 l größeren Volumens (Sterrad[®] 200: 150 l; Sterrad[®] 100 S: 100 l) und der geänderten Form der Sterilisationskammer (Sterrad[®] 200: quaderförmig; Sterrad[®] 100 S: zylinderförmig) können im Sterrad[®] 200 im Gegensatz zum Sterrad[®] 100 S in einem Sterilisationszyklus gleichzeitig vier anstelle von zwei Trays mit Instrumentarium aufbereitet werden. Das Instrumentarium ist somit schneller wieder verfügbar und kann häufiger eingesetzt werden. Auf die Anschaffung weiterer Instrumentensätze kann möglicherweise ganz verzichtet werden.
3. In der Sterilisationskammer des Sterrad[®] 200 ist die Konzentration an H₂O₂, dem mikrobiozid wirksamen Agens, höher als in der des Sterrad[®] 100 S (Sterrad[®] 200: 9,3 mg/l; Sterrad[®] 100 S: 6,0 mg/l). Außerdem wurde die Anzahl der Injektionsstellen auf zwei erhöht.
4. Im Hinblick auf den Aspekt Qualitätssicherung, der immer größere Bedeutung auch hinsichtlich Auftragsterilisation gewinnt, wurde im Sterrad[®] 200 eine Prozesskontrolle von H₂O₂ („parametric release“) integriert. Dies bedeutet, dass ein Sterilisationszyklus abgebrochen wird, wenn eine zu niedrige H₂O₂-Konzentration in der Sterilisationskammer vorliegt.

5. Die für den kompletten Prozess eines Instrumentes geforderte Dokumentation kann beim Sterrad[®] 200 einfacher Folge geleistet werden, da im Gegensatz zum Sterrad[®] 100 S beim Sterrad[®] 200 über eine Computerschnittstelle ein Anschluss an ein Daten-Netzwerk möglich ist. Die Daten aus dem Sterilisationsprozess können somit direkt zusammen mit anderen auf das jeweilige Sterilgut bezogenen Daten an zentraler Stelle abgespeichert werden.

5.8 Schlußfolgerungen und Ausblick

Anhand der durchgeführten Versuche lässt sich der Schluss ziehen, dass die Sterilisationsleistung des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens Sterrad[®] 200 ausreicht, um einen Sterilisationseffekt gemäß Definition, d. h. eine Keimreduktion von *G. stearothermophilus*-Sporen im Halbzyklus von 6 log-Stufen (DAB 2005, USP 29 - NF 24 2006), bei Endoskopen mit den getesteten Verhältnissen von Durchmesser und Länge sicherzustellen.

Bei den Versuchen mit flexiblen Gastroskopen ohne Optik („Dummies“) und starren Laparoskopien konnte ein Reduktionsfaktor von über 6 im Halbzyklus ohne Anwendung eines Diffusionsverstärkers erreicht werden. Die sichere Sterilisation der Prüfkörper „flexibles Cranioskop“ mit einer Länge von 70 cm und einem Innendurchmesser von 0,6 mm und „starres Ureterorenoskop“ mit einer Länge von 48,5 cm und einem Innendurchmesser von 1,7 mm und damit Dimensionen außerhalb der Vorgaben des Herstellers konnte im Sterrad[®] 200 allerdings nur unter Anwendung eines Diffusionsverstärkers gewährleistet werden.

Die vom Hersteller im Bedienerhandbuch für den Sterrad[®] 200 (2001) empfohlenen Anwendungsbereiche hinsichtlich der Sterilisation von Endoskopen konnten somit durch unsere Versuche nachvollzogen und darüber hinaus sogar eine sichere Sterilisation außerhalb der Herstellervorgaben festgestellt werden.

Da die Ergebnisse von Okpara et al. (2002) anhand des Einsatzes eines speziell entwickelten „Process challenge device“ eine gegenüber dem Sterrad[®] 100 S-Verfahren überlegene Sterilisationswirkung bei Lumen und Längen außerhalb der vom Hersteller vorgegebenen

Grenzen zeigen, ist grundsätzlich von einer Leistungsverbesserung gegenüber den früheren Gerätegenerationen auszugehen.

Die Vergrößerung der Sterilisationskammer bei gleicher Sterilisationssicherheit kann unter Praxisbedingungen im Großbetrieb einer Krankenhaus-Zentralsterilisationsabteilung als Vorteil betrachtet werden, weil dadurch die Sterilisationskosten pro Instrument gesenkt werden können.

Generell ist es aufgrund der vielfältigen Einflussfaktoren, wie z.B. den geometrischen Abmessungen und Materialzusammensetzungen des Sterilisiergutes problematisch, die Sterilisationssicherheit im Einzelfall abzuschätzen. Im Prinzip müssten daher praktische Versuche mit nahezu allen Sterilisationsvarianten durchgeführt werden, was jedoch aus zeitlichen und finanziellen Gründen unrealistisch ist. Das Gesetz über Medizinprodukte (2002, 2003) trägt diesem Problem dahingehend Rechnung, als über eine Konformitätsbewertung Instrumente durch einen Modellprüfkörper in ihrer Konfiguration und Materialbeschaffenheit definiert und in ihrer Sterilisierbarkeit bestätigt werden können. Ein entsprechendes Vorgehen, wie es z. B. für die Dampfsterilisation bereits durchgeführt wurde (vgl. AKI 2001), ist demnach auch für die NTP-Sterilisation anzustreben.

6 Zusammenfassung

Mit der Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisation wurde in den 80er Jahren ein Verfahren entwickelt, das die Behandlung von Sterilisationsgut ohne toxische Rückstände ermöglicht. Jedoch ist diese Technologie auf der Wirkstoffbasis von Wasserstoffperoxid-Plasma zur Sterilisation von englumigen Instrumenten und Geräten seit ihrer Markteinführung 1994 mit dem Sterrad[®]-Verfahren Gegenstand kontroverser Diskussionen.

Frühere Untersuchungen in den Geräteversionen Sterrad[®] 100, 1.8 und Sterrad[®] 100 S haben gezeigt, dass in praxisnahen Prüfböjekten aus V4A-Stahl und Teflon eine Abtötung von *Geobacillus (G.) stearothermophilus* im Bereich von $> 10^6$ in standardisierten Prüfkörpern zwar möglich ist, jedoch deutlichen Grenzen hinsichtlich der möglichen Längen und Lumen unterliegt.

Mit der Entwicklung des Sterrad[®] 200 stand in Europa ab 2000 ein Gerät zur Verfügung, das ein um 50 l größeres Kammervolumen gegenüber der Version Sterrad[®] 100 S besitzt. In Anlehnung an bereits durchgeführte Versuche in den Geräteversionen Sterrad[®] 100 und Sterrad[®] 100 S verwendeten wir die hierbei eingesetzten flexiblen und starren Endoskope, um eine entsprechende Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Dabei kamen folgende Prüfkörper zur Anwendung:

1. Prüfkörper „flexibles Cranioskop“ ohne Optik (Länge: 70 cm, Innendurchmesser: 0,6 mm)
2. Prüfkörper „starres Ureterorenoskop“ (Länge: 48,5 cm, Innendurchmesser: 1,7 mm)
3. Prüfkörper „flexibles Gastroskop“ ohne Optik (Länge: 116 cm, Innendurchmesser: 2,8 mm)
4. Prüfkörper „starres Laparoskop“ (Länge: 33 cm, Innendurchmesser: 5 mm)

Als Testkeime wurden Sporen von *Geobacillus (G.) stearothermophilus* ATCC 7953 eingesetzt, die passend zum jeweiligen Prüfkörper auf ein Trägermaterial aufgebracht wurden. Für das Cranioskop und Ureterorenoskop wurde aufgrund ihrer engen Lumina V4A-Stahldraht und für das Gastroskop und das starre Laparoskop V4A-Stahlcoupons verwendet. Das arithmetische Mittel der Keimzahl lag zwischen $1,0 \times 10^6$ und $2,0 \times 10^6$. Die auf diese Weise hergestellten Bioindikatoren wurden jeweils in der Mitte des Prüfkörpers, d. h. in der Mitte des Arbeitskanals des Endoskops im Sinne einer worst-case Situation platziert.

Um während der Versuche eine Routinebeladung des Sterilisators zu simulieren, wurde der Sterilisator mit jeweils vier Sterrad[®]-Trays bestückt. Jedes Tray enthielt dabei die gleiche Art und Anzahl medizinischer Instrumente mit einer Masse von 2 kg. Im Rahmen unserer Untersuchungen wurde ein Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisator vom Typ Sterrad[®] 200 mit spezieller Software-Ausstattung verwendet. Dadurch konnte das Testgerät im sogenannten Halbzyklus betrieben werden, d. h. dass Anteile bestimmter Phasen des Sterilisationsprozesses verkürzt bzw. ausgelassen wurden.

Die Verwendung der Halbzyklenmethode diente ausschließlich Testzwecken, um die Wirksamkeitsgrenzen des Sterilisators zu eruieren. Anschließend an die Sterilisation erfolgte sowohl eine qualitative, als auch eine quantitative Auswertung der Bioindikatoren.

Zur Feststellung einer sicheren Sterilisation, d.h. ob alle Mikroorganismen unter den von uns gestellten Bedingungen abgetötet wurden, sind 50 Bioindikatoren pro Versuchsreihe qualitativ ausgewertet worden. Die Bioindikatoren wurden in 10 ml CASO-Bouillon mit 50 µl Katalase zur Inaktivierung von Wasserstoffperoxidresten gegeben und bei $56 \pm 1^\circ\text{C}$ im Brutschrank bebrütet. Wenn nach 14 Tagen keine Trübung der Bouillon aufgetreten war, gingen wir davon aus, dass auf dem untersuchten Bioindikator nach der Sterilisation kein vermehrungsfähiger Keim vorhanden war. Die Bestätigung positiver Befunde erfolgte mittels Grampräparat.

Für die quantitative Auswertung wurden im Rahmen dieses Testabschnittes jeweils 10 Versuchsreihen pro Instrumentenart durchgeführt. Die Rückgewinnung der Keime von den behandelten Keimträgern erfolgte in Rückgewinnungsmedium. Die Keimzahl der entstandenen Suspension wurde durch eine dezimale Verdünnungsreihe und mit Hilfe der Koch'schen Gussplattenmethode bestimmt.

Die quantitativen Auswertungen bestätigten in allen Fällen die Ergebnisse der qualitativen Auswertungen, d. h. wenn eine im Sinne der geltenden Definition ausreichende Keimreduktion anhand der qualitativen Ergebnisse vorlag, entsprach auch der Keimreduktionsfaktor bei der quantitativen Auswertung dem geforderten Wert von 6 log-Stufen im Halbzyklus. Somit kann für das Innere der geprüften Endoskope und vergleichbarer Instrumente die Sterilisierbarkeit im Sinne der im Medizinproduktegesetz (2002, 2003) vorgegebenen Konformitätsbewertung bestätigt werden.

Aufgrund der durchgeführten Versuche muss allerdings festgestellt werden, dass die Sterilisationsleistung des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens Sterrad[®] 200 bei der Sterilisation von *Geobacillus stearothermophilus*-Sporen nicht grundsätzlich eine Sterilisation von Endoskopen mit beliebigem Verhältnis von Durchmesser und Länge ohne dem Einsatz eines Diffusionsverstärkers ermöglicht.

Die sichere Sterilisation der Prüfkörper „flexibles Cranioskop“ und „starres Ureterorenoskop“ konnte im Sterrad[®] 200 unter Anwendung eines Diffusionsverstärkers gewährleistet werden. Trotzdem der Sterrad[®] 200 mit einem vergrößerten Volumen der Sterilisationskammer entwickelt wurde, konnten unsere Versuche nachweisen, dass das Leistungsniveau gegenüber der Version Sterrad[®] 100 S mindestens gleich geblieben ist. Die vom Hersteller im Bedienerhandbuch für den Sterrad[®] 200 empfohlenen Anwendungsbereiche konnten durch unsere Versuche nachvollzogen und sogar eine sichere Sterilisation außerhalb der Herstellervorgaben festgestellt werden.

Die Vergrößerung der Sterilisationskammer bei gleicher Sterilisationssicherheit kann unter Praxisbedingungen im Krankenhaus gegenüber anderen Geräteversionen als Vorteil betrachtet werden, weil dadurch die Sterilisationskosten pro Instrument gesenkt werden können.

Weitere Versuche müssen die Anwendbarkeit des Verfahrens bei anderen materialtechnischen und dimensionsabhängigen Varianten von verschiedenen Medizinprodukten zeigen. Hier bieten sich wiederum Konformitätstestungen an, wie sie bereits für die Sterilisation metallischer Instrumente im Dampfsterilisationsverfahren gemäß den Testergebnissen des Arbeitskreises für Instrumentenaufbereitung (AKI, 2001) existieren. Zukünftige Entwicklungen sollten die Markteinführung einer Geräteversion zum Ziel haben, die auf die Verwendung eines Diffusionsverstärkers bei der Sterilisation von medizinischen Instrumenten ganz verzichten kann.

7 Literaturverzeichnis

1. Addy TO: Low Temperature Plasma: A New Sterilisation Technology For Hospital Applications. In: Morissey RF, Prokopenko YI (Hrsg): Sterilization of Medical Products. Vol.V. Polyscience Publications Inc., Morin Heights. 1991, S. 80-95.
2. Adler S, Scherrer M, Daschner FD: Costs of low-temperature plasma sterilization compared with other sterilization methods. *J Hosp Infect* 40 (1998) 125-134
3. Alfa MJ, DeGagne P, Olson N, Puchalski T: Comparison of ion plasma, vaporized hydrogen peroxide, and 100 % ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer. *Infect Control Hosp Epidemiol* 17 (1996) 92-100
4. American Public Health Association: Standard methods for the examination of water and wastewater. Port City Press, Baltimore, USA, 1985, S. 862-864
5. Arbeitsgemeinschaft Aufbereitung von chirurgischem Instrumentarium (AKI): Sterilisierbarkeit wieder verwendbarer chirurgischer Instrumente. *Zentr Steril* 9 (2001) 425-437
6. Barbee SL, Weber DJ, Sobsey MD, Rutala WA: Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity by disinfection and sterilization processes. *Gastrointestinal endoscopy* 49 (1999) 605-611(5)
7. Block SS: Peroxygen compounds. In: Block SS (Hrsg): Disinfection, Sterilization And Preservation. 4. Aufl., Lea und Febinger, Philadelphia, 1991, S. 168-181
8. Bodendorf MP: Modellversuche zur Darstellung der Leistungsgrenzen des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens bei der Behandlung flexibler Endoskope. Med. Dissertation, Universität Halle-Wittenberg, 2000
9. Borneff J, Borneff M: Hygiene, 5. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1991, S. 439-455

10. Borneff M, Ruppert J, Okpara J, Bach A, Mannschott P, Amreihn P, Sonntag HG: Wirksamkeitsprüfung der Nieder-Temperatur-Plasmasterilisation (NTP) anhand praxisnaher Prüfkörpermodelle (Efficacy testing of low-temperature plasma sterilization (LTP) with test object models simulating practice conditions). Zentr Steril 3 (1995) 361-381
11. Borneff-Lipp M, Okpara J, Bodendorf M, Sonntag HG: Validation of low-temperature-plasma (LTP) sterilization systems – comparison of two technical versions, the Sterrad™ 100, 1.8 and the 100 S. Hygiene und Mikrobiologie 3 (1997) 3-10
12. Borneff-Lipp M: Prüfung einer neuen Geräteversion (Sterrad 100 S) des Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisationsverfahrens (Testing of a new technical version (Sterrad 100 S) of the low-temperature-plasma (LTP)-sterilization systems). Zentr Steril 6 (1998) 113-121
13. Bux E: Prävention von Infektionen in der zentralen Aufbereitung. In: Daschner F. (Hrsg): Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz. 2. überarbeitete Auflage, Berlin, 1997, S. 639-659
14. Caputo RA: Das AbTox™Plazlyte™ Sterilisationssystem – ein FCKW-freies System (The AbTox™Plazlyte™ sterilization system – a CFC free system). Zentr Steril 2 (1994) 281-285
15. Costin ID, Grigo J: Bioindikatoren zur Autoklavierungskontrolle. Einige theoretische Aspekte und praktische Erfahrungen bei der Entwicklung und Anwendung. Zbl Bakt Hyg, I. Abt. Orig. A 227 (1974) 483-521
16. Crow S, Smith JH: Gas Plasma Sterilization, Application of Space-Age-Technology, Infection Control & Hospital Epidemiology 16 (1995) 483-487
17. Curran HR, Evans FR, Leviton A: The sporicidal action of Hydrogen Peroxide and the use of crystalline catalase to dissipate residual peroxide. J Bacteriol 40 (1940) 423-433
18. DAB 2005: Deutsches Arzneibuch 2005. Deutscher Apotheker, Stuttgart, 2005, S. 44

19. Dettenkofer M., Daschner F. D.: Umweltschonende Sterilisation und Desinfektion. In: Daschner F. (Hrsg): Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz. 2. überarbeitete Auflage, Berlin, 1997, S. 201-221
20. DGHM: Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie e.V.: Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren. Erster Teilabschnitt (Stand 1.1.1991) Gustav Fischer, Stuttgart, New York, 1981, S. 11
21. DIN EN 866 Teil 3: Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren und Sterilisationsverfahren. Teil 3: Spezielle Systeme für den Gebrauch in Sterilisatoren mit feuchter Hitze. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 1997
22. DIN EN 866 Teil 5: Biologische Systeme für die Prüfung von Sterilisatoren. Teil 5: Systeme für den Gebrauch in Sterilisatoren mit Nieder-Temperatur-Dampf und Formaldehyd. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 2000
23. DIN EN ISO 14161: Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Biologische Indikatoren – Leitfaden für die Auswahl, Verwendung und Interpretation von Ergebnissen. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 2000
24. DIN EN ISO 11737 Teil 2: Sterilisation von Medizinprodukten – Mikrobiologische Verfahren – Sterilisationsprüfungen bei der Validierung eines Sterilisationsverfahrens. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 2000
25. DIN 58953 Teil 1: Sterilisation; Sterilgutversorgung; Begriffe. Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth, Berlin, 1987
26. DIN 58948 Teil 13: Sterilisation; Gas-Sterilisation; Prüfung auf Wirksamkeit von Formaldehyd-Gas-Sterilisatoren. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 1987
27. Dräger J, Prüter JW: Eignung verschiedener Verfahren zur Sterilisation von mikrochirurgischen Instrumenten. Klin Mbl Augenheilk 197 (1990) 133-137

28. Eggers F, Appel L, Kubla R: Die Niedrigtemperatur-Plasma-Sterilisation, Pflegezeitschrift 3 (1995) 131-135
29. EN ISO 14937: Allgemeine Anforderungen an die Charakterisierung eines Sterilisiermittels und an die Entwicklung, Validierung und Routineüberwachung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte. Europäisches Komitee für Normung, Brüssel, 2001
30. Feldman LA, Hui HK: Compatibility of Medical Devices and Materials with Low-Temperature Hydrogen Peroxide Gas Plasma. Medical Device and Diagnostic Industry (1997) 57-62
31. Food and Drug Administration, Division of General and Restorative Devices: Guidance on premarket notification [510(k)] submission for sterilizers intended for use in health care facilities. Washington (DC): FDA; January 1993.
32. Förtsch M, Prüter JW, Dräger J, Helm F, Sammann A, Seibt H, Ahlborn H: H₂O₂-Niedrigtemperatur-Plasmasterilisation (NTP) – Neue Möglichkeiten für den Einsatz augenchirurgischer Instrumente. Der Ophthalmologe 90 (1993) 754-764
33. Förtsch M, Okpara J, Hasenpflug J, Borneff-Lipp M: Ergebnisse der Sterilisation von praxisnahen Prüfkörpern für Endoprothesen mit H₂O₂-Niedrigtemperatur-Plasma. Posterveröffentlichung anlässlich der 48. Jahrestagung der Norddeutschen Orthopädenvereinigung e.V., 17-19. Juni 1999, Münster
34. Gesetz über Medizinprodukte (Medizinproduktegesetz – MPG) vom 07. August 2002, BGBl. I 2002, Nr. 58, 3146-3164
35. Gesetz über Medizinprodukte (Medizinproduktegesetz – MPG) geändert am 25. November 2003, BGBl. I 2003, Nr. 56, 2316-2317
36. Gundermann KO, Rüden H: Über die Wirksamkeit des Plasmasterilisators Sterrad[®] 100 der Firma Johnson & Johnson Medical GmbH. Gutachten vom 14.02.1992

37. Hilbert M: Grundlagen und praktischer Einsatz der Plasmasterilisation im Krankenhaus. Krankenhaushygiene und Infektionsverhütung 19 (Sonderheft 1997) 37-41
38. Höller C, Martiny H, Christiansen B, Rüdén H, Gundermann KO: The efficacy of low temperature plasma (LTP) sterilization, a new sterilization technique. Zbl Hyg 194 (1993) 380-391
39. Jacobs PT, Kowatsch R: A New Technology for Instrument Sterilization. Endosc Surg Allied Technol 1 (1993) 57-58
40. Jacobs PT: Sterrad[®] 100 S Sterilization System. Johnson & Johnson Medical, A.S.P., Irvine, USA (1997)
41. Jacobs PT, Smith D: Das neue Sterilisationssystem Sterrad[®] 100 S: Funktionsweise und Vorzüge (The new Sterrad 100 S sterilisation system: Features and advantages). Zentr Steril 6 (1998) 86-94
42. Johnson & Johnson: Sterrad[®] 100 Sterilizer – Benutzerhandbuch. Johnson & Johnson Medical, Hamburg, 1993
43. Johnson & Johnson: Sterrad[®] 200 Sterilizer – Benutzerhandbuch. Johnson & Johnson Medical, Hamburg, 2001
44. Jordy A: Niedrigtemperatur-Plasmasterilisation (NTP) im Krankenhausbereich – eine Alternative zu Ethylenoxid (EO) und Formaldehyd (FO). Krh Hyg Inf verh 12 (1990) 167-180
45. Jordy A: Gas-Sterilisationsverfahren im Krankenhausbereich (Ethylenoxid-(EO-), Formaldehyd- (FO-), Niedrig-Temperatur-Plasma- (NTP-) Sterilisation). Hyg Med 16 (1991) 512-518

46. Koller W, Lessky E: Mikrobiologische Ergebnisse und Beobachtungen mit einem H₂O₂-Plasmasterilisateur (Microbiological test results and observation with an H₂O₂ plasma sterilizer). Zentr Steril 4 (1996) 79-87
47. Kramer A: Mitteilungen des Vorstandes der DGHM zum aktuellen Erkenntnisstand der Validierung des Sterrad[®]-Plasma-Sterilisationsverfahrens mit den sich ergebenden Schlussfolgerungen für die Praxis. Hyg Med 20 (1995) 52-53
48. Kyi MS, Holton J, Ridgway GL: Assessment of the efficacy of a low temperature hydrogen peroxide gas plasma sterilization system. J Hosp Infect 31 (1995) 275-284
49. Lundholm M, Nyström B: Validierung von Niedrigtemperatur-Sterilisatoren – sind Sporenpräparate geeignete Bioindikatoren? (Validation of low temperature sterilisers – are spore preparations suitable biological indicators?). Zentr Steril 2 (1994) 370-374
50. Martius K, Janzen N: Sterrad[®] 100 Sterilisationssystem – Zusammenfassender Untersuchungsbericht zur Vergabe des „Bauart Geprüft Zeichens“. Report No.: 01/410 – 3005/02, Department of Chemistry and Medical Products, München, 1993
51. Mecke P: Untersuchungen zur Wirksamkeit des Sterrad[®] 100-Verfahrens unter erschwerten Bedingungen. Forschungsbericht, Oktober 1992a
52. Mecke P: Wasserstoffperoxid Plasma – ein interessantes mikrobizides Prinzip (Hydrogen peroxide plasma – an interesting microbiocidal concept). Hyg Med 17 (1992b) 537-543
53. Netter KJ: Toxikologische Bewertung des Sterrad[®]-Verfahrens zur Sterilisation verschiedener Materialien mit aktiviertem Wasserstoffperoxid. Gutachten Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Marburg, 1992
54. Okpara J: Evaluierung der Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisation: Vorschlag zur Methodik bei der mikrobiologischen Prüfung des Verfahrens. Med. Dissertation, Universität Heidelberg, 1997

55. Okpara J: Voraussetzungen für die Überprüfung von Sterilisationsverfahren mit Bacillus Sporen (Requirements for the testing of sterilisation processes with Bacillus spores). Zentr Steril 6 (1998) 96-112
56. Okpara J, Schmitt B, Borneff-Lipp M: A new technical version of the hydrogen peroxide plasma sterilization system designed for central services – Sterrad™ 200. Posterdemonstration 6. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH), 7.-10.04.2002, Berlin
57. Okpara-Hofmann J, Knoll M, Dürr M, Schmitt B, Borneff-Lipp M: Comparison of low-temperature hydrogen peroxide gas plasma sterilization for endoscopes using various Sterrad™ models. J Hosp Infect 59 (2005) 280-285
58. Peters J, Borchers U: Vergleichende Untersuchungen zur Resistenz von Mycobacterium terrae, Aspergillus niger und Bacillus-Sporen bei der Plasma-Sterilisation. Zentr Steril 3 (1995) 163-172
59. Rose PW, Liston EM: Treating plastic surfaces with cold gas plasma. Plastics Engineering (Oktober 1985) 41-45
60. Rudolph H, Hilbert M: Praktische Erprobung des neuen Plasmasterilisators „Sterrad® 100 S“ im Diakoniekrankenhaus Rotenburg (W) (Practical testing of the new plasma steriliser „Sterrad® 100 S“ in the Diakoniekrankenhaus Rotenburg (W)). Zentr Steril 5 (1997) 207-215
61. Ruppert J: Darstellung der Leistungsgrenzen des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens bei Behandlung englumiger Objekte. Med. Dissertation, Universität Heidelberg, 1995
62. Rutala WA, Weber DJ: Low-temperature sterilization technologies: Do we need to redefine „sterilization“? Infect Control Hosp Epidemiol 17 (1996) 87-91

63. Scherrer M, Daschner F: Vergleich der human- und ökotoxikologischen Wirkungen verschiedener Sterilisationsverfahren für thermolabile Materialien. Hyg Med 20 (1995) 410-420
64. Schneider C, Schmitt B, Dürr M, Okpara J, Borneff-Lipp M: Vergleich zweier Chemoindikatoren (Cross-Checks P und Sterrad Chemical Indicator Strip) im Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahren Sterrad 100S und Sterrad 50. ZSVA-Spiegel 3: Register 8 (2000) 1-5
65. Spencer RM, Addy TO: Plasma-enhanced vacuum drying, European Patent Application EP 0707186A1, (1996)
66. Spicher G, Borchers U: Welche Länge und lichte Weite soll der Testkörper für die mikrobiologische Wirksamkeitsprüfung von Formaldehyd-Gassterilisationsverfahren besitzen? Zbl Bakt Hyg I Abt. Orig. B 179 (1984) 457-468
67. Technische Regeln für Gefahrstoffe, TRGS 513: Begasung mit Ethylenoxid und Formaldehyd in Sterilisations- und Desinfektionsanlagen. BarbBl 2 (2000) 52
68. USP 29 – NF 24: United States Pharmacopeia Convention – National Formulary. 29. Ed., Rockville, Md., USA, 2006, S. 1348
69. Venugopalan M, Shih AL: Reactions of hydrogen peroxide vapor dissociated in a microwave plasma. Plasma Chemistry and Plasma Processing 1 (1981) 191-200
70. Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen (Gefahrstoffverordnung – GefStoffV) vom 23. Dezember 2004, BGBl. I, Nr. 74, 3758
71. Vickery K, Deva AK, Zou J, Kumaradeva P: Inactivation of duck hepatitis B virus by a hydrogen peroxide gas plasma sterilization system: laboratory and 'in use' testing. Journal of Hospital Infection 41 (1999), 317-322 (4)
72. Wallhäußer KH: Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung. 5. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1995, S. 277-337

73. Weidenfeller PM: Plasmasterilisation; Verfahren und Indikation; Prüfkörpermodelle – Info an Gesundheitsämter. Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg, 1996
74. Yan ZX, Stitz L, Heeg P, Pfaff E, Roth K: Infectivity of prion protein bound to stainless steel wires: a model for testing decontamination procedures for transmissible spongiform encephalopathies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 25 (2004) 280-283

8 Anhang

8.1 Quantitative Ergebnisse

8.1.1 Flexibles Cranioskop:

Sterilisationsverfahren:	Sterrad® 200 langer Halbzyklus
Innendurchmesser:	0,6 mm
Länge:	70 cm
Diffusionsverstärker:	mit
Keimträger:	Stahldraht
Zusatzbeladung:	4 x 2 kg

Tab. 9: Quantitative Einzelergebnisse für den Prüfkörper „flexibles Cranioskop“

Prüfkörper	durchschnittliche Ausgangskeimzahl	log No	durchschnittliche Anzahl überlebender Sporen (N)	log N	RF logNo-logN
1	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
2	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
3	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
4	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
5	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
6	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
7	$1,5 \times 10^6$	6,2	0/1*	0	6,2
8	$1,5 \times 10^6$	6,2	0/1*	0	6,2
9	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
10	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1

Bemerkungen:

*1, da log von 0 nicht möglich ist.

Testtag 1: Prüfkörper 1 + 2

Testtag 3: Prüfkörper 7 + 8

Testtag 2: Prüfkörper 3 – 6

Testtag 4: Prüfkörper 9 + 10

8.1.2 Starres Ureterorenoskop:

Sterilisationsverfahren:	Sterrad® 200 langer Halbzyklus
Innendurchmesser:	1,7 mm
Länge:	48,5 cm
Diffusionsverstärker:	mit
Keimträger:	Stahldraht
Beladung:	ASP (4 x 2 kg)

Tab. 10: Quantitative Einzelergebnisse für den Prüfkörper „starres Ureterorenoskop“

Prüfkörper	durchschnittliche Ausgangskeimzahl	log No	durchschnittliche Anzahl überlebender Sporen (N)	log N	log RF logNo-logN
1	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
2	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
3	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
4	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
5	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
6	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
7	$1,5 \times 10^6$	6,2	0/1*	0	6,2
8	$1,5 \times 10^6$	6,2	0/1*	0	6,2
9	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
10	$1,3 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1

Bemerkungen:

*1, da log von 0 nicht möglich ist.

Testtag 1: Prüfkörper 1 – 4

Testtag 3: Prüfkörper 7 + 8

Testtag 2: Prüfkörper 5 + 6

Testtag 4: Prüfkörper 9 + 10

8.1.3 Flexibles Gastroskop ohne Optik:

Sterilisationsverfahren:	Sterrad® 200 kurzer Halbzyklus
Innendurchmesser:	2,8 mm
Länge:	116 cm
Diffusionsverstärker:	ohne
Keimträger:	Stahlcoupon
Beladung:	ASP (4 x 2 kg)

Tab. 11: Quantitative Einzelergebnisse für den Prüfkörper „flexibles Gastroskop ohne Optik“

Prüfkörper	durchschnittliche Ausgangskeimzahl	log No	durchschnittliche Anzahl überlebender Sporen (N)	log N	log RF logNo-logN
1	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
2	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
3	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
4	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
5	$1,4 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
6	$1,4 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
7	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
8	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
9	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
10	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1

Bemerkungen:

*1, da log von 0 nicht möglich ist.

Testtag 1: Prüfkörper 1 – 4

Testtag 3: Prüfkörper 7 + 8

Testtag 2: Prüfkörper 5 + 6

Testtag 4: Prüfkörper 9 + 10

8.1.4 Starres Laparoskop:

Sterilisationsverfahren:	Sterrad [®] 200 kurzer Halbzyklus
Innendurchmesser:	5 mm
Länge:	33 cm
Diffusionsverstärker:	ohne
Keimträger:	Stahlcoupon
Beladung:	ASP (4 x 2 kg)

Tab. 12: Quantitative Einzelergebnisse für den Prüfkörper „starres Laparoskop“

Prüfkörper	durchschnittliche Ausgangskeimzahl	log No	durchschnittliche Anzahl überlebender Sporen (N)	log N	log RF logNo-logN
1	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
2	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
3	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
4	$1,2 \times 10^6$	6,1	0/1*	0	6,1
5	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0
6	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0
7	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0
8	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0
9	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0
10	$1,0 \times 10^6$	6,0	0/1*	0	6,0

Bemerkungen:

*1, da log von 0 nicht möglich ist.

Testtag 1: Prüfkörper 1 – 4

Testtag 2: Prüfkörper 5 – 10

8.2 Qualitative Ergebnisse

Tab. 13: Zusammenfassung der qualitativen Ergebnisse

Prüfkörper	Anzahl der getesteten Proben	Anzahl der Proben mit Wachstum des Testkeimes
Flexibles Cranioskop	50	0
Starres Ureterorenoskop	50	0
Flexibles Gastroskop	50	1
Starres Laparoskop	50	0

9 Thesen

1. Mit der Entwicklung von Nieder-Temperatur-Gassterilisationsverfahren in Form der Ethylenoxid- und Formaldehyd-Sterilisation wurden Möglichkeiten zur Sterilisation von thermolabilen, als auch leicht korrodierenden Medizinprodukten und medizinischen Geräten geschaffen. Jedoch besteht bei beiden Systemen das Problem der Toxizität der eingesetzten Wirkstoffe, wodurch lange Ausgasungszeiten des Sterilisiergutes erforderlich werden. Mit Einführung der Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisation (NTP) unter Einsatz von H_2O_2 als wirksamem Agens wurde eine Alternative ohne die vorgenannten Nachteile geschaffen.
2. Die Technologie der NTP-Sterilisation ist seit ihrer Markteinführung Gegenstand kontroverser Diskussionen, da bei langen, englumigen und metallischen Objekten nicht unter allen Bedingungen eine ausreichend hohe Konzentration von Wasserstoffperoxid-Plasma im Inneren des Sterilisiergutes zu erwarten sei. Kritisch betrachtet werden vor allem die erschwerte Diffusion des Wasserstoffperoxid-Gases, die Wirkstoffzehrung durch verschiedene Werkstoffe und die metallische Abschirmung des elektromagnetischen Feldes zur Plasmaerzeugung.
3. Die neue Geräteversion Sterrad[®] 200 wurde vom Hersteller mit einem Sterilisationskammervolumen von 150 l gegenüber 100 l bei der Version Sterrad[®] 100 S ausgestattet. Des weiteren wurden die H_2O_2 -Eintrittsstellen aufgeteilt und die H_2O_2 -Konzentration in der Sterilisationskammer erhöht. Diese Veränderungen forderten eine Evaluierung der Leistungsfähigkeit des Sterrad[®] 200, um mögliche Verbesserungen bzw. Verschlechterungen gegenüber früheren Geräteversionen feststellen zu können.
4. Da die Effektivität der NTP-Sterilisation im Sterrad[®] 200 zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns noch nicht anhand echter Instrumente geprüft wurde, verwendeten wir verschiedene exemplarisch gewählte flexible und starre Endoskope als Prüfkörper. Jeder Testzyklus wurde mit einer Zusatzbeladung von 4 x 2 kg unterschiedlicher medizinischer Instrumente durchgeführt, um während der Versuche eine Routinesituation zu simulieren.

5. Die Prüfkörper wurden einer Innenkontamination unterzogen, in dem Sporen von *Geobacillus stearothermophilus* als Testorganismus auf ein Trägermaterial aus V4A-Stahl in einer Menge von $\geq 10^6$ koloniebildenden Einheiten pro Keimträger aufgebracht wurde. Wir erwarteten eine Abhängigkeit des Sterilisationsergebnisses von der Dimensionierung der Prüfkörper.
6. Versuche mit den Prüfkörpern „flexibles Gastroskop“ (ohne Optik) – außerhalb der Herstellervorgaben – und „starres Laparoskop“ haben gezeigt, dass bei Innendurchmessern von 2,8 mm bzw. 5 mm und Längen von 116 cm bzw. 33 cm eine sichere Sterilisation im kurzen Halbzyklus ohne Anwendung eines Diffusionsverstärkers möglich ist.
7. Versuche mit den Prüfkörpern „flexibles Cranoskop“ (ohne Optik) und „starres Ureterorenoskop“ wurden im langen Halbzyklus unter Anwendung eines Diffusionsverstärkers ebenfalls erfolgreich durchgeführt; mit diesem Hilfsmittel konnte – auch bei Dimensionen außerhalb der Herstellervorgaben – bei den Innendurchmessern von 0,6 mm bzw. 1,7 mm und den Längen von 70 cm bzw. 48,5 cm kein Wachstum der Testorganismen und somit eine sichere Sterilisation festgestellt werden.
8. Anhand der durchgeführten Versuche lässt sich der Schluss ziehen, dass mit Hilfe des Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisationsverfahrens Sterrad® 200 ein Sterilisationseffekt im Sinne der geltenden Definition von *Geobacillus stearothermophilus*-Sporen im Inneren von Endoskopen mit den beschriebenen Verhältnissen von Durchmesser und Länge erzielt werden kann.
9. Der Vergleich der Versuchsergebnisse unter identischen Bedingungen in früheren Geräteversionen zeigt, dass das Leistungsniveau bezüglich der Abtötung der Testorganismen im Inneren der geprüften Endoskope mindestens gleich geblieben ist. Die vom Hersteller im Bedienerhandbuch für den Sterrad® 200 empfohlenen Anwendungsbereiche konnten durch unsere Versuche nachvollzogen bzw. bestätigt und sogar eine sichere Sterilisation außerhalb der Herstellervorgaben festgestellt werden.

10. Aufgrund der vielfältigen Einflussfaktoren, wie z. B. geometrische Abmessungen und Materialzusammensetzungen des Sterilisiergutes, ist es grundsätzlich problematisch, die Sterilisationssicherheit im Einzelnen abzuschätzen. Im Prinzip müssten daher praktische Versuche mit nahezu allen Sterilisationssituationen durchgeführt werden. Die Durchführung von Konformitätstestungen, wie sie entsprechend den Vorgaben des Medizinproduktegesetzes (2002, 2003) vorzunehmen sind, ist für zukünftige Erweiterungen der Anwendungsbereiche als praktikable Alternative zu empfehlen.

Lebenslauf

Personalien

Vorname und Name: Rainer Schenk
Geburtsdatum: 03.07.1977
Geburtsort: Neuburg an der Donau
Familienstand: ledig
Adresse: Klausenbrunnenweg 34, 86641 Rain

Vater: Herbert Schenk
* 16.08.1952

Mutter: Margit Schenk, geb. Haberl
* 05.11.1952

Schulischer Werdegang und Berufsausbildung

09/1983 – 07/1993: Besuch der Grund-, Haupt- und Realschule Rain
Abschluss mit Mittlerer Reife

09/1993 – 08/1995: Ausbildung zum Industriekaufmann und Angestellten-
Verhältnis im Bereich Einkauf bei der Firma Sigel GmbH + Co

09/1995 – 07/1997: Berufsoberschule in Scheyern
Allgemeine Hochschulreife mit der Fachrichtung Wirtschaft

Zivildienst

09/1997 – 09/1998: Beim ambulanten Pflegedienst des Paritätischen
Wohlfahrtsverbandes in Regensburg

Universitärer Werdegang

10/1998: Immatrikulation im Fach Zahnmedizin an der Martin-Luther-
Universität Halle-Wittenberg

03.08.1999: Naturwissenschaftliche Vorprüfung

09.03.2001	Zahnärztliche Vorprüfung
30.10.2003	Staatsexamen
20.11.2003	Erteilung der Approbation als Zahnarzt

Beruflicher Werdegang

03/2004 – 11/2004	Assistenz Zahnarzt ganztags in der Zahnarztpraxis Dr. Sirch in Augsburg
12/2004 – 09/2005	Assistenz Zahnarzt jeweils halbtags in den Zahnarztpraxen Dr. Sirch und Dr. Reichart in Augsburg
Seit 10/2005	Weiterbildungsassistent für Oralchirurgie in der Praxis für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie Dr. med. Bernd G. Rehberg und Dr. med. dent. Daniel Tolan in Erding

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt zu haben.

Dabei habe ich mich keiner anderen als der von mir angegebenen Quellen und Hilfen bedient.

Datum: 09.06.07

Unterschrift: Rainer Schenk

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich keine Promotionsversuche mit gleicher oder einer anderen Dissertation durchgeführt habe.

Datum: 09.06.07

Unterschrift: Rainer Schenk

Danksagung

Großer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Marianne **Borneff-Lipp**, Direktorin des Institutes für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, für die freundliche Überlassung des Themas dieser Arbeit. Nicht nur ihre Hinweise und kritischen Anmerkungen waren mir eine große Hilfe, sondern auch ihr stets kollegialer und freundlicher Umgang mit allen Doktoranden des Institutes.

Sehr verbunden bin ich ebenfalls Frau Dr. rer. nat. Annette **Kaetzke** und Herrn Dipl.-Chem. Matthias **Dürr**, wissenschaftliche Mitarbeiter des Institutes für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, deren fachkundige Beratungen und Engagement wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Frau Dr. med. Julia **Okpara-Hofmann**, damalige Oberärztin des Institutes für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, möchte ich für die fachliche Beratung im Anfangsstadium dieser Arbeit und jederzeit freundlichen Hilfe danken.

Herrn Prof. Dr. med. Johannes **Haerting** vom Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Medizinische Informatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg möchte ich für die Unterstützung und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuche danken.

Bei den medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors für Krankenhaushygiene des Institutes für Hygiene der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Frau Birgit **Schmitt** und Frau Ina **Feldmann**, bedanke ich mich für die freundliche Aufnahme bei der Durchführung meiner Experimente in den Laboratorien.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg danke ich für die freundliche Atmosphäre und Zusammenarbeit.

Den Firmen **A.S.P.**, Johnson & Johnson, Irvine, USA und Richard **Wolf GmbH**, Knittlingen, Deutschland, wird für die Zurverfügungstellung ihrer Produkte gedankt.