

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

**Sterilisation eines neuen 2-Kanal-Endoskops mit einem neuen
Sterilbarrieresystem im H₂O₂-Gas-Plasma-Sterilisationsverfahren**

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

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

von Simon Adolf-Adalbert Karbowski
geboren am 25.10.1985 in Münster

Gutachter: Frau Prof. Dr. Borneff-Lipp
Herr PD Dr. Hamza
Herr Prof. Dr. Junghannß (Köthen)

14.01.2014

18.09.2014

Referat

Hochkomplexe Medizinprodukte, wie z.B. flexible Endoskope, mit bestimmten thermolabilen Werkstoffkomponenten, können mit den gebräuchlichen Dampfsterilisationsverfahren nicht aufbereitet werden. Für diesen Fall existieren Niedertemperatur-Sterilisationsverfahren, wie z.B. das Niedertemperatur-Gas-Plasma (NTGP)-Sterilisationsverfahren. Die Einsatzfähigkeit dieses Verfahrens hat Grenzen in Bezug auf lange, endständige Lumen und bestimmte Materialien und wird daher vielseitig diskutiert. Zudem müssen für die Sterilisation geeignete Sterilbarriersysteme zur Verfügung stehen.

Ziel der Arbeit war die Wirksamkeitsprüfung der beiden aktuellen NTGP-Sterilisationsgeräte (STERRAD[®] NX[®] und STERRAD[®]100NX[®] (A.S.P. Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)). Diese wurden einer mikrobiologischen Wirksamkeitsprüfung unterzogen in Bezug auf ein flexibles 2-Kanal-Dauerspül-Laser-Ureterorenoskop („The Cobra“ Richard Wolf GmbH, Knittlingen), mit einem Kanal-Lumen außerhalb der Herstellerangaben der Verfahren. Desweiteren wurden zwei Sterilbarriersysteme, das APTIMAX[®] INSTRUMENT TRAY und das Sterisafe[®] DURO A3-Set getestet. Die beiden Kanäle des Prüfkörpers wurden mit einem ca. 1 cm langen Stahldraht, auf welchen Sporen von *G. stearotherophilus* (Stamm ATCC 7953) inokuliert worden waren, an der am schwersten zugänglichen Stelle bestückt, in eines der beiden Sterilbarriersysteme verpackt und anschließend sterilisiert.

Beide Sterilisationstechnologien waren mit einer Software versehen, welche eine Evaluierung sowie eine Vergleichbarkeit mit anderen Sterilisationsverfahren, im Sinne der Halbzyklusmethode ermöglichte (DIN EN ISO 14937, 2010). Nach der Sterilisation wurden die überlebenden Keime ermittelt. Insgesamt wurden für jedes Gerät und jedes Sterilbarriersystem 10 quantitative Sterilisationszyklen und 50 qualitative Sterilisationszyklen (insgesamt 240 Zyklen), bei denen insgesamt 480 Keimträger anfielen, durchgeführt und ausgewertet.

Bei keinem der Versuche kam es im Anschluss zu einem Keimwachstum. Damit konnte die Wirksamkeit des Verfahrens mit beiden Geräteversion und beiden Sterilbarriersystemen, in Bezug auf das getestete Endoskop, gemäß dem Anforderungen in Deutschland (DIN 14161, 2010) über die Herstellerangaben hinaus bewiesen werden.

Karbowski, Simon Adolf-Adalbert: Sterilisation eines neuen 2-Kanal-Endoskops mit einem neuen Sterilbarriersystem im H₂O₂-Gas-Plasma-Sterilisationsverfahren. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 69 Seiten, 2014

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis		VI-VII
1	Einleitung	1
1.1	Einteilung der Medizinprodukte zur Aufbereitung	1
1.2	Einsatzbereich der Niedertemperaturverfahren	4
1.2.1	Ethylenoxid-Sterilisation	4
1.2.2	Niedertemperatur-Dampf-und-Formaldehyd-Verfahren	5
1.2.3	Niedertemperatur-H ₂ O ₂ -Gas-Plasmasterilisations-Verfahren	6
1.3	Aufbereitung von Endoskopen	8
1.4	Sterilbarrieresysteme	8
2	Zielsetzung	9
3	Material und Methodik	10
3.1	Testgeräte	10
3.1.1	Phasen des STERRAD®-Sterilisationsverfahrens	13
3.2	Prüfkörper	16
3.2.1	Endoskope	16
3.2.2	Sterilbarrieresysteme	18
3.3	Testorganismus	19
3.4	Sporenstammsuspension	20
3.5	Gebrauchssuspension	22
3.6	Reinheitskontrolle	24
3.7	Keimträger	24
3.8	Keimzahlbestimmung auf den Keimträgern	26
3.9	Durchführung der Versuche	29
3.9.1	Versuchsablauf	29
3.9.2	Reinigung der Container und Trays	33
3.10	Auswertung der sterilisierten Keimträger	34
3.10.1	Qualitative Auswertung	34
3.10.2	Quantitative Auswertung	36
3.10.3	Statistische Auswertung	36

4	Ergebnisse	37
4.1	Umfang der Versuche	37
4.2	Ausgangskeimzahlen	37
4.3	Ergebnisse im STERRAD® NX®	39
4.4	Ergebnisse im STERRAD® 100NX®	40
4.5	Ergebnisse der Kontrollen	40
4.6	Fazit	40
5	Diskussion	42
5.1	Aufbereitung flexibler Endoskope	42
5.2	Materialverträglichkeit von H ₂ O ₂ -Gas in Bezug auf flexible Endoskope	43
5.3	Kostenreduktion in der Sterilgutversorgung	44
5.4	STERRAD® NX®	44
5.5	STERRAD® 100 NX®	45
5.6	Savuna Sterisafe® -Sterilbarrieresystem	45
6	Zusammenfassung	47
7	Literatur	50
8	Anhang	57
8.1	Keimzahlen der Kontrollen	57
8.1.1	STERRAD® NX®	57
8.1.2	STERRAD® 100NX®	59
8.1.3	Statistik Ausgangskeimzahlen	62
8.2	Quantitative Ergebnisse	63
8.2.1	STERRAD® NX®	63
8.2.2	STERRAD® 100 NX®	65
8.3	Qualitative Ergebnisse	67
8.3.1	STERRAD® NX®	67
8.3.2	STERRAD® NX®	67
9	Thesen	68
	Tabellarischer Lebenslauf	VIII
	Selbstständigkeitserklärung	IX
	Erklärung über frühere Promotionsversuche	X
	Danksagung	XI

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
A.S.P.	Advanced Sterilization Products
Abb.	Abbildung
arith.	Arithmetisch
Art.-Nr.	Artikelnummer
ATCC	American Type Culture Collection
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
Bidest	zweifach destilliert
CASO	Caseinpepton-Sojamehlpepton
CLP	Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures
cm	Zentimeter
DGSV	Deutsche Gesellschaft für Sterilgutversorgung
DIN	Deutsches Institut für Normung
D-Wert	Dezimalreduktionszeit
EN	Europäische Normen
EO	Ethylenoxid
g	Gramm
G.	<i>Geobacillus</i>
GefStoffV	Gefahrstoffverordnung
h	Stunde
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
KBE	koloniebildende Einheiten
kHz	Kilohertz
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektions- prävention
KT	Keimträger
L	Liter
Log	Logarithmus
mbar	Millibar
min	Minute
ml	Milliliter

mm	Millimeter
neg.	negativ
NTDF	Niedertemperatur-Dampf-und-Formaldehyd-Verfahren
NTGP	Niedertemperatur-Gas-Plasma
NT	Niedertemperatur-Verfahren
pos.	positiv
ppm	parts per milion
RF	Reduktionsfaktor
s	Sekunde
SAL	Sterility Assurance-Level (Sterilisationssicherheitsniveau)
Tab.	Tabelle
TRGS	Technische Regeln für Gefahrenstoffe
U/min	Umdrehung pro Minute
v/v	Volumen/Volumen
YAG	Yttrium-Aluminium-Granat

1 Einleitung

1.1 Einteilung der Medizinprodukte zur Aufbereitung

Vor der Aufbereitung muss jedes Medizinprodukt einer Risikobewertung unterzogen werden, um festzulegen ob, wie oft und mit welchem Verfahren es aufbereitet werden soll (KRINKO, 2012). Die Einteilung der Medizinprodukte geht auf Dr. E. Spaulding zurück, unterteilt in „kritisch“, „semikritisch“ und „unkritisch“ und richtet sich nach dem Risiko, das bei ihrer Verwendung für Patienten besteht (vgl. McDonnell und Burke, 2011).

Für den deutschen Raum brachte das Robert Koch-Institut 2012 eine überarbeitete Auflage ihrer 2001 veröffentlichten Empfehlungen heraus, die ähnlich der Spaulding-Klassifikation einteilt, jedoch die Einstufung verfeinert, indem auch die Komplexität der Instrumente und die damit verbundenen, unterschiedlichen Anforderungen an die Reinigung, die Schulung des Personals und das Qualitätsmanagement einzuschließen (KRINKO, 2012; Rosenberg, 2013) (Tab.1).

Tabelle 1: Risikobewertung und Einstufung von Medizinprodukten vor der Aufbereitung (modifiziert nach KRINKO 2012)

Einstufung	Medizinprodukt	Vorbereitung	Reinigung / Desinfektion	Sterilisation	Besondere Anforderungen
Unkritisch	z.B. EKG-Elektrode	nein	ja	nein	
Semikritisch					
A	z.B. Spekulum	(ja)	ja	(ja)	Desinfektion (bakterizid, fungizid, viruzid)
B	z.B. Gastroskop	ja	ja	(ja)*	bevorzugt maschinelle Reinigung/Desinfektion
Kritisch					
A	z.B. Wundhaken	(ja)	ja	ja	bevorzugt maschinelle Reinigung/Desinfektion grundsätzlich Dampfsterilisation
B	z.B. minimal invasiver Trokar	ja	ja	ja	besondere Ausbildung des Personals grundsätzlich maschinelle Reinigung/Desinfektion grundsätzlich Dampfsterilisation
C	z.B. ERCP-Katheter	ja	ja	ja	geeignetes, zertifiziertes Sterilisationsverfahren

*ggf. bei Endoskopen, die in sterilen Körperbereichen verwendet werden

(ja) Arbeitsschritt optional

Semikritische Medizinprodukte werden in zwei, kritische Medizinprodukte in drei Untergruppen kritisch-A, kritisch-B und kritisch-C eingeteilt. Die deutsche Gesellschaft für Sterilgutversorgung hat dementsprechend ein Flussdiagramm entwickelt (Abb. 1 und 2).

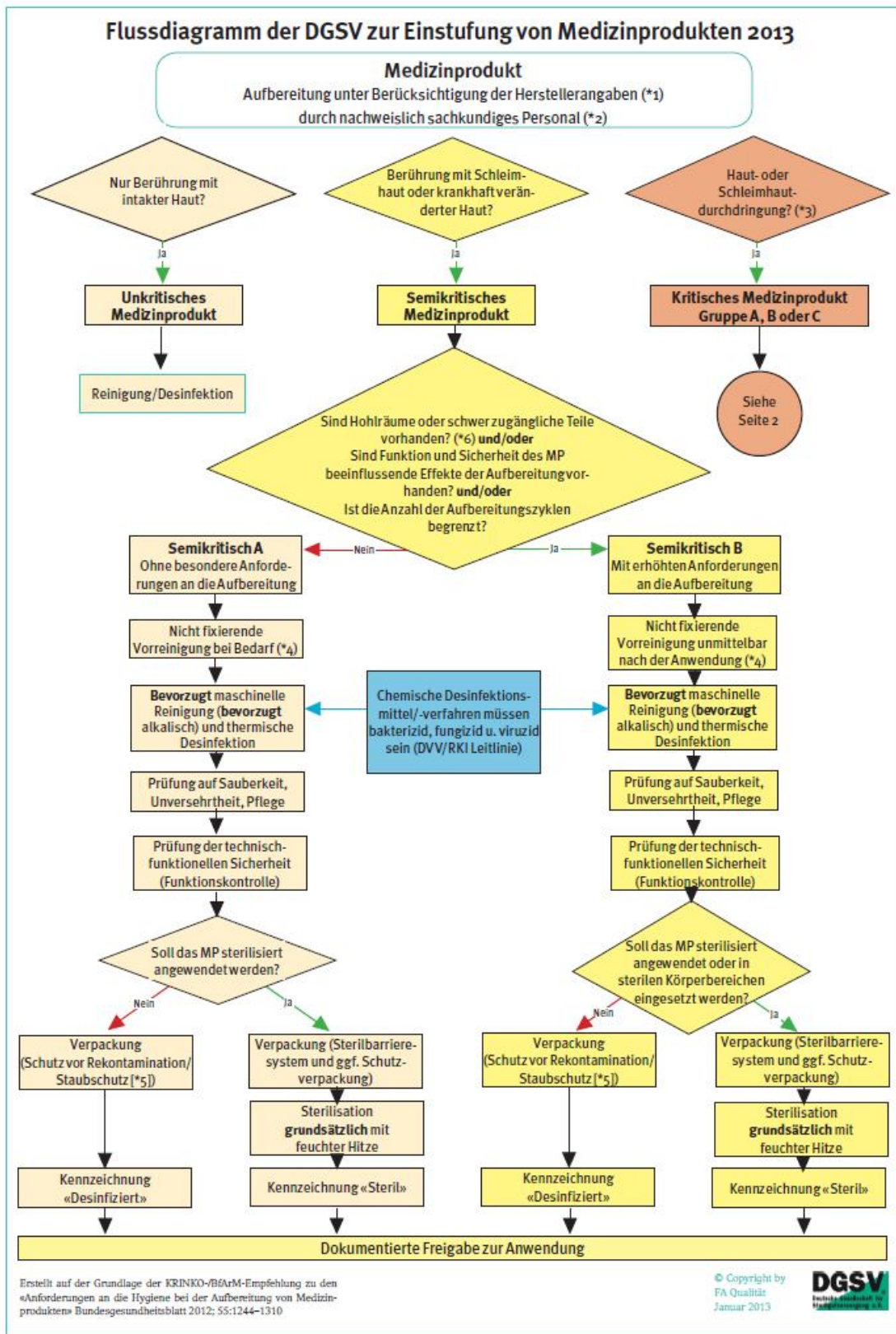


Abb. 1: Flussdiagramm der DGSV zur Einteilung von Medizinprodukten (DGSV, 2012)

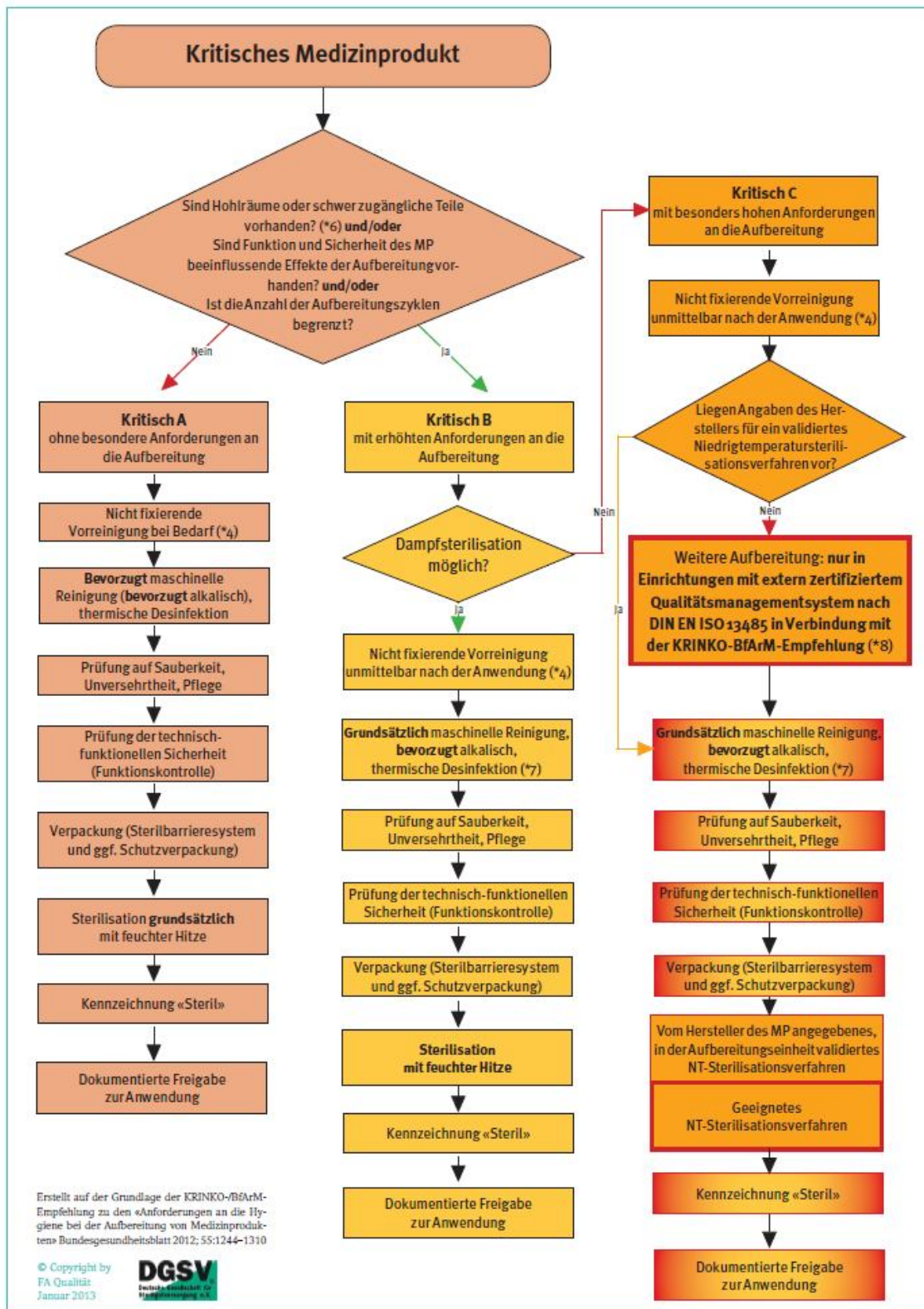


Abb. 2: Fortsetzung Flussdiagramm der DGSV zur Einteilung von Medizinprodukten (DGSV,2012)

Kritische Medizinprodukte sind Medizinprodukte zur Anwendung von Blut, Blutprodukten oder anderen sterilen Medizinprodukten und Medizinprodukte, die bestimmungsgemäß Haut und Schleimhaut durchdringen und dabei Kontakt mit Blut, zur Anwendung kommen (KRINKO, 2012). Diese Medizinprodukte müssen vor Verwendung steril sein, was frei von allen vermehrungsfähigen Mikroorganismen bedeutet (DIN 58900-1, 2004). Als Kritisch-A werden Medizinprodukte bezeichnet, die aufgrund ihrer Materialien und Konstruktion keine besondere Anforderung an die Aufbereitung stellen. Davon abzugrenzen sind diejenigen Medizinprodukte, welche erhöhte Anforderungen an die Aufbereitung stellen, z.B. bedingt durch lange, enge, endständige Lumen oder anderweitig schwer zugängliche, komplexe Teile. Diese werden zusätzlich nach ihren materialtechnischen Details in kritisch-B, thermostabil, d.h. bis 134 °C dampfsterilisierbar und kritisch-C, thermolabil und nicht dampfsterilisierbar, eingeteilt (KRINKO, 2012).

1.2 Einsatzbereich der Niedertemperaturverfahren

In der heutigen Zeit basieren die medizinischen Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten immer häufiger auf empfindlichen Instrumenten, die aufgrund ihrer vielfältigen Materialbeschaffenheiten, anfällig gegenüber Hitze, Druck oder Feuchtigkeit sind. Für jedes neue Instrument müssen adäquate und verlässliche Wiederaufbereitungsverfahren etabliert werden, um das Risiko der Übertragung von nosokomialen Infektionen durch unsachgemäße Wiederaufbereitung des Geräts zu vermeiden (Diab-Elschahawi et al., 2010). Die Niedertemperatur(NT)-Verfahren kommen hauptsächlich im Bereich der als kritisch-C eingeordneten Medizinprodukte zum Einsatz. In begründeten Fällen kann jedoch schon bei kritisch-A ein NT-Verfahren alternativ zur grundsätzlich geforderten Dampfsterilisation eingesetzt werden (KRINKO, 2012).

Die gebräuchlichsten, aktuell verwendeten Verfahren sind die Niedertemperatur-Gassterilisationsverfahren mit Ethylenoxid oder Formaldehyd sowie die Niedertemperatur-H₂O₂-Gas-Plasma-Sterilisation, welche schon früher verglichen wurden (Alfa et al., 1996).

1.2.1 Ethylenoxid-Sterilisation

Die Ethylenoxid-Sterilisation (EO-Sterilisation) macht sich die biochemischen Eigenschaften von Ethylenoxid zunutze. Das Gas wirkt, indem es sich mit Proteinen von vegetativen Zellen, Viren und sogar Nukleinen verbindet. Diese als Alkylierung bezeichnete Reaktion führt zu einer irreversiblen Schädigung der betroffenen Organis-

men (vgl. Kohnen et al., 2012). Um die ideale Wirksamkeit des Verfahrens zu erzielen, spielen die vier Faktoren Wirkstoffkonzentration, Feuchtigkeit, Temperaturbereich und Expositionszeit eine wichtige Rolle. Eine erhöhte Wirkstoffkonzentration führt bis zum Wirkungsoptimum zu einer Verkürzung der Abtötungszeit. Um bakterielle Sporen mit Ethylenoxid abzutöten, muss vorher eine ausreichende Befeuchtung stattgefunden haben, die meisten Verfahren arbeiten mit 50-90% relativer Feuchtigkeit. Eine Temperaturerhöhung führt ebenfalls zu einer Verkürzung der Sterilisationszeit. Das optimale Verhältnis zwischen Temperatur und Sterilisationszeit liegt zwischen 45-55°C. Die Expositionszeiten für zu sterilisierende Geräte und Materialien müssen experimentell ermittelt werden und liegen zwischen 20 min bis 6 h (Salzbrunn, 2013).

Die Vorteile dieses Verfahrens sind ein gutes Penetrationsvermögen auch bei Geräten mit langen, engen und endständigen Lumen und die bessere Materialverträglichkeit im Vergleich zur Dampfsterilisation (vgl. Witte, 2006). Die Nachteile der EO-Sterilisation sind vielfältig, so reizt Ethylenoxidgas die Atemwege und ist kanzerogen (Scherrer und Daschner, 1995). Um dieses zu verhindern, muss das Personal besonders geschult und bauliche Sicherheitsrichtlinien eingehalten werden (TRGS 513, 2011; GefStoffV, 2010; DIN 58948, 2010; DIN ISO 11135, 2007). Desweiteren sorgen lange Desorptionsphasen des während der Sterilisation in das Material eingedrungenen EO für lange Aufbereitungszeiten. Die hohen sicherheitstechnischen Auflagen und langen Desorptionszeiten verursachen hohe Kosten, weshalb man an der Universitätsklinik Freiburg beispielsweise dieses Verfahren eingestellt hat (Adler et al., 1998).

1.2.2 Niedertemperatur-Dampf-und-Formaldehyd-Verfahren (NTDF-Verfahren)

Beim NTDF-Verfahren handelt es sich um ein physikalisch-chemisches Verfahren. Ohne die Anwesenheit von Wasser ist Formaldehyd nur begrenzt wirksam, in Verbindung bilden sich jedoch sehr reaktive Methylol-Gruppen, welche die Denaturierung von Eiweiß bewirken. Seine Wirkung in den Bakterien erfolgt also durch Reaktionen mit Eiweißmolekülen und Aminosäuren, bei Viren durch Reaktionen mit Nukleinsäuren, wodurch es zu einer irreversiblen Inaktivierung der Mikroorganismen kommt. Die Sterilisation erfolgt in einem Unterdruck von 0,2 bar, bei einer Standardtemperatur von 60°C und dauert bis zu 90 min. Im Anschluss erfolgt noch im Gerät die Desorption (v.d.Hagen, 2013).

Auch dieses Verfahren eignet sich für thermolabile Medizinprodukte und ist aufgrund der kürzeren Desorptionszeiten vorteilhafter bezüglich der Instrumentenumlaufzeiten und damit auch kostengünstiger gegenüber der EO-Sterilisation (Adler et al., 1998).

Zudem ist die Wirksamkeit, in Bezug auf englumige Endoskope, mit der EO-Sterilisation gleichzusetzen (Kanemitsu et al., 2005). Formaldehyd weist ebenfalls Nachteile auf, so wird es als hoch-toxischer Gefahrenstoff (CLP-Verordnung, 2008) und als karzinogen der Kategorie 2 eingestuft (Schulte et al., 2006). Zudem wirkt Formaldehyd als starkes Allergen und kann in erhöhter inhalierter Konzentration zu einem tödlich verlaufenden Lungenödem führen. Wie bei Ethylenoxid-Verfahren werden ebenfalls besondere Anforderungen an Personalausbildung und bauliche Sicherheit gestellt (TRGS 513, 2011; GefStoffV, 2010; DIN EN 14180).

1.2.3 Niedertemperatur-H₂O₂-Gas-Plasmasterilisations-Verfahren (NTGP-Verfahren)

Das NTGP-Verfahren ist ein Verfahren, welches nicht nur bei thermolabilen, sondern auch bei feuchtigkeitsempfindlichen Medizinprodukten zum Einsatz kommen kann. Das wirksame Agens dieser Sterilisationsmethode ist Wasserstoffperoxid (H₂O₂) im gasförmigen Zustand. Dies ist eine Verbindung aus 2 Wasserstoffatomen und zwei Sauerstoffatomen, also insgesamt aus 4 Atomen mit einer schwachen metastabilen Sauerstoff-Sauerstoff-Bindung, die dazu neigt in Wasser und Sauerstoff zu zerfallen. Dieser Prozess beginnt mit einer Aufspaltung dieser Bindung. Im Verlauf dieses Zerfallsprozesses entstehen sehr reaktive Hydroxyl- und Hydroperoxylradikale. Da diese Radikale über ein ungepaartes Elektron auf der Valenzschale verfügen sind diese sehr reaktionsfreudig (Witte, 2013, vgl. Abb.3).

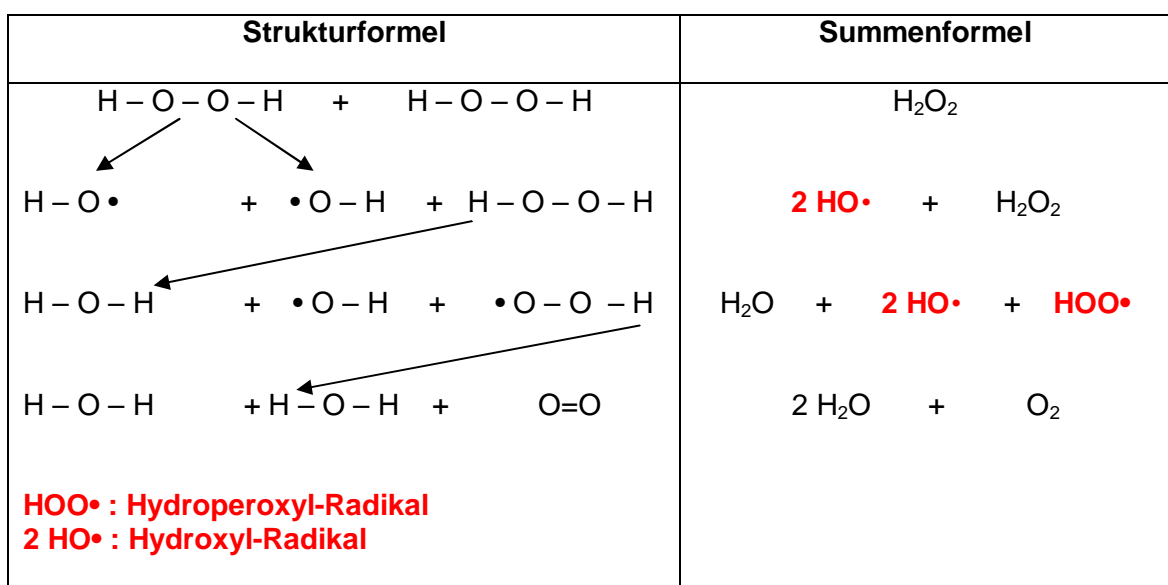


Abb. 3: Teilreaktionen der Zerfallsprozesse von Wasserstoffperoxid (modifiziert nach Witte 2013)

Die Radikale oxidieren DNA, Proteine und Membranlipide von Mikroorganismen, die genauen Abläufe werden aktuell erforscht (Linley et al., 2012). Da die Richtung und Reaktionsgeschwindigkeit der Prozesse von den Umgebungsparametern abhängig sind, nutzt man bei der NTGP-Sterilisation ein tiefes Vakuum ($< 1\text{mbar}$) und verdampft das Agens in gasförmigem Zustand, um den Zerfallsprozess zu beschleunigen und damit die biozide Wirkung zu verstärken. Eine weitere wichtige Größe stellt wie bei den anderen NT-Verfahren die Konzentration des eingesetzten Agens dar.

Auch bei H_2O_2 gilt, je höher die Konzentration, umso schneller ist die chemische Reaktion und umso stärker die Wirkung (vgl. Witte 2013). Dieser Umstand wurde im Rahmen der Neukonzeption von Technologien des STERRAD[®]-Verfahrens berücksichtigt, wie z.B. beim STERRAD[®] NX[®] und STERRAD[®]100NX[®] (A.S.P. Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA), indem sie das H_2O_2 -Gas vor Injektion stark aufkonzentrieren.

Am Ende eines Halbzyklus (vgl. Material und Methoden) wird mittels eines elektrischen Wechselfeldes die Molekularbewegung derart angeregt, dass es zur „Aufsprengung“ der Moleküle in Ionen und Elektronen kommt und somit ein Plasma entsteht. Diese Phase dient dazu, eventuell H_2O_2 -Rückstände vollständig zu zersetzen (vgl. Witte, 2013).

Aufgrund der niedrigen Temperaturen ($\leq 55\text{ C}^\circ$) ist die Sterilisation vieler thermolabiler Medizinprodukte, wie von Optiken und elektronischen Instrumenten, möglich (Scherrer et al., 2006). Die relative Luftfeuchtigkeit von $\leq 5\%$ während des Sterilisationsprozesses schließt eine korrosive Wirkung nach dem bisherigen Stand der Literatur weitestgehend aus (Förtsch et al., 1993). Damit ist das NTGP-Verfahren im Vergleich zu EO-Verfahren und NTDF-Verfahren das materialschonenste Vorgehen. Allerdings berichten japanische Autoren über Materialveränderungen bei Eisendrähten, Naturgummi und Nylon, welches über einen längeren Zeitraum (100 h) einem wässrigen H_2O_2 -Gas, mit einer Konzentration von 10000 ppm, ausgesetzt waren (Shintani, 2009).

Laut TRGS 905 ist H_2O_2 weder als kanzerogener, noch mutagener Stoff eingestuft. Diese Tatsache ermöglicht, dass keine besonderen bauliche Maßnahmen oder Personalschulungen nötig sind. Kurze Sterilisationszeiten und das Entfallen der Desorptionszeit nach dem Sterilisationsprozess führen zu einer deutlichen Verkürzung des Aufbereitungszyklus im Vergleich zu den anderen Verfahren. Diese Faktoren bedeuten letztendlich eine Kostenreduktion im laufenden Betrieb.

Da nach dem Abschalten der Energiezufuhr die freien Radikale sich zu Wasser und Sauerstoff rekombinieren, welche ungefährliche Substanzen darstellen, weist das NTGP-Verfahren nicht zuletzt auch in ökologischer Hinsicht einen weiteren Vorteil auf.

1.3 Aufbereitung von Endoskopen

In der modernen Chirurgie nehmen flexible Endoskope einen hohen Stellenwert ein. Endoskope sind teuer und sollten deshalb aus ökonomischer Sicht schnellstmöglich wieder zur Verfügung zu stellen sein, ohne jedoch für den Patienten ein Infektionsrisiko darzustellen. Dies führt zu besonderen Anforderungen an ihre Aufbereitung. Die Übertragung von Mikroorganismen durch flexible Endoskope ist spärlich dokumentiert. Die Mehrzahl der Übertragungen ist jedoch auf unzureichende Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen zurückzuführen unter Missachtung der aktuellen Aufbereitungsrichtlinien.

Infektionen durch flexible Endoskope sind jedoch prinzipiell vermeidbar, wenn alle Maßnahmen der Infektionsprophylaxe konsequent umgesetzt werden. Dies bedeutet, dass die Aufbereitung nach Medizinprodukt-Betreiberverordnung, unter Berücksichtigung von Herstellerangaben, mit validierten Verfahren durchzuführen ist (KRINKO, 2012). Werkstoffe und die Komplexität der Bauweise flexibler Endoskope bedingt hohe Ansprüche an die Aufbereitung (DIN EN ISO 17664, 2007). Die vom Robert Koch-Institut aufgestellten Empfehlungen gelten für alle flexiblen Endoskope, gleich ob sie in physiologisch kontaminierten Körperhöhlen eingesetzt werden oder nicht, somit auch für urologisch eingesetzte Endoskope bei Blasen und Nierenuntersuchungen (KRINKO 2012).

1.4 Sterilbarrieresysteme

Die Sterilbarrieresysteme spielen für die Sicherstellung der Sterilität bei der Bereitstellung eine wichtige Rolle. Ein Sterilbarrieresystem ist nach DIN 58953 (2010) eine „Mindestverpackung, die das Eintreten von Mikroorganismen verhindert und die aseptische Bereitstellung des Produkts am Ort der Verwendung ermöglicht.“

Im Zusammenhang mit flexiblen Endoskopen kommen besonders wiederverwertbare Behälter (Container) zum Einsatz. Diese können aus den unterschiedlichsten Werkstoffen (Edelstahl, Aluminium, Kunststoffen) bestehen und über verschiedene Barriersysteme verfügen, wie z.B. austauschbare Filter oder Ventilsysteme.

Das Sterilbarrieresystem muss in jedem Fall mit dem Medizinprodukt, als auch mit dem Sterilisationsverfahren kompatibel sein (vgl. Schilling et al., 2013). Diese Kompatibilität muss vom Hersteller validiert und bestätigt werden. Auch die Verpackungsprozesse unterliegen Leitlinien (DIN EN ISO 11607, 2009), welche 2011 um den Prozess mit wiederverwendbaren Behältern ergänzt wurden.

2 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die Sterilisierbarkeit hochkomplexer Endoskop-Technologien in neuen Niedertemperatur-Sterilisationsverfahren der

- STERRAD®NX® - Generation
- STERRAD®100NX® -Generation.

zu belegen.

Die Doppelkanal-Konstruktion des Prüfendoskops „The Cobra“ stellte dabei besondere Anforderungen, da die Dimensionen der beiden Kanäle außerhalb der „Claims“, d.h. der Vorgaben des Herstellers lagen.

Außerdem sollte im Rahmen der Versuche zusätzlich ein neues Sterilbarrieresystem

- Sterisafe® DURO A3-Set

im Vergleich zu einem schon länger verwendeten System

- APTIMAX® INSTRUMENT TRAY

auf dessen Verwendbarkeit im Niedertemperatur-Gas-Plasma-Sterilisationsverfahren überprüft werden.

3 Material und Methodik

3.1 Testgeräte

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die beiden Niedertemperatur-Gas-Plasma-Sterilisatorenverfahren vom Typ STERRAD[®] NX[®] und STERRAD[®]100NX[®] (A.S.P. Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) getestet (Abb.4). Diese stellen die neuesten Geräteversionen der H₂O₂-Gas-Plasma-Sterilisations-Technologie nach dem STERRAD[®]-Verfahren dar.



Abbildung 4: Prüfgeräte STERRAD[®] NX[®] und STERRAD[®]100NX[®]

Der STERRAD[®] NX[®] ist das kleinste Gerät mit „Next-Generation“-Technologie, welche mit einer vorherigen Aufkonzentration vor Injektion des H₂O₂ arbeitet. Er verfügt über ein nutzbares 30-L-Kammer-Volumen und ist aufgrund seiner geringen Ausmaße, inkl. Rollwagen nur 157,7 cm x 60,9 cm x 88,8 cm groß und flexibel aufstellbar sowie bei Bedarf bewegbar und kann mit einem Tray beladen werden. Das Gerät eignet sich daher auch für mobile Einsätze, z.B. unter Lazarett-Bedingungen in Katastrophen- oder Krisengebieten.

Das Verfahren verfügt über 2 Zyklusoptionen, einen STANDARD-Zyklus (28 min), welcher für die überwiegende Anzahl chirurgischer Instrumente einsetzbar ist sowie einen erweiterten Zyklus (ADVANCED-Cycle, 38 min) für flexible 1-Kanal-Endoskope.

Entwickelt mit „Next-Generation“-Technologie, ist das STERRAD[®] 100NX[®] System der modernste Plasmasterilisator mit Wasserstoffperoxidgas von ASP. Er verfügt über eine große rechteckige Kammer mit einem nutzbaren Volumen von 93,4 Liter. Er ist um einiges größer (179 cm x 77,5 cm x 102 cm) als der STERRAD[®] NX[®] und ist auf Wunsch mit zwei Türen, auf Vorder- und Rückseite, erhältlich. Diese Bauform ermöglicht einen Einsatz in einer zentralen Sterilisationsabteilung mit kompletter Trennung. Zudem kann das Gerät mit zwei Trays gleichzeitig beladen werden.

Der STERRAD[®] 100NX[®] verfügt über 4 Zyklen, den STANDARD-Zyklus (47 min), den FLEX-Zyklus (42 min), den EXPRESS-Zyklus (24 min) und den DUO-Zyklus (60 min). Der STANDARD-Zyklus eignet sich wie beim STERRAD[®] NX[®] für die Aufbereitung chirurgischer Instrumente, der FLEX-Zyklus ist ein spezieller Zyklus für flexible 1-Kanal-Endoskope, der EXPRESS-Zyklus eignet sich speziell für *daVinci*[®]-Endoskope, starre Teleskope sowie wiederaufladbare Batterien und der DUO-Zyklus ist für die gemeinsame Aufbereitung von flexiblen Endoskopen und Kameras ausgelegt.

Für die Durchführung der Versuche wurde an die Schnittstelle der Geräte ein „Dongle“ angeschlossen, welcher es ermöglichte, den eigentlichen Routinezyklus („full cycle“) zu verkürzen und von einem sogenannten Halbzyklus Gebrauch zu machen.

Die Halbzyklusmethode (DIN EN ISO 14937, 2010, DIN EN 14161, 2010), wird verwendet, um Sterilisationsprozesse zu validieren. Voraussetzung der Halbzyklusmethode ist eine Absterbekinetik erster Ordnung, welche bei halblogarithmischer Darstellung eine lineare Absterbekurve des Testkeims ergibt. Diese muss für den ersten Halbzyklus nachgewiesen werden. Ist das der Fall, kann für den zweiten Halbzyklus ebenfalls eine Keimreduktion um weitere 6 log-Stufen angenommen werden (Jacobs und Smith, 1998 vgl. Abb. 5). Damit wäre das Sterilisationssicherheitsniveau (SAL) von 10^{-6} nachgewiesen (Machmerth, 2008).

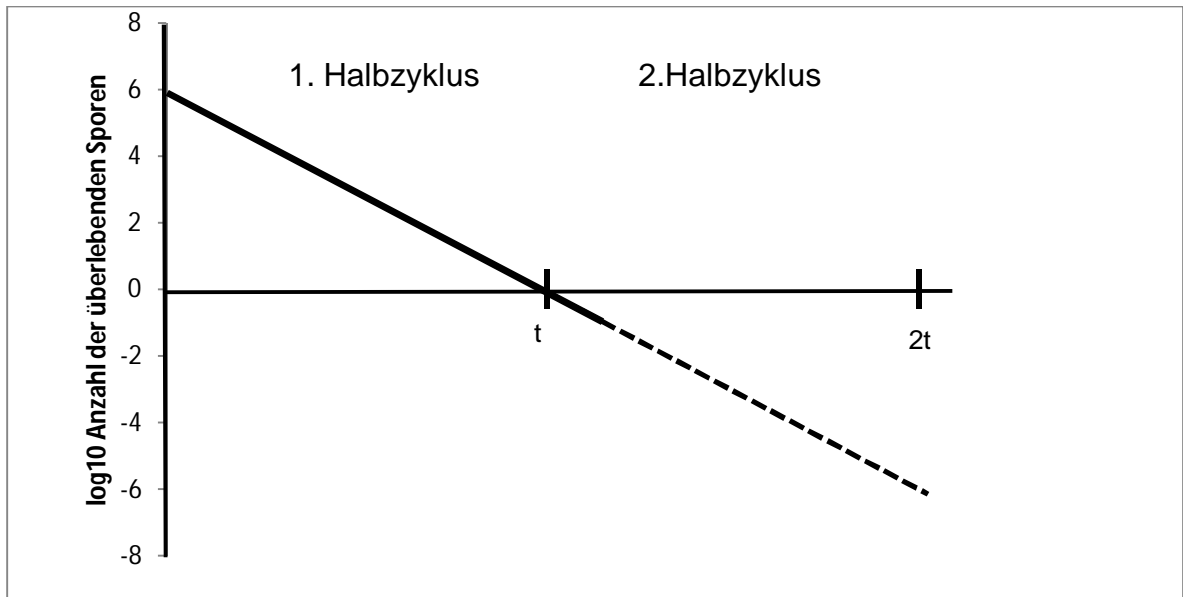


Abbildung 5: Graphische Darstellung der Halbzyklusmethode der Sterilisator-Validierung (modifiziert nach Jacobs und Smith, 1998)

Da beim STERRAD[®]-Verfahren eine zeitliche Verkürzung um die Hälfte aufgrund der einzelnen Sterilisationsphasen nicht möglich ist, bedient man sich eines Doppelinjektionssystems. Dieses ermöglicht mit zwei aufeinanderfolgenden identischen Phasen, die Halbzyklusmethode zu nutzen und den Sterilisationsprozess validierbar zu machen (vgl. Witte, 2013).

Die Verwendung des Halbzyklus ist lediglich für Versuchszwecke bestimmt, wofür die Geräte mit einer speziellen Versuchssoftware ausgerüstet werden. Im Routinebetrieb besteht die Möglichkeit einen Halbzyklus einzusetzen nicht, das heißt es ist der „full cycle“, welcher einen doppelten Halbzyklus darstellt, installiert.

3.1.1 Phasen des STERRAD®-Sterilisationsverfahren

Jeder Halbzyklus des Sterilisationsvorgangs verläuft in mehreren Phasen (vgl. Borneff-Lipp et al., 2012; Witte 2013) (Abb. 6):

1. Vakuumphase und Aufkonzentrierungsphase

Zunächst wird, mit Drücken von unter 0,3 mbar/0,225 Torr ein sogenanntes Hochvakuum in der Sterilisationskammer erzeugt, dieses liegt um den Faktor 300 tiefer als in der Dampfsterilisation. Ein Vorvakuum wie bei früheren Modellen (z.B. STERRAD® 100) ist bei den neueren Geräten (STERRAD® NX® und STERRAD®100NX®) nicht mehr erforderlich. Um dieses Vakuum zu erzielen und zu erhalten, dürfen die zu sterilisierenden Medizinprodukte keine Restfeuchtigkeit mehr aufweisen. Besteht aber eine Restfeuchtigkeit, welche nicht durch das voranschreitende Vakuum verdampft oder durch die Vakuumpumpe entfernt werden kann, wird der Prozess automatisch abgebrochen, wenn das Vakuum das festgelegte Toleranzfenster nicht erreicht (vgl. Witte, 2013).

Gleichzeitig verfügen die Geräte STERRAD® NX® und STERRAD®100NX® über einen speziellen Kondensator, in welchem die 59 %ige H₂O₂-Lösung aus den 5,4 ml fassenden Kassettenampullen, in einem Destillationsprozess auf 95% aufkonzentriert wird, indem der Wasseranteil stark reduziert wird.

Beide Prozesse dienen der Steigerung der bioziden Wirkung von H₂O₂ (vgl. Witte, 2013)

2. Injektionsphase

In der Injektionsphase wird nun die aufkonzentrierte, wässrige H₂O₂-Lösung in die Kammer injiziert. Im Hochvakuum geht das H₂O₂ in den gasförmigen Zustand über. Die injizierte Menge ist bei allen Sterilisationsprogrammen immer gleich, die in der Sterilisationskammer gemessene Konzentration variiert jedoch abhängig von der Menge und des Materials Beladung. Um die Wirksamkeit sicherzustellen, ist in der Kammer ein Sensor zur Messung der Konzentration verbaut. So wird überprüft, dass sich die Konzentration innerhalb definierter Grenzwerte befindet, andernfalls bricht der Prozess ab. Während der Injektion steigt der Druck in der Kammer wieder an. Die Bedingungen im vorliegenden Fall des Prüfgeräts (STERRAD®100NX®) mit Testbeladung waren vor Injektion 0,14 Torr, zum Ende der Injektionsphase 8 Torr.

3. Diffusionsphase

Die Diffusionsphase ist die Phase, in der sich das Agens in der Kammer verteilt und entspricht der eigentlichen Wirkungszeit. Während dieser Phase steigt der Druck in der Kammer aufgrund der Adsorption zunächst weiter leicht an und erreicht zum Ende, nachdem zur besseren Verteilung eine Belüftung mit steriler, gefilterter Luft stattgefunden hat, schnell Normaldruck (760 Torr). Anschließend wird erneut ein Hochvakuum erzeugt.

4. Plasmaphase

In dieser Phase wird mittels eines Hochfrequenzgenerators in Verbindung mit einem Elektrodengitter ein starkes elektronisches Wechselfeld erzeugt, um die in der Kammer verbliebenen H_2O_2 -Moleküle vom gasförmigen Zustand in ein Plasma zu überführen. Dieses dient dazu, die sich eventuell noch auf Geräten und Verpackungen befindliche Reste des H_2O_2 zu zersetzen und somit in Wasser und Sauerstoff zu überführen. Während des gesamten Vorgangs bleibt die Temperatur konstant und liegt bei ca. 50 °C.

5. Ventilationsphase

Im Anschluss an die Plasmaphase kommt es erneut zu einer Ventilation der Kammer mit steriler, gefilterter Luft, wodurch wieder ein Normaldruck entsteht. Das Erreichen des normalen, atmosphärischen Drucks (760 Torr) stellt das Ende des Halbzyklus dar.

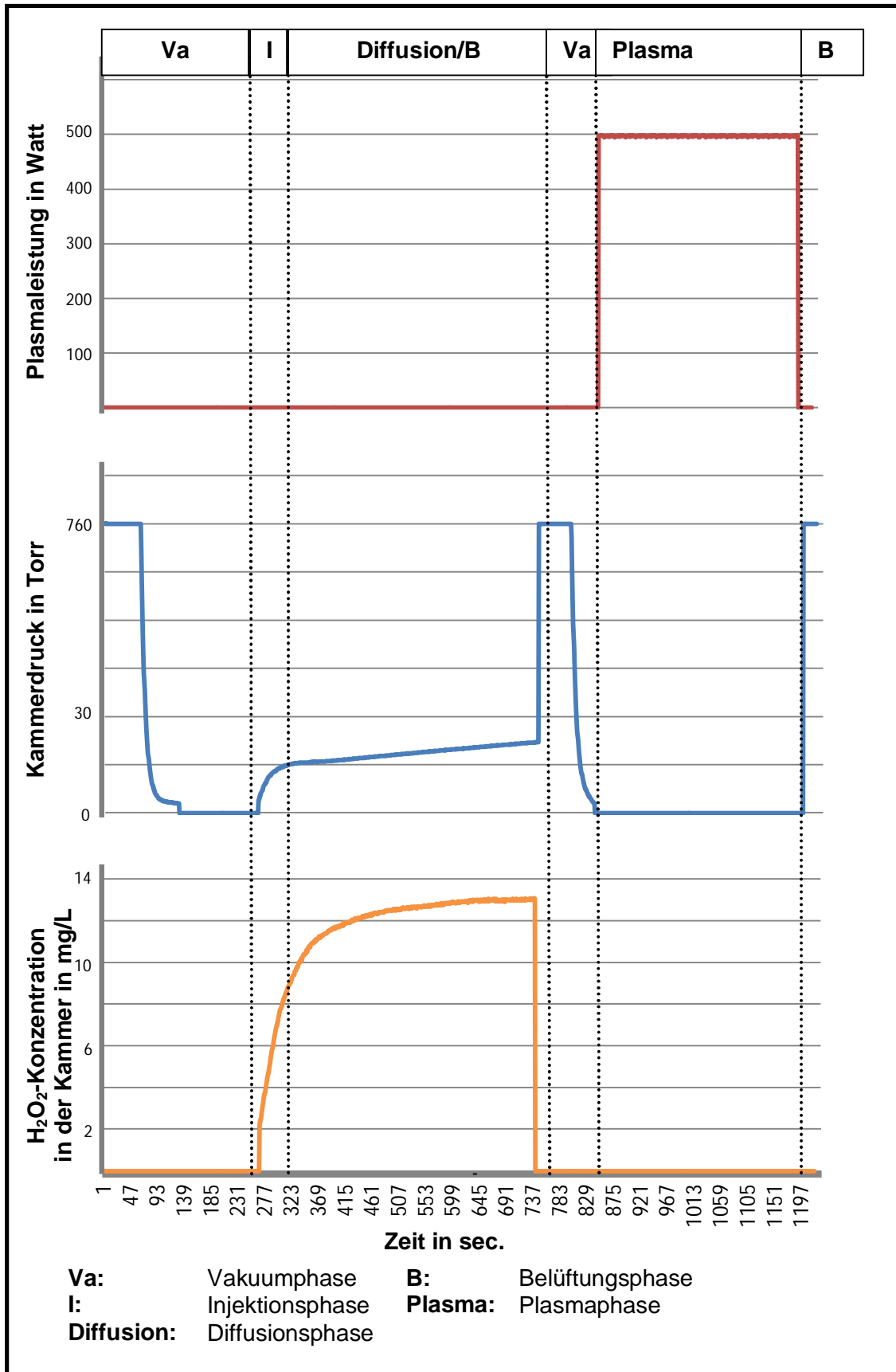


Abb. 6: Schematische Darstellung eines Halbzyklus am Beispiel des FLEX-Zyklus im STERRAD®100NX®

3.2 Prüfkörper

3.2.1 Endoskope

Ein flexibles 2-Kanal-Dauerspül-Laser-Uretero-Renoskop („The Cobra“, Richard Wolf GmbH, Knittlingen), diente in allen Versuchen als Prüfkörper (Abb. 7). Dieses hochkomplexe Endoskop kommt z.B. bei einer Nephrolithiasis zum Einsatz, um Nierensteine mittels Yttrium-Aluminium-Granat (YAG)-Laser zu zertrümmern und die dabei entstandenen Trümmer zu entfernen (Produktinformation Richard Wolf GmbH, Knittlingen).

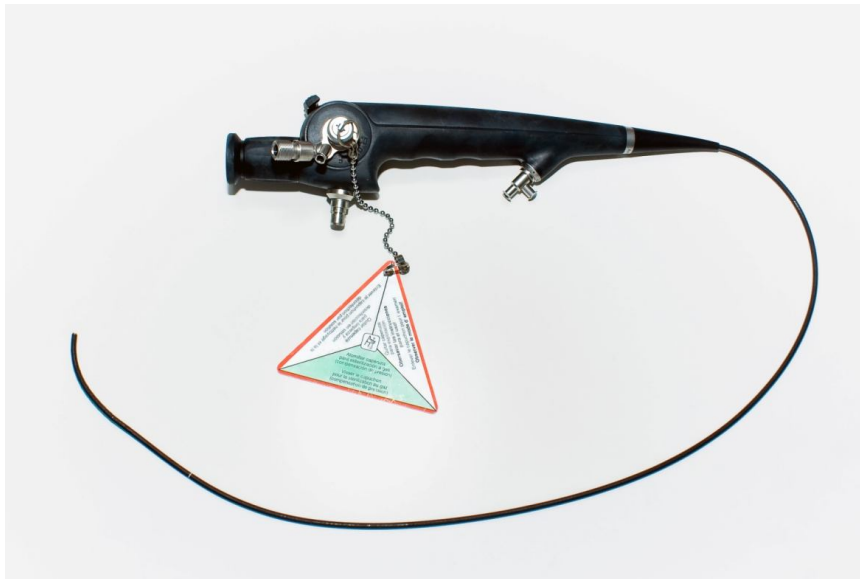


Abb 7: Flexibles 2-Kanal-Dauerspül-Laser-Uretero-Renoskop, „The Cobra“ (Richard Wolf GmbH, Knittlingen)

Das Ureterorenoskop verfügt über zwei Arbeitskanäle. Der Biopsiekanal weist eine Länge von 850 mm, der Laserkanal eine Länge von 990 mm auf. Der Innendurchmesser beider Kanäle beträgt 1,1 mm (Abb. 8). Das Gesamtgewicht des Prüfkörpers liegt bei ca. 350 g.

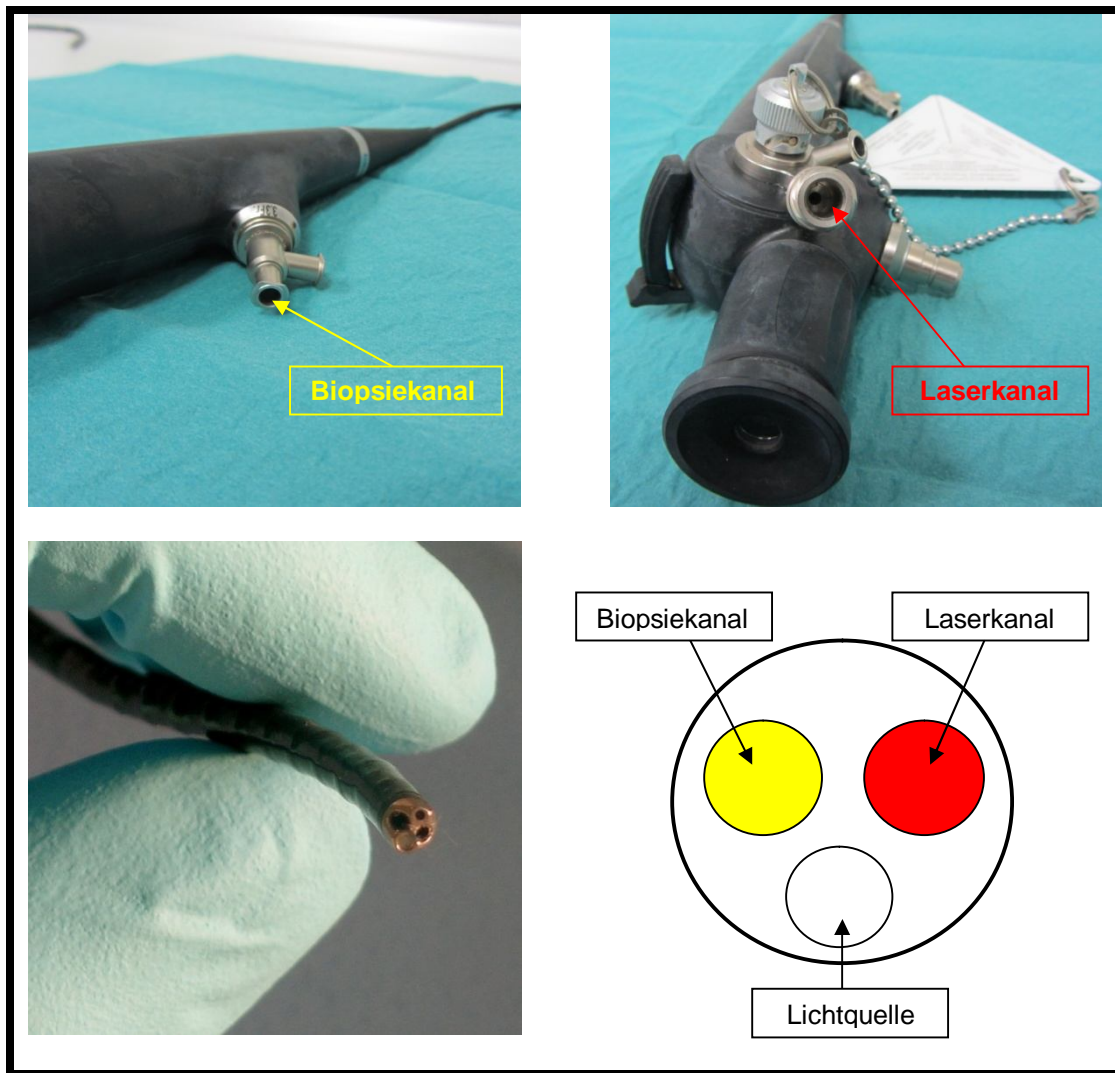


Abb. 8: Kanäle des Ureterorenoskops „The Cobra“

Das Uretero-Renoskop lag typ- und baugleich in zweifacher Ausführung vor, im Testverlauf als Cobra 1 und Cobra 2 bezeichnet. In den Versuchen im STERRAD® 100NX® wurde als Zusatzbeladung zusätzlich das flexible Endoskop CYF-5A (Olympus, Hamburg) eingelegt. Dieses verfügt über eine Gesamtlänge von 700 mm, einen Arbeitskanal von 520 mm und einem Innendurchmesser von 2,4 mm, bei einem Gewicht von 340 g. Die Sterilisierbarkeit dieses Endoskops in NTGP-Sterilisationsverfahren im STERRAD®100S, STERRAD®200 und STERRAD®NX® wurde bereits in vorausgegangenen Versuchen (Kroße, 2009) nachgewiesen.

3.2.2 Sterilbarrieresystem

Für die Tests kamen zwei unterschiedliche Sterilbarrieresysteme zum Einsatz, zum einen ein Container, das neuentwickelte Sterisafe® DURO A3-Set (Borneff-Lipp et al., 2011), bestehend aus dem Sterisafe® DURO A3-Container und der Toolsafe® Gitterunterlage (Richard Wolf Medical Instruments Cooperation, Chicago, USA/Savuna GmbH, Augsburg) zum anderen ein Tray, das schon in früheren Versuchen (vgl. Kroße, 2009) verwendete APTIMAX® INSTRUMENT TRAY (Art.-Nr. 13837, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) mit der STERRAD® INSTRUMENT TRAY MAT (Art.-Nr. 99213, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA), welches zusätzlich mit einem Vlies (Kinguard Sterilization Wrap Art.-Nr. 10 740 KC 100, Kimberly-Clark, Dallas, USA) zweifach umwickelt wurde.

Der Unterschied zwischen einem Container (Sterilisierbehälter) und einem Tray (Sterilisationssieb) liegt darin, dass der Container mit seinen eingesetzten Filtern oder Ventilen selbst ein Sterilbarrieresystem darstellt, während das Tray nur Stabilität gibt und das Vlies das eigentliche Sterilbarrieresystem darstellt (Schilling et al., 2013).

Der Sterisafe® DURO A3-Container (Abb. 9) ist ein Behältnis, das extra für die Aufbereitung thermolabiler Instrumente im NTGP-Sterilisationsverfahren konzipiert wurde. Er verfügt an beiden Längsseiten über eine Vorrichtung zum Einlegen von Einmalfiltern (Art.-Nr. 21 223 01, Richard Wolf Medical Instruments Cooperation, Chicago, USA/Savuna GmbH, Augsburg), mit Chemoindikatorpunkt (Abb. 10). Zudem ist die zum Container gehörige Silikonmatte mit einer speziellen Einlegevorrichtung für das Endoskop „The Cobra“ bestückt.

Das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY (Abb. 11), mit seiner zugehörigen Silikonmatte, ist universeller einsetzbar, was die Beladung angeht und wurde bereits für alle gängigen STERRAD®-Verfahren vom Hersteller validiert und kam in mehreren Versuchsreihen zum Einsatz (Okpara-Hofmann et al., 2005; Schenk, 2007; Borneff-Lipp et al., 2008; Kroße, 2009). Das Sterilbarrieresystem stellt beim APTIMAX® INSTRUMENT TRAY immer eine Vliesverpackung dar (Abb. 12).



Abb. 9: Sterisafe® DURO A3-Container



Abb. 10: Sterilbarrieresystem des Sterisafe® DURO A3-Container

Die Versuche wurden beim STERRAD® NX® und STERRAD® 100NX®, jeweils pro Versuchsreihe, einmal mit dem Sterisafe® DURO A3-Set, bestehend aus dem Sterisafe® DURO A3 und der Toolsafe® Gitterunterlage sowie mit dem APTIMAX® INSTRUMENT TRAY und der STERRAD® INSTRUMENT TRAY MAT durchgeführt.

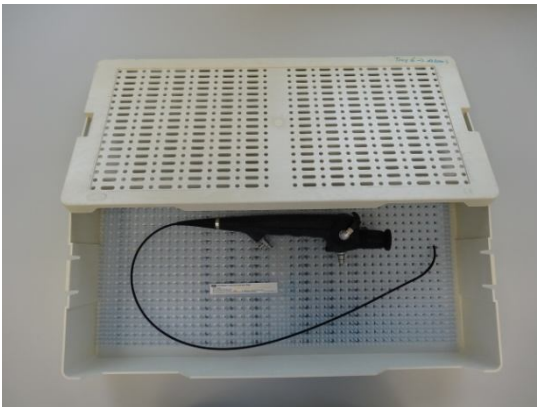


Abb. 11: APTIMAX® INSTRUMENT TRAY



Abb. 12: Sterilbarrieresystem des APTIMAX® INSTRUMENT TRAY

3.3 Testorganismus

Als Testorganismus für unsere Versuchsreihe wurden Sporen des *Geobacillus stearothermophilus*-Stammes ATCC 7953 ausgewählt. Diese Wahl macht die Untersuchungen vergleichbar mit vorausgehenden Untersuchungen an früheren STERRAD®-Modellen (Borneff et al., 1995; Okpara, 1998; Schenk, 2007; Borneff-Lipp et al., 2008; Kroße, 2009). Die Sporen weisen kein humanpathogenes Potential auf (Costin und Grigo, 1974), zeigen eine hohe Resistenz gegenüber NTGP-Sterilisationsverfahren (Peters und Borchers, 1995; Koller und Lessky, 1996) und sind

über längere Zeit bei konstanten Keimzahlen zu lagern (Borneff et al., 1995). Diese drei Eigenschaften prädestinierten den Keim für unsere Testzwecke. Zudem besteht noch eine Vergleichsmöglichkeit mit anderen Sterilisationsverfahren wie der Formaldehyd-Sterilisation (DIN EN ISO 11138-5, 2009) und der Dampfsterilisation (DIN EN ISO 11138-3, 2009), die ebenfalls mit *G. stearothermophilus* getestet werden.

3.4 Sporenstammsuspension

Die Stammsuspension des *G. stearothermophilus*-Stammes ATCC 7953 (Charge PB 114 T) stammt von Prof. I. Pflug (Environmental Sterilization Laboratory, University of Minnesota, Minneapolis, USA). An der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg wurde im Institut für Hygiene eine Tochtercharge (Charge VV-02-SB-02/00) hergestellt und ein Aliquot dieser für unsere Versuchsreihen verwendet. Der für diese Suspension durch A.S.P. ermittelte D-Wert für NTGP-Verfahren lag für Stahldraht bei 0,56 min (getestet im STERRAD® 100, ASP 02/2005).

Zu Beginn der Versuche wurde die Keimzahl der Sporenstammsuspension (*G. stearothermophilus* ATCC 7953) überprüft. Der Ablauf der Kontrolle verlief folgendermaßen (vgl. Okpara, 1997):

1. 2 minütiges Homogenisieren der Stammsuspension auf einem Reagenzglas-schüttler (Reax top, Heidolph-Instruments GmbH & Co. KG, Kelheim) bei 2800 U/min.
2. Pipettieren von 10 µl der Suspension zu 9990 µl sterilem Wasser (Aqua B. Braun, Art.-Nr. 0082479E, Melsungen) in steriler Umgebung. Dieser Schritt wurde dreimal durchgeführt, um drei Ansätze zu erlangen.
3. Erneutes Schütteln der drei Ansätze bei 2800 U/min für 2 min.
4. Abkühlen im Eisbad für 2 min.
5. 15 Minuten Wasserbad (Typ 1008 Art.-Nr. 10516398, GFL mbH Burgwedel) bei $100 \pm 1 \text{ C}^\circ$.
6. Abkühlen im Eisbad für 15 min.

Die drei Suspensionen wurden in Verdünnungsreihen mit sterilem Wasser bis auf eine Verdünnungsstufe von 10^{-7} gebracht. Da die drei Suspensionen nicht genau zeitgleich bearbeitet werden konnten, wurden sie vor Beginn der ersten Verdünnung 2 min, danach vor jeder weiteren Verdünnung für 1 min aufgeschüttelt, um diese wieder zu homogenisieren.

Im Verlauf des Koch'schen Plattengussverfahrens wurde jeweils 1 ml der Verdünnungen 10^{-6} und 10^{-7} mit einer Seropipette (Falcon®, Art.-Nr. 357522, Becton Dickinson Labware Europe, Le Pont De Claix, France) in eine 94 x 16 mm große Petrischale (Art.-Nr. 633180, Greiner Labortechnik, Frickenhausen) überführt, wieder im Dreifachansatz. Die so beimpften 18 Petrischalen wurden anschließend mit ca. 20 ml Caseinpepton-Sojamehlpepton (CASO)-Agar (Art.-Nr. 5458, Merck, Darmstadt) ausgegossen und deren Inhalt durch kreisende Bewegungen durchmischt. Nachdem der Agar in den Petrischalen bei Raumtemperatur erstarrt war, wurden die Petrischalen umgedreht, beschriftet, in Aluminiumfolie verpackt und für wenigstens 48 h bei $56 \pm 1 \text{ C}^\circ$ im Brutschrank (Art.-Nr. B 6420 Heraeus Instruments GmbH, Hanau) gelagert. Das umgedrehte Lagern der Petrischalen diente dem Fernhalten der Kolonien von Kondenswasser, die Aluminiumfolie schützte vor Austrocknung.

Um die Sterilität des verwendeten Nährmediums zu gewährleisten, wurde eine zusätzliche Petrischale mit Agar ausgegossen und dessen pH-Wert mit einem Indikatorstreifen (pH 6,5-10,0 Art.-Nr. 1.09543.001, Merck, Darmstadt) ermittelt. Anschließend wurde diese Petrischale wie die anderen gelagert, verpackt und bebrütet.

Nach Verstreichen der mindestens geforderten 48 h wurden die gewachsenen Kolonien auf jeder Agar-Platte per Hand ausgezählt. Bei der durchgeführten Auszählung wurden nur Platten mit 30-300 koloniebildende Einheiten (KBE) berücksichtigt. Dies entspricht den anerkannten Regeln der U.S. Environmental Protection Agency (2009). Darauf erfolgte die Berechnung des arithmetischen Mittelwerts jeder Verdünnungsreihe; hieraus wurde wiederum der Mittelwert berechnet, welcher dann das Endresultat darstellte.

3.5 Gebrauchssuspension

Um die nach DIN EN ISO 14937 (2010) geforderte Keimreduktion von mindestens 6 log-Stufen nachweisen zu können, muss die Gebrauchssuspension mindestens 1×10^6 KBE aufweisen. Da eine Konzentration der Stammsuspension von $1,4 \times 10^9$ KBE/ml ermittelt wurde und für hohe Konzentrationen Koagulationsphänomene beschrieben wurden (Ruppert, 1995), sollte die Keimzahl der Gebrauchssuspension zumindest zwischen $1,0$ - $2,0 \times 10^6$ KBE/ml liegen. Um diese Keimzahl zu erreichen, musste eine Verdünnung der Sporenstammsuspension durchgeführt werden. Die Teilvolumina der Gebrauchssuspension errechnen sich aus den folgenden Formeln:

1. Volumen Tween 80 (Art.-Nr. 8.17061.1000, Merck, Hohenbrunn)

$$V_{\text{Tween 80 [10\%]}} \times c_{\text{Tween 80 [10\%]}} = V_G \times c_{\text{Tween 80 [0,1\%]}}$$

$V_{\text{Tween 80 [10\%]}}$ = Volumen verdünnte Tweenlösung

$c_{\text{Tween 80 [10\%]}}$ = Konzentration vorverdünnte Tweenlösung

V_G = Volumen der Gebrauchssuspension

$c_{\text{Tween 80 [0,1\%]}}$ = Tweenkonzentration der Gebrauchssuspension

2. Volumen der Sporenstammsuspension

$$V_S \times c_S = V_G \times c_G$$

V_S = Volumen Stammsuspension

c_S = Konzentration Stammsuspension

V_G = Volumen Gebrauchssuspension

c_G = Konzentration Gebrauchssuspension

3. Volumen steriles Wasser

$$V_{SW} = V_G - V_{\text{Tween 80 [10\%]}} - V_S$$

V_{SW} = benötigtes Volumen steriles Wasser

V_G = benötigtes Volumen Gebrauchssuspension

$V_{\text{Tween 80 [10\%]}}$ = benötigtes Volumen verdünnte Tweenlösung

V_S = benötigtes Volumen Stammsuspension

Tween 80 ist Polysorbat 80, eine grenzflächenaktive Substanz, welche die Oberflächenspannung herabsetzt (Hückstädt, 2005). Diese Eigenschaften ermöglichen eine Reduktion der Sporenaggregation und eine bessere Benetzbarkeit der Keimträger.

Unter der sterilen Werkbank (HeraSafe Typ HSP 12, Heraeus Instruments GmbH, Hanau) wurden die berechneten Volumina für steriles Wasser und Tween 80 in ein Gewebekulturröhrchen (Cellstar® Art.-Nr. 1631160, Greiner Labortechnik, Frickenhausen) pipettiert. Die Sporenstammsuspension wurde mit dem Schüttler (Reax top, Heidolph-Instruments GmbH & Co. KG, Kelheim) bei 2800 U/min für 2 min geschüttelt, dann 2 min im Eisbad gekühlt und erneut 2 min geschüttelt, bevor das errechnete Volumen ebenfalls in das Gewebekulturröhrchen pipettiert wurde.

Um die Substanzen zu durchmischen, wurde die fertige Gebrauchssuspension erneut für 2 min aufgeschüttelt. Bis zum Inokulieren der Keimträger wurde die Gebrauchssuspension bei 4-8 °C in einem Laborkühlschrank (Labex-462, Kirsch GmbH, Offenburg) gelagert.

Vor dem Einsatz der erstellten Gebrauchssuspension wurde diese, wie schon für die Sporenstammsuspension, unter Punkt 3.4 beschrieben, einer Keimzahlbestimmung unterzogen.

3.6 Reinheitskontrolle

Zum Ausschluss einer Kontamination der Sporenstammssuspension und der Gebrauchssuspension durch andere Organismen wurden für beide Suspensionen, jeweils 10 µl mit einer Eppendorf-Pipette (Concept 10-100 µl, Art.-Nr. 3112000053, Eppendorf AG, Hamburg) aufgenommen und drei unterschiedliche Nährböden, zwei Blut- (Art.-Nr. PB 5001 A, Oxoid GmbH, Wesel), zwei CASO-Agar- (Art.-Nr. TV 5002 E, Oxoid GmbH, Wesel) und drei Sabouraud-Glucose-Agar-Platten (Art.-Nr. PO 5001 A, Oxoid GmbH, Wesel), inokuliert und ein Drei-Ösen-Ausstrich angefertigt. Die CASO-Agar-Platten wurden verpackt in Aluminiumfolie und inkubiert. Die Inkubation erfolgte bei 37°C und bei 56°C für 48 Stunden.

Ebenso wurde mit den Blut-Platten verfahren. Die drei Sabouraud-Glucose-Agar-Platten wurden mittels Klebeband luftdicht verschlossen und bei 22°C, 37°C und 56°C für sieben Tage inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeiten erfolgte eine Sichtkontrolle der Nährmedien. Nur auf den bei 56°C inkubierten CASO-Agar- und Blut-Platten sollte ein Keimwachstum erfolgen. Um auch auf diesen ein alleiniges Wachstum von *G. stearothermophilus* nachzuweisen, wurden von den gewachsenen Kolonien jeweils ein Grampräparat angefertigt und begutachtet. Zusätzlich erfolgte eine biochemische Identifizierung mittels der Identifizierungssystemen API 20 und 50 CH (Art.-Nr. 20100 und 50300, bioMérieux, Nürtingen). Im Fall des Ausschlusses einer Fremdkontamination kann die Gebrauchssuspension verwendet werden.

3.7 Keimträger

Bei den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Keimträgern handelt es sich um V4A-Stahldraht (Art.-Nr. 1.4571, Thyssen Krupp, Essen) mit einem Durchmesser von 0,3 mm, der auf 1 cm lange Stücke zurechtgeschnitten wurde. Die Dimensionierung wurde der Dimensionierung des Innenlumens des zu prüfenden Endoskops angepasst. Der Stahldraht wurde zunächst mit 96% (v/v) Ethanol entfettet, um eine gleichmäßige Benetzung zu gewährleisten. Anschließend wurde der Draht auf einen Reagenzglasständer aus Edelstahl (Art.-Nr. 212Q6480, Merck, Darmstadt) gespannt, fixiert und die Abstände für den Zuschnitt markiert. Zur Inokulation wurde dieser Aufbau unter eine Werkbank (Herasafe Typ HSP 12, Heraeus Instruments GmbH, Hanau) transferiert.

Eine möglichst einheitliche Verteilung der Keime in der Gebrauchssuspension wurde durch folgenden Vorgang sichergestellt:

1. 5 Minuten Ultraschallbad (Sonorex Digital 10 P DK 102P, BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin) bei 35 kHz
2. 2 Minuten Eiswasserbad
3. 2 Minuten Durchschütteln der Suspension mittels Reagenzglasschüttler(Reax top, Heidolph-Instruments GmbH & Co. KG, Kelheim) bei 2800 U/min.
4. 2 Minuten Eiswasserbad

Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt.

Bevor die Suspension auf den Keimträger aufgebracht werden konnte, musste eine erneute Durchmischung mit dem Reagenzglasschüttler für 30 s durchgeführt werden. Die Inokulation erfolgte unter der sterilen Werkbank. Hierfür wurde eine Multifunktionspipette (Multipette plus, Art.-Nr. 498000.019, Eppendorf AG, Hamburg) verwendet und jeweils 2 x 5 µl der Gebrauchssuspension auf den markierten Bereich des Stahldrahts aufgetragen (Abb.13). Darauf erfolgte eine Trocknung über Nacht unter der sterilen Werkbank. Am folgenden Tag wurden die Drähte zurechtgeschnitten, in Petrischalen (Art. 633180, Greiner Labortechnik, Frickenhausen) überführt, die Petrischalen geschlossen und anschließend in einer luftdichten Vorratsbox lichtgeschützt bei Raumtemperatur gelagert.

Aufgrund der aus Zeitgründen nicht zeitnah nacheinander durchgeführten Versuchsreihen mussten für jede Versuchsreihe neue Keimträger hergestellt werden.

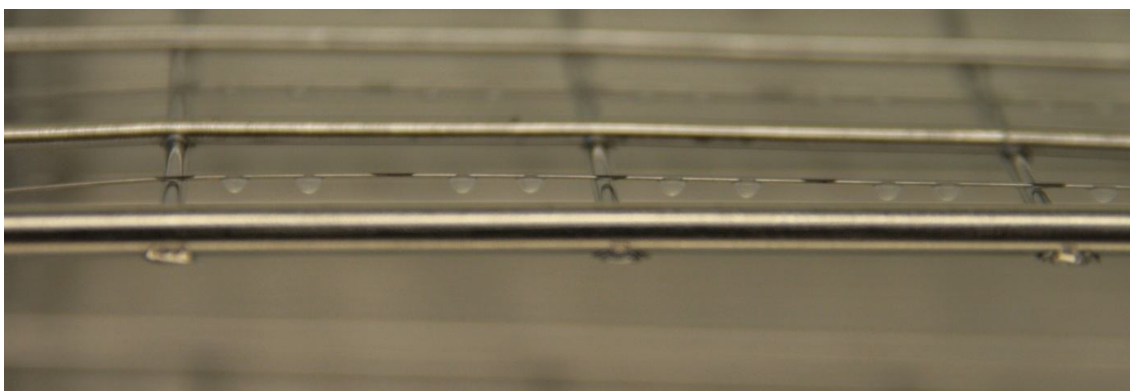


Abb.13: Markierter, betroffter Stahldraht, aufgespannt auf einen Reagenzglashalter

3.8 Keimzahlbestimmung auf den Keimträgern

Bevor die Keimträger im Testverlauf zum Einsatz kommen konnten, musste eine Bestimmung der Keimzahl durchgeführt werden. Dies erfolgte um sicherzugehen, dass sich für unseren Test auch die erforderliche Anzahl von Sporen auf dem Keimträger befanden.

Insgesamt wurden für die Rückgewinnung der Sporen vier Keimträger benötigt. Es wurde jeweils ein Keimträger in ein steriles Reagenzglasröhrchen mit Schraubverschluss (Pyrex® Art.-Nr. 9826, Corning Inc., Corning, USA) gegeben, in dem sich fünf Glasperlen von 5 mm Durchmesser (Art.-Nr. HH 56.1, Roth, Karlsruhe) befanden sowie 10 ml steriles Wasser (Aqua B. Braun, Art.-Nr. 0082479E, Melsungen). Im weiteren Verlauf wurde folgender Zyklus insgesamt drei Mal durchgeführt (Abb.14):

1. 5 minütige Beschallung der Testreagenzgläser im Ultraschallbad bei 35 kHz
2. 2 minütige Kühlung im Eiswasserbad
3. 2 minütige Wirbelmischung bei 2800 U/min
4. 2 minütige Kühlung im Eiswasserbad

Im Anschluss daran wurden die Reagenzgläser zum Abtöten vegetativer Keime 15 Minuten bei $100 \pm 1 \text{ C}^\circ$ erhitzt. Nach dem Erhitzen folgte das Eiswasserbad für mindestens 3 min.

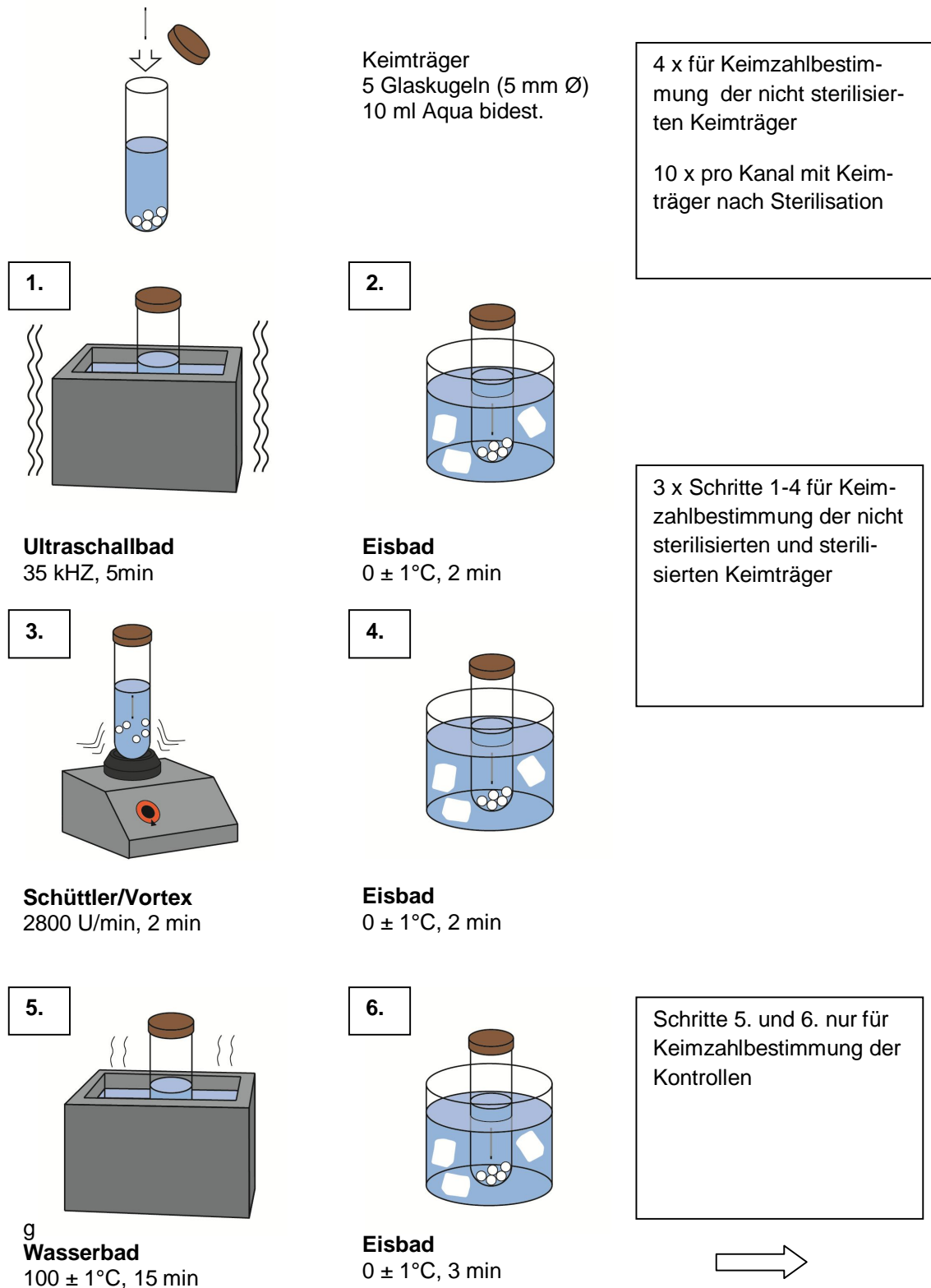
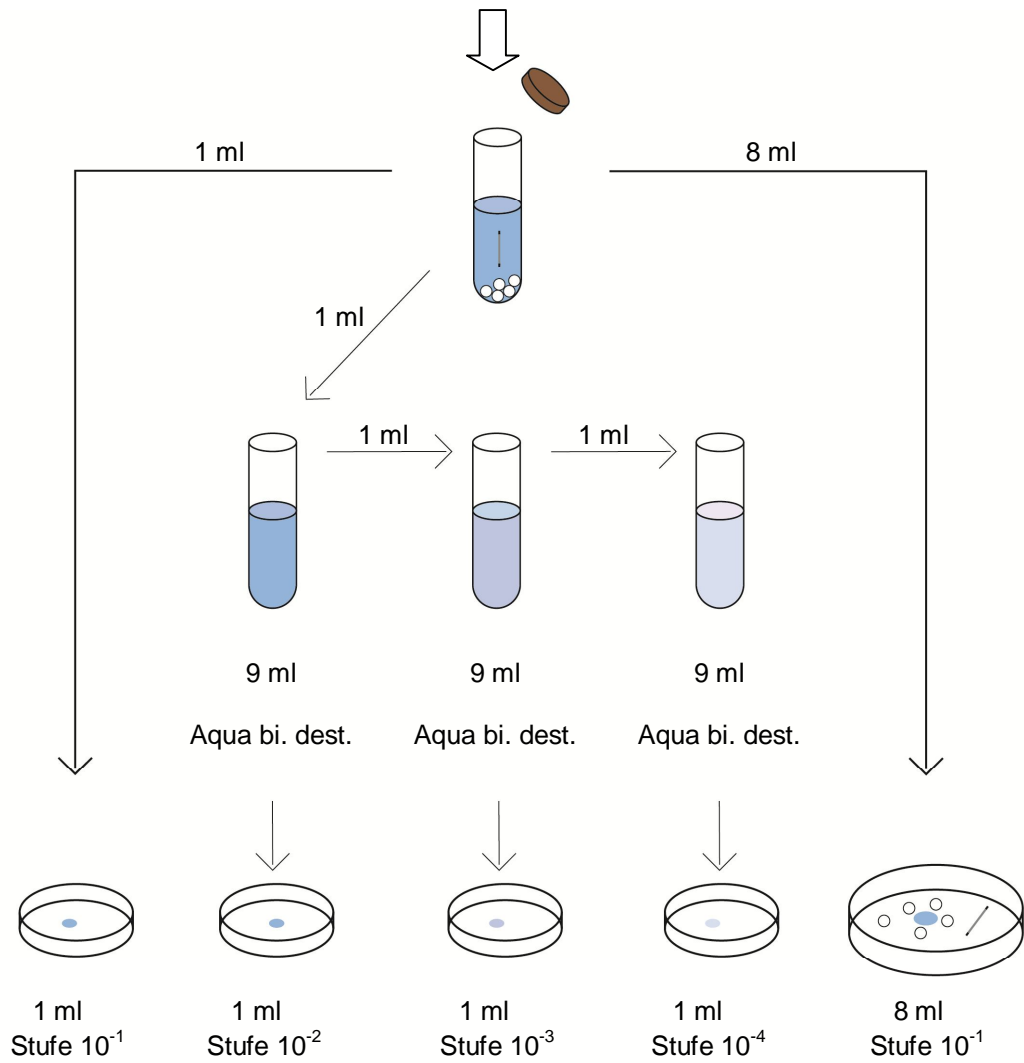
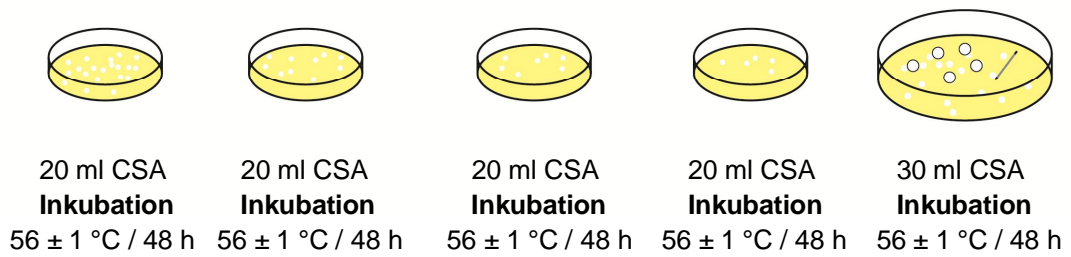


Abb. 14: Bestimmung der Ausgangskeimzahlen und quantitative Auswertung der inokulierten Keimträger nach Sterilisation (modifiziert nach Okpara 1997)



Plattengussverfahren



Koloniezahlbestimmung
 $\text{KBE/Agarplatte} \times \text{Faktor der Verdünnungen} = \text{KBE} / \text{KT}$

Abb. 14 Fortsetzung: Bestimmung der Ausgangskeimzahlen und quantitative Auswertung der inokulierten Keimträger nach Sterilisation (modifiziert nach Okpara, 1997)

Nach Abschluss der Rückgewinnung wurde von jeder der vier Proben eine dezimale Verdünnungsreihe bis zur Stufe 10^{-4} angefertigt. Von dieser Verdünnungsstufe wurden mittels Seropipetten (Falcon®, Art.-Nr. 357522, Becton Dickinson Labware Europe, Le Pont De Claix, France) jeweils drei Petrischalen pro Verdünnungsreihe mit 1 ml befüllt und anschließend mit CASO-Agar übergossen. Zusätzlich wurden Reinheitskontrollen von CASO-Agar und Rückgewinnungsmedium (Aqua B. Braun, Melsungen) durchgeführt. Eine erneute Keimzahlbestimmung erfolgte zu Beginn einer jeden Testreihe.

3.9 Durchführung der Versuche

Für die Tests wurde vergleichend im Typ STERRAD® NX® und STERRAD®100NX® getestet. Da beide Geräte über eine unterschiedliche Programmauswahl verfügen, wurde im STERRAD® NX® das Programm „ADVANCED Half“ und im STERRAD® 100NX® das Programm „VALIDATION Flex“, gemäß Herstellerangaben verwendet, welche beide einem Halbzyklus entsprechen.

Das Testendoskop („Prüfkörper“) wurde je nach Testreihe verpackt im Sterisafe® DURO A3-Set oder im APTIMAX® INSTRUMENT TRAY. Zu Beginn jeder neuen Testreihe wurde das Endoskop nach Herstellerangaben auf Dichtigkeit überprüft, ebenso am Ende des Versuchs.

In den STERRAD® -Geräten wurden für beide Sterilgutbarrieresysteme jeweils 50 qualitative und 10 quantitative Tests durchgeführt, so dass insgesamt 240 Testzyklen gefahren wurden. Da es sich bei „The Cobra“ um ein zweikanaliges Endoskop handelt, wurden pro Testdurchlauf zwei Keimträger sterilisiert, was in der Summe 480 sterilisierte Keimträger ergab.

3.9.1 Versuchsablauf

Zu Beginn eines jeden Versuchstages wurde zunächst ein Gerätewarmlauf durchgeführt. Hierbei lag das Endoskop in einem offenen blauen Tray (Art.-Nr. 13621, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) und wurde einmal in einem vollen Flex- oder Advanced-Zyklus sterilisiert. Im Anschluss daran erfolgte eine Abkühlphase von 30 min, bevor der erste Testzyklus gestartet wurde. Die Abkühlphase von 30 min wurde auch im weiteren Verlauf zwischen zwei Testläufen genau eingehalten. Nachdem das Endoskop für etwa 20 min bei Raumtemperatur abgekühlt war, wurde es mit

den Keimträgern bestückt. Die Keimträger wurden mit einer Pinzette in den Arbeits- und Laserkanal eingebracht und dann mit einem sterilen, markierten Teflonschlauch (Art.-Nr. S 1810-08, BOLA, Bohlender GmbH, Grünsfeld) an die denkbar ungünstigste Stelle vorgeschoben, wie es in der DIN EN ISO 14937 (2010) gefordert wird (Abb.15). Dann wurde das Endoskop in den Sterisafe® DURO A3-Container oder das APTIMAX®-Tray gelegt.

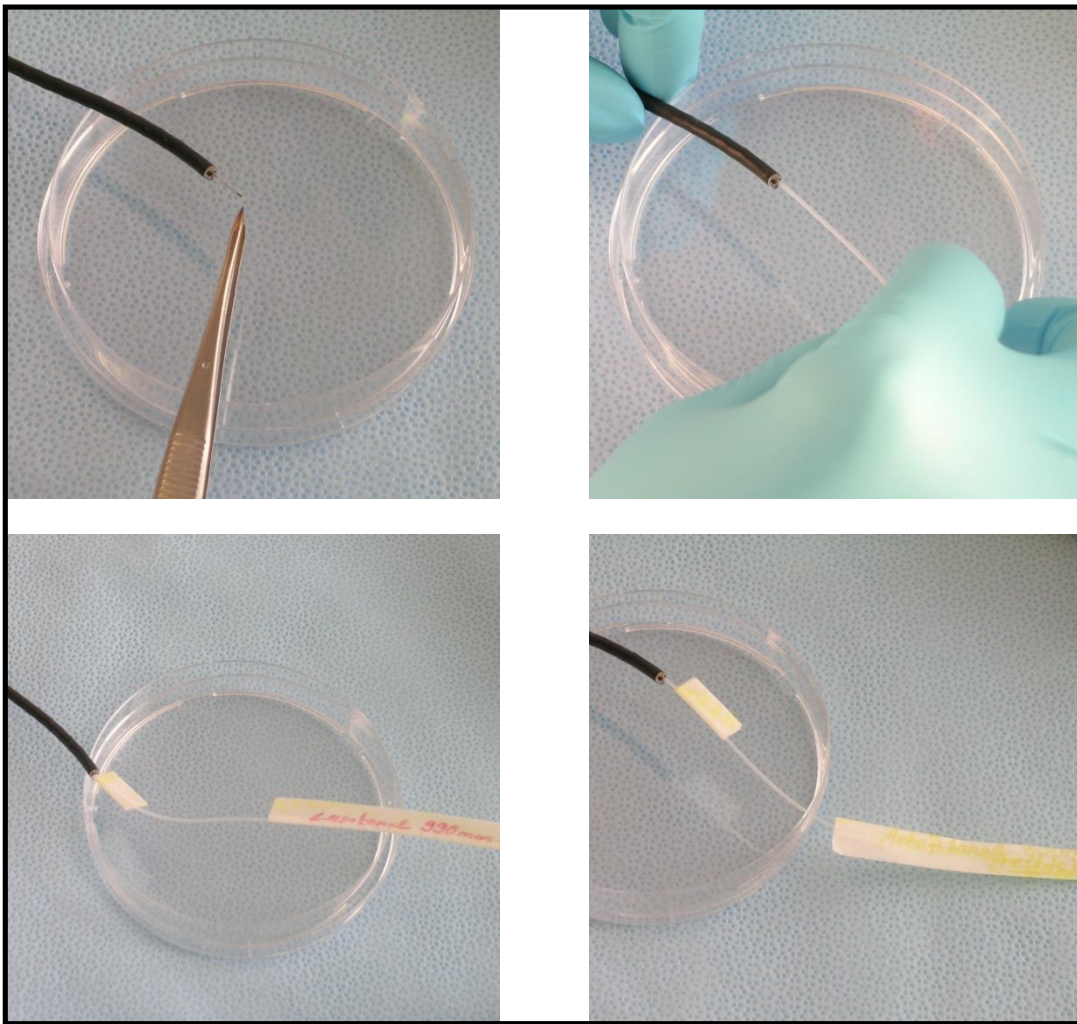


Abb. 15: Bestücken der beiden Kanäle des Endoskops mit den Keimträgern

Im Sterisafe® DURO A3-Container wurde der Prüfkörper in die extra für dieses Endoskop erstellte Silikonvorrichtung gelegt. Beim APTIMAX® INSTRUMENT TRAY musste darauf geachtet werden, dass die Öffnung der Kanäle vor einem Loch in der Silikonmatte lag, um eine vermeintlich bessere Diffusion zu ermöglichen.

Anschließend wurden beide Behältnisse mit einem STERRAD®-Chemoindikatorstreifen versehen (Art.-Nr. 14100, A.S.P., Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) (Abb.16),

sowie der Sterisafe® DURO A3-Container noch mit Einmalfiltern mit Chemioindikatorpunkt (Abb.17).

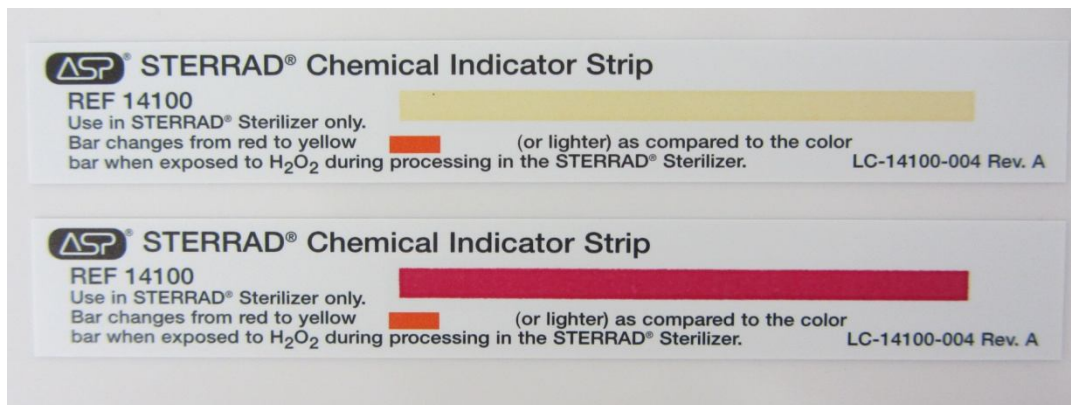


Abb.16: STERRAD®-Chemioindikatorstreifen, vor (unten) und nach Sterilisation (oben)

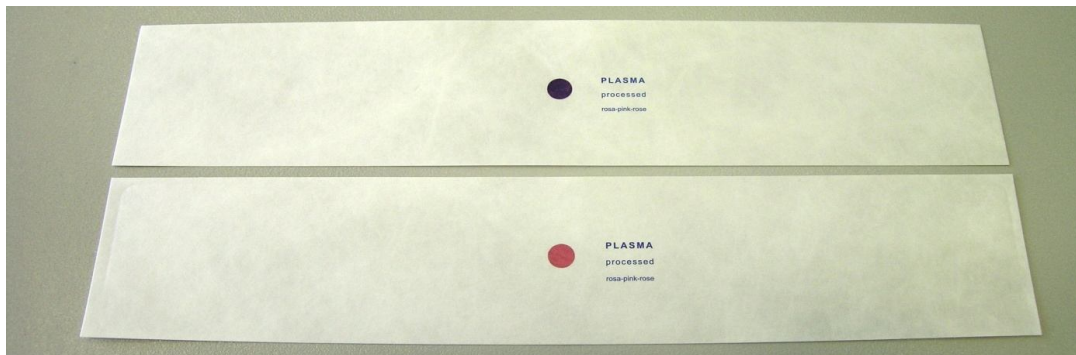


Abb. 17: Einmalfilter für Sterisafe® DURO A3-Set, vor (oben) und nach Sterilisation (unten)

Vor Verschließen des Deckels wurde an einem Metallteil des Endoskops die Temperatur mittels Kontaktthermometer (Fluke 51 II, Everett, USA) gemessen (Sollbereich 18-35°C) (Abb. 18). Nach dem Schließen des Deckels wurde der Sterisafe® DURO A3-Container direkt in immer gleicher Ausrichtung in den NTGP -Sterilisator gestellt werden. Das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY musste zuvor noch 2-fach Kinguard Sterilization Wrap (Art.-Nr. 10 740 KC 100, Kimberly-Clark, Dallas, USA) eingeschlagen werden und dieses mit STERRAD®-Indikatorband (Art. Nr. 14202, A.S.P., Johnson & Johnson, Irvine, USA) fixiert werden (Abb.19).

Im STERRAD® NX® wurde jeweils nur ein Endoskop auf der unteren Ablage sterilisiert. Beim STERRAD® 100NX®, befand sich jeweils ein weiterer Container mit in der Sterilisationskammer, welcher mit dem Endoskop CYF-5A (Olympus, Hamburg) bestückt war.

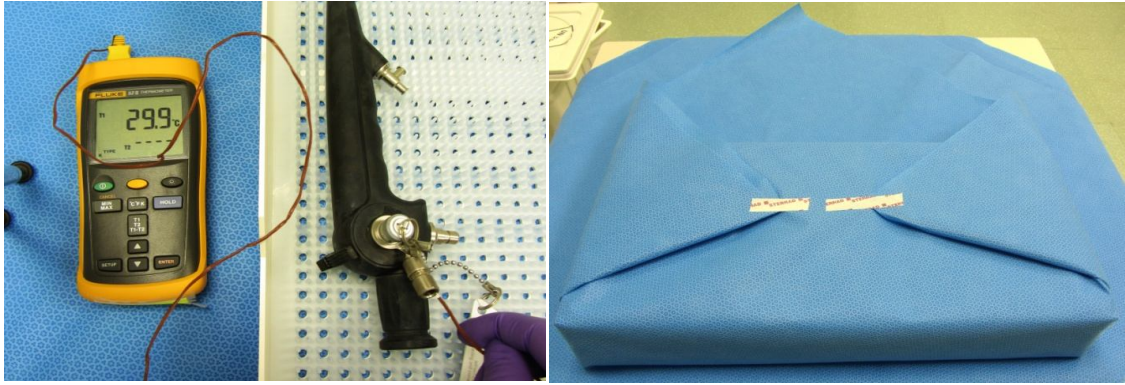


Abb. 18: Temperaturmessung an einem Metallteil

Abb.19: Einschlagen des APTIMAX® INSTRUMENT TRAY in Vlies

Die Verpackungsart war die gleiche. „The Cobra“, bestückt mit den Keimträgern wurde für jeweils 30 Testläufe auf der oberen und 30 Testläufe auf der unteren Ablage sterilisiert.

Nach dem Durchlauf im Testzyklus wurde das Tray unter die sterile Werkbank gebracht, unter sterilen Bedingungen geöffnet und die Keimträger mit einem Teflonschlauch aus den Kanälen entfernt (Abb. 20). Darauf erfolgte der sofortige Transfer in Reagenzgläser mit tryptischer Sojabouillon (Art.-Nr. PO 5001 A, Oxoid GmbH, Wesel) (Abb. 21) mit anschließender Bebrütung bei $56 \pm 1^\circ \text{C}$.

Am Ende eines Testzyklus wurde das Endoskop in einem vollen Sterilisationszyklus wieder aufbereitet, um eventuell im Prüfkörper verbliebene Keime abzutöten. Dieser Zyklus entspricht dem Warmlauf zu Beginn des Versuchstages. Durch diese Maßnahme wurde gewährleistet, dass das Endoskop keimfrei war und der folgende Testlauf unter den gleichen Bedingungen stattfinden konnte.

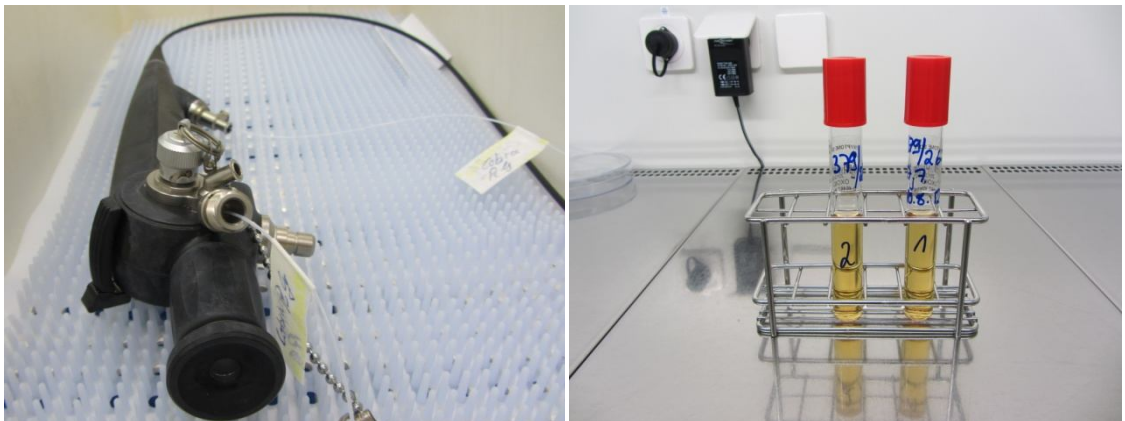


Abb. 20: Entfernung der Keimträger aus dem Endoskop

Abb. 21: Beschriftete Reagenzgläser mit CASO-Bouillon und Keimträger

3.9.2 Reinigung der Container und Trays

Das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY und der Sterisafe® DURO A3-Container sowie die zugehörigen Silikoneinlagen und Deckel wurden nach jedem Test gereinigt. Beim Sterisafe® DURO A3-Container wurden vor dem Reinigungsvorgang die Verschluss-scharniere und die Filterabdeckung entfernt. Die Teile wurden aber ebenfalls mit ge-reinigt. Die Reinigung erfolgte gemäß Herstellerangaben in drei Schritten (Abb. 22):

1. Waschen und Abwischen mit Manu-Klenz®-Lösung (Art.-Nr. 1115-08, Steris Corporation, St. Louis, USA), Mischungsverhältnis: 1 ml Manu-Klenz® / Liter Leitungswasser.
2. Abspülen und Abwischen unter laufendem Leitungswasser.
3. Abspülen und Reinigen mit zweifach destilliertem Wasser.

Anschließend wurden die gewaschenen Behältnisse über Nacht bei Raumtemperatur, oder ggf. aus Zeitersparnis, im Trockenschrank ($56 \pm 1^\circ\text{C}$) getrocknet. Vor erneutem Gebrauch durften die Trays und Silikoneinlagen keine Restfeuchte mehr aufweisen. Die Reinigungslösung wurde an jedem Versuchstag neu angesetzt.



Abb. 22: Aufbau der drei Reinigungsschritte

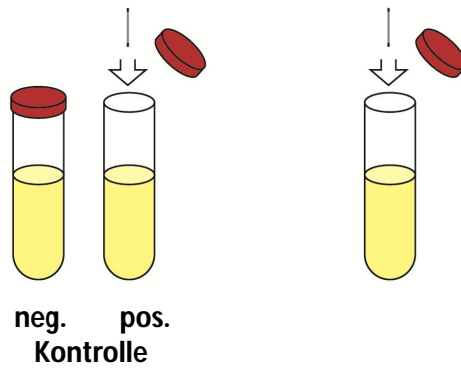
3.10 Auswertung der sterilisierten Keimträger

3.10.1 Qualitative Auswertung

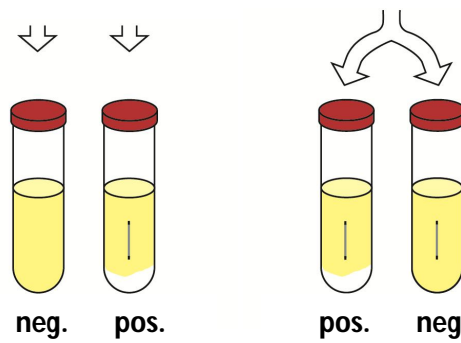
Die Auswertung erfolgte gemäß DIN EN ISO 11737-2 (2010). Die Keimträger wurden in Nährlösung gegeben und bei $56 \pm 1^\circ\text{C}$ für 14 Tage bebrütet. Neben den rückgewonnenen Keimträgern wurde pro Versuchstag eine Positiv- und eine Negativkontrolle mit inkubiert. Die Positivkontrolle bestand aus einem Reagenzglas mit Nährlösung, in das ein unbehandelter, inokulierter Keimträger gegeben wurde. Als Negativkontrolle diente ein Reagenzglas mit Nährmedium der verwendeten Charge ohne weitere Behandlung.

Während der 14-tägigen Inkubationszeit wurden die Reagenzgläser jeden Tag einer Sichtkontrolle unterzogen. War das Keimwachstum positiv, was sich durch milchigen Niederschlag am Boden des Reagenzglases zeigte, wurde das Reagenzglas herausgenommen, aufgeschüttelt und ein Drei-Ösen-Ausstrich auf einer CASO-Agar-Platte angefertigt. Diese wurde dann für 48 Stunden bei $56 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert. Von den Kolonien wurde ein Gram-Präparat erstellt, um anschließend eine morphologische Zuordnung der gewachsenen Kolonie durchzuführen (Abb. 23).

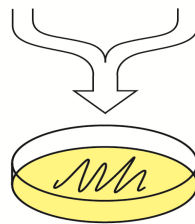
Keimträger vor Sterilisation Keimträger nach Sterilisation



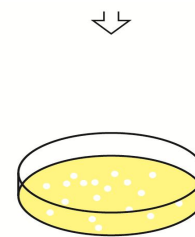
Überführung der Keimträger in Reagenzgläser mit tryptischer Sojabouillon
 Inkubation ($56 \pm 1^\circ\text{C}$, 14 d)



Tägl. Sichtkontrolle/ Auswertung:
 Weißer Belag = Wachstum von *G. stearothersophilus*
 Klare Bouillon = Kein Wachstum von *G. stearothersophilus*



Bei Wachstum kurzes Aufschütteln und Drei-Ösen-Ausstrich.
 Inkubation ($56 \pm 1^\circ\text{C}$, 48h)



Erstellen eines Grampräparats der gewachsenen Kolonien



Mikroskopische Auswertung

Abb. 23: Qualitative Auswertung der inokulierten Keimträger nach Sterilisation (modifiziert nach Okpara, 1997)

3.10.2 Quantitative Auswertung

Die quantitative Auswertung erfolgte weitestgehend wie die Keimzahlbestimmung der Kontrollen. Lediglich die dort geforderte Hitzebehandlung bei $100 \pm 1^\circ\text{C}$ im Wasserbad und das anschließende Kühlen entfiel.

Mit 1 ml der gewonnenen Suspension wurde eine dezimale Verdünnungsreihe bis 10^{-4} durchgeführt, wieder im Dreifachansatz, in Petrischalen pipettiert und mit CASO-Agar ausgegossen. Die im Reagenzglas verbliebenen 9 ml Suspension (mit Keimträger und Glasperlen) wurde in eine große Petrischale (Art.-Nr. 639102, Greiner Labortechnik, Frickenhausen) gegeben und ebenfalls mit CASO-Agar ausgegossen. Nach der Inkubation über zwei Tage bei $56 \pm 1^\circ\text{C}$ wurden die Kolonien ausgezählt.

3.10.3 Statistische Auswertung

Falls Kolonien auf den Agar-Platten gewachsen waren, wurde für jeden Keimträger der arithmetische Mittelwert der drei Plattenansätze ermittelt. Anschließend wurde für jeden Keimträger der Reduktionsfaktor ($\text{RF} = \log_{10} \text{ vor Sterilisation} - \log_{10} \text{ nach Sterilisation}$, vgl. Höller et al., 1993) ermittelt. Wird im Halbzyklusverfahren ein Reduktionsfaktor von ≥ 6 erreicht, so wird es per definitionem als ausreichend bewertet (Block, 1991).

In unseren Versuchen kam es bei keinem der sterilisierten Keimträger anschließend zu einem Keimwachstum, weshalb ein statistischer Vergleich der Reduktionsfaktoren entfallen musste. Zudem ist der dekadische Logarithmus „0“ nicht definiert, weshalb zur Berechnung ein Keimwachstum von „1“ angenommen werden musste, wodurch Unterschiede der Reduktionsfaktoren nur auf wechselnde Ausgangskeimzahlen zurückzuführen wären.

4 Ergebnisse

4.1 Umfang der Versuche

Im STERRAD® NX® wurden jeweils 10 quantitative und 50 qualitative Versuche für die beiden unterschiedlichen Sterilbarrieresysteme durchgeführt. Für jeden Versuch wurden Laser- und Biopsiekanal mit einem Keimträger bestückt. Das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY wurde gemäß Herstellervorgaben mit einem Sterilisationsvlies KC Wrap 100 umwickelt. Insgesamt wurden in 120 Zyklen des Typs „Advanced half“ 240 Keimträger sterilisiert.

Im STERRAD® 100NX® wurden ebenfalls 240 Keimträger, diesmal im Testzyklus „Validation Flex“ sterilisiert. Ein weiterer Unterschied war, dass das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY gemäß Herstellervorgaben mit den unterschiedlichen Sterilisationsvlies KC Wrap 400 (n = 20), bzw. 100 (n = 30) umwickelt wurde.

Insgesamt wurden 480 Einzelergebnisse ermittelt.

Zusätzlich wurden an jedem Versuchstag eine Positiv- und eine Negativkontrolle erstellt.

4.2 Ausgangskeimzahlen

Die Keimzahlen der selbst hergestellten Keimträger mussten vor Beginn einer jeden Testreihe durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die eingesetzten Keimträger über genug Keime verfügten. Die Ausgangskeimzahlen wurden mittels Dreifachbestimmung von jeweils vier Keimträgern ermittelt. Zudem musste für jede neue Keimträgercharge ebenfalls die Keimzahl bestimmt werden (Tab. 4-20, siehe Anhang).

Aufgrund der zeitlich versetzt stattfindenden Versuche kamen insgesamt 17 Chargen zum Einsatz (Tab. 2). Die Anzahl der ermittelten koloniebildenden Einheiten pro Keimträger lag dabei zwischen $1,05 \times 10^6$ und $2,24 \times 10^6$ (Tab. 4-20, siehe Anhang).

Die arithmetischen Mittelwerte der Chargen für die Versuche im STERRAD® NX® lagen zwischen $2,00 \times 10^6$ und $2,18 \times 10^6$, die STERRAD® 100NX® zwischen $1,25 \times 10^6$ und $2,05 \times 10^6$ koloniebildenden Einheiten (Tab. 2).

Tabelle 2: Arithmetische Mittel der eingesetzten Keimträger

Geräteversion	Arith. Mittel der Keimträger Sterisafe® DURO A3-Set	Arith. Mittel der Keimträger APTIMAX® TRAY
STERRAD® NX®	<ul style="list-style-type: none"> • $2,06 \times 10^6$ • $2,15 \times 10^6$ • $2,15 \times 10^6$ • $2,12 \times 10^6$ 	<ul style="list-style-type: none"> • $2,00 \times 10^6$ • $2,18 \times 10^6$ • $2,07 \times 10^6$ • $2,15 \times 10^6$
STERRAD® 100NX®	<ul style="list-style-type: none"> • $1,90 \times 10^6$ • $1,94 \times 10^6$ • $1,54 \times 10^6$ • $1,48 \times 10^6$ • $1,25 \times 10^6$ 	<ul style="list-style-type: none"> • $1,97 \times 10^6$ • $1,93 \times 10^6$ • $1,68 \times 10^6$ • $2,05 \times 10^6$

Die Anzahl der dabei gewonnenen Einzelergebnisse für die Ermittlung der arithmetischen Mittelwerte der Keimträgerwurde wurden zudem statistisch ausgewertet (Tab. 21) und graphisch mit Box-Plot dargestellt (Abb. 24). Um den geringen Unterschied der Ergebnisse besser darzustellen, wurden in der Grafik die Keimzahlen als 10^6 dargestellt, was der Keimzahl nach Rückrechnung der Verdünnung entspricht.

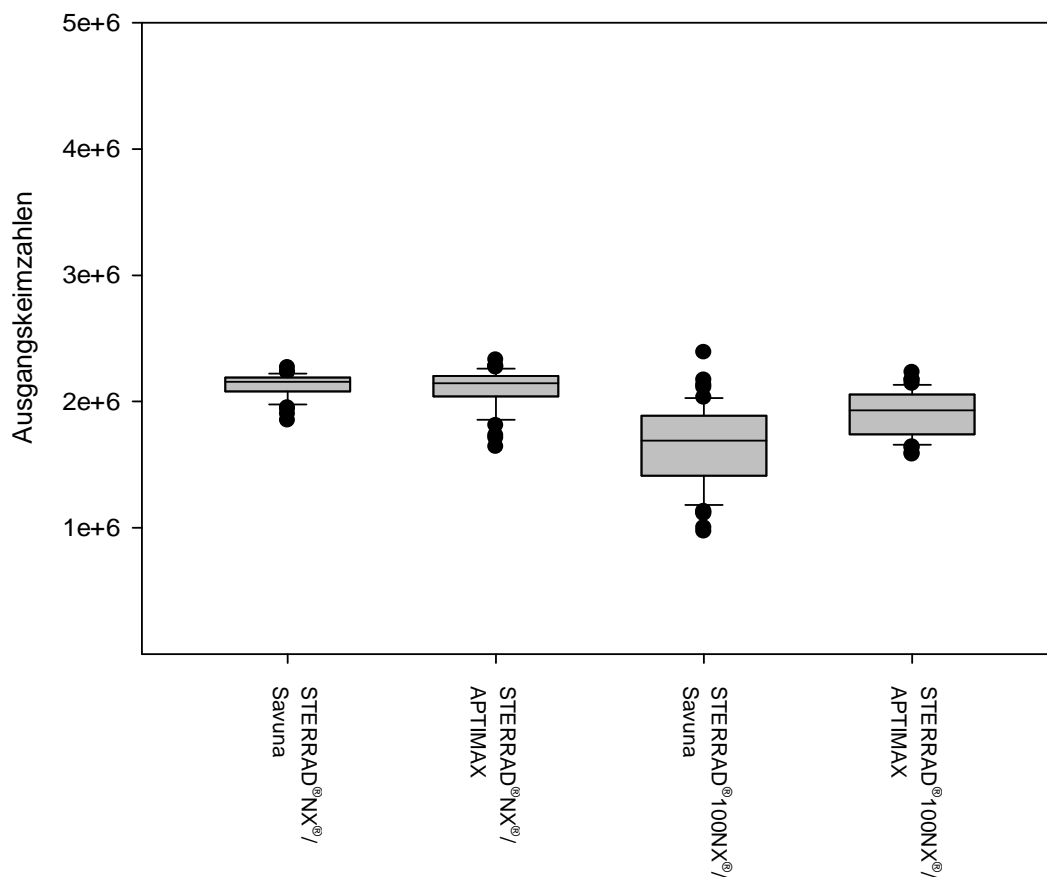


Abb. 24: Graphische Darstellung der Einzelergebnisse der Ausgangskeimzahlen

Der Post-Hoc-Test nach der Dunn's Methode, indem die Ergebnisse paarweise verglichen wurden, ergab zwar einen signifikanten Unterschied der Kontrollen (Tab. 3). Dies ist jedoch in der hohen Replikazahl, und der hohen Präzision (geringen Streubreite) der durchgeführten Arbeiten begründet. Die Unterschiede sind letztlich marginal und ohne weitere Bedeutung. Entsprechend gering sind die Standardabweichung, der Standardfehler und die Streuung (Tab. 21).

Graphisch verdeutlicht dies auch die Box-Plot-Darstellung mit einer y-Achse beginnend bei 1 (Abb. 24).

Tab. 3: Vergleich der Mediane nach der Dunn Methode

Vergleiche	Diff. of Ranks	Q	p<0.05
NX-Savuna vs. 100NX-Savuna	100,121	8,758	Ja
NX-Savuna vs. 100NX-APIMAX	61,323	5,089	Nein
NX-Savuna vs. NX-APTIMAX	7,344	0,609	Ja
NX-APTIMAX vs. 100NX-Savuna	92,777	8,116	Ja
NX-APTIMAX vs. 100NX-Savuna	53,979	4,480	Ja
100NX-APTIMAX vs. 100NX-Savuna	38,798	3,394	Ja

4.3 Ergebnisse im STERRAD® NX®

Bei keinem der 240 im STERRAD® NX® sterilisierten Keimträger konnte anschließend Keimwachstum nachgewiesen werden, weder bei den quantitativen (Tab. 22-25), noch bei den qualitativen Tests (Tab. 30). Der arithmetische Mittelwert der Reduktionsfaktoren lag für beide Verpackungssysteme bei 6,3. Damit wurde die laut DIN EN 14161 (2010) geforderte Keimreduktion von 6 log-Stufen in beiden Fällen erreicht.

4.4 Ergebnisse im STERRAD® 100NX®

Bei den 240 im STERRAD® 100NX® sterilisierten Keimträgern konnte ebenfalls kein Keimwachstum nachgewiesen werden, weder bei den quantitativen (Tab. 26-29, siehe Anhang), noch bei den qualitativen Tests (Tab. 31, siehe Anhang). Die arithmetisch ermittelten Reduktionsfaktoren lagen hier bei 6,29, bzw. 6,23 für das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY (Tab. 26-27, siehe Anhang) und bei 6,29, bzw. 6,19 (Tab. 28-29, siehe Anhang) für das Sterisafe® DURO A3-Set. Die Unterschiede ergaben sich lediglich aus den unterschiedlichen Ausgangskeimzahlen. Somit wurde im STERRAD® 100NX® ebenfalls die geforderte Keimreduktion für beide Verpackungsarten erreicht. Auch das unterschiedliche Einschlagen der APTIMAX® INSTRUMENT TRAYS hatte kein abweichendes Ergebnis zur Folge.

4.5 Ergebnisse der Kontrollen

Die Kontrollen entsprachen ebenfalls den geforderten Kriterien:

- Alle Bioindikatoren der Positivkontrollen der qualitativen Versuche zeigten einen eindeutig nachweisbaren Niederschlag und somit ein Wachstum nach dem ersten Tag bei $56 \pm 1 \text{ C}^\circ$ Bebrütung.
- Alle Negativkontrollen der CASO-Boullion zeigten unter Bebrütung bei $56 \pm 1 \text{ C}^\circ$ keinen Niederschlag und waren somit frei von Keimwachstum.
- Die Reinheitskontrollen des sterilen Wassers zeigte ebenfalls kein Keimwachstum.
- Alle Chemoindikatoren wiesen nach Testdurchlauf einen Farbumschlag gemäß Herstellerangaben auf.

4.6 Fazit

Für das APTIMAX® INSTRUMENT TRAY mit der STERRAD® INSTRUMENT TRAY MAT und den beiden verwendeten Einschlagtüchern KC100 und KC400, als auch für den Sterisafe® DURO A3-Container mit der Toolsafe® Gitterunterlage wurde eine Keimreduktion von $\geq 10^6$ nachgewiesen.

Hiermit entsprechen beide Verpackungsarten und beide STERRAD®-Geräte mit der jeweiligen Software der DIN EN 14161 (2010).

Es wurde darüberhinaus bewiesen, dass die Wirksamkeit über ein beträchtliches Maß die Herstellerangaben überschreitet und damit ein ausreichender Sicherheitsabstand gegeben ist.

Zudem konnte erstmals die Wirksamkeit bei einem Instrument mit mehr als einem Lumen nachgewiesen werden. Die eingesetzten Sterilbarrieresysteme wiesen keine nachweislichen Unterschiede auf.

Mittlerweile gibt die Firma Richard Wolf GmbH in der Auflistung für die Sterilisation ihrer Geräte an, dass das flexible 2-Kanal-Ureterorenoskop „The Cobra“ im STERRAD®NX® (ADVANCED-Zyklus) und STERRAD®100NX® (FLEX- und DUO-Zyklus) aufbereitet werden kann (Richard Wolf GmbH 2013).

5 Diskussion

5.1 Aufbereitung flexibler Endoskope

Flexible Endoskope werden routinemäßig für immer mehr diagnostische und therapeutische Zwecke eingesetzt, so z.B. im gastrointestinalen, bronchialen oder urologischen Bereich (Sonntag, 2009). Hierbei kommt das Endoskop sowohl mit mikrobiell besiedelten, als auch sterilen Körperbereichen in Kontakt (AWMF, 2012). Übertragungen von Erregern durch kontaminierte flexible Endoskope sind seit vielen Jahren (Lee und Park, 2013) und auch in jüngster Zeit belegt (Kovaleva et al., 2013).

Die Aufbereitung von Endoskopen ist ein äußerst komplexer und optimaler Weise standardisierter Prozess, indem die Sterilisation nur den letzten Prozessschritt darstellt. In diversen Leit- und Richtlinien wird gefordert, dass alle Teile der Endoskope zu reinigen, zu desinfizieren bzw. bei entsprechender Indikation zu sterilisieren sind.

Die Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften fordert z.B., dass grobe Verunreinigungen beim Herausziehen des Endoskops abzuwischen sind (AWMF, 2012). Danach sind die Kanäle mit mindestens 200 ml detergenzhaltiger Lösung zu spülen, um ein Antrocknen organischer Materialien zu vermeiden. Darauf folgt eine mechanische Reinigung mit Druckluft oder Bürste, um für weitere Reinigungsprozesse die Durchgängigkeit zu gewährleisten und weitere Verunreinigungen zu entfernen. Im Anschluss soll eine maschinelle Reinigung und Desinfektion, in einem validierten Verfahren, durchgeführt und die Endoskope schließlich korrekt verpackt und gelagert werden.

Endoskope, die bei haut- oder schleimhautdurchtrennenden Eingriffen und/oder in primär sterilen Körperhöhlen eingesetzt werden, müssen steril sein, weshalb in diesem Fall zusätzlich noch eine Sterilisation erfolgen muss (AWMF 2012). Hierzu sind zusätzlich Verpackungen (Sterilbarrieresysteme) einzusetzen, die in Abhängigkeit vom Sterilisationsverfahren auszuwählen sind.

Aufgrund ihrer vielen, häufig thermolabilen Materialkomponenten können die meisten flexiblen Endoskope nicht dampfsterilisiert werden und sind somit auf ein NT-Sterilisationsverfahren angewiesen (Rutala und Weber, 2013). Das erzielbare Ausmaß der NT-Sterilisationsverfahren hängt in hohem Maße vor allem davon ab, ob die zuvor durchgeführte Reinigung geeignet war, ideale Grundvoraussetzungen für eine Sterilisation zu schaffen (Heeg und Setz 1994, Alfa et al., 1996).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde aufgrund seiner rückstandsfreien Wirkungsweise das H₂O₂-Gas-Plasma-Verfahren unter Einsatz der Sterrad[®]NX[®]-Tech-

nologie ausgewählt. In Anlehnung an frühere Versuche mit NTGP-Sterilisationsverfahren (Borneff et al., 1995; Okpara, 1998; Schenk, 2007; Borneff-Lipp et al., 2008; Kroße, 2009) erschien es sinnvoll, auch die Leistungsfähigkeit der neuesten Gerätegeneration sowie deren Zuverlässigkeit im Bezug auf ein hochmodernes flexibles 2-Kanal-Endoskop zu untersuchen. Zudem wurde das Endoskop im Zusammenhang mit einem neuen Sterilbarriere- und Verpackungssystem getestet, welches für alle NT-Sterilisationsverfahren einsetzbar sein soll und eine bessere Lagerung sowie Wartungsfreiheit verspricht.

5.2 Materialverträglichkeit von H₂O₂-Gas in Bezug auf flexible Endoskope

Die Materialverträglichkeit von H₂O₂ wird in der Literatur allgemein als sehr gut beschrieben (Förtsch et al., 1993). So konnten japanische Autoren in Versuchen mit den einzelnen Materialkomponenten von Endoskopen, welche 500 Mal sterilisiert wurden, nur geringfügige Korrosionen und/oder Degenerationen nachweisen.

Die Funktionsfähigkeit der Endoskope wurde dabei in keinster Weise eingeschränkt. Es kam lediglich zu einem Ausbleichen der Endoskope (Shintani, 2009). Auch in der vorliegenden Arbeit war ein deutliches Ausbleichen der Endoskope nach einer vielfachen Sterilisation mit dem STERRAD[®]-Verfahren festzustellen. Shintani (2009) konnte jedoch in Versuchen mit H₂O₂-Gas, über einen sehr langen Expositionszeitraum, Veränderungen bei bestimmten Materialien feststellen, insbesondere Nylon, Eisendraht und Naturgummi erwiesen sich als anfällig (Shintani, 2009).

Um ein Medizinprodukt ohne Bedenken nach Sterilisation wieder am Patienten einsetzen zu können, muss das Sterilisationsagens unbedenklich sein (DIN EN ISO 10993-7). Hierzu wurden Tests durchgeführt, welche die Rückstände nach Sterilisation an Endoskopoberflächen bestimmen. Diese Tests allein sind aber nicht aussagekräftig in Bezug auf die Wirkung von H₂O₂-Rückständen in vivo (Shintani, 2009). Nach TRGS 905 und GefStoffV bestehen aber bisher keine Bedenken im Bezug auf H₂O₂. Die nach der Sterilisation überbleibenden Reststoffe sind in der Entsorgung unproblematisch, was einen Vorteil gegenüber alternativen NT-Sterilisationsverfahren darstellt (vgl. Witte, 2013).

5.3 Kostenreduktion in der Sterilgutversorgung

Die Reduzierung von Kosten ist in nahezu allen deutschen Krankenhäusern aktuell ein wichtiges Thema. Schon 1998 befassten sich Adler et al. mit der Kostenreduktion im Bezug auf die unterschiedlichen Sterilisationsverfahren (Adler et al., 1998). Sie überprüften die verschiedenen NT-Sterilisationsverfahren auf ihre Betriebskosten und zwar insbesondere im Vergleich mit dem NTGP-Sterilisationsverfahren. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass Formaldehyd zwar in vielen Fällen, wie z.B. bei elektronischen Instrumenten, günstiger ist, aber deutlich zeitaufwendiger.

Im Bezug speziell auf Endoskope stellte schon damals das NTGP-Verfahren die günstigste Alternative dar. Ethylenoxid war bei jeglicher Art der Instrumente den anderen beiden Verfahren unterlegen. Auch Weber (2009) kommt in einer neueren Untersuchung, welche am Beispiel des Klinikums Ernst von Bergmann in Potsdam die Entwicklung der Kosten in der zentralen Sterilgutversorgungsabteilung beschreibt, zu einem ähnlichen Schluss.

Nach dem Ersetzen der EO-Sterilisation durch Dampfsterilisation und NTGP-Sterilisation konnten die Kosten ebenfalls gesenkt werden. Die zunächst durch die Dampfsterilisation von Endoskopen anfallenden Mehrkosten durch Reparaturen wurden durch den Einsatz eines STERRAD[®] NX[®] wieder gesenkt.

Wie Weber (2009) ausführt, sind die trotzdem leicht ansteigenden Betriebskosten lediglich auf eine Erhöhung der Energiekosten zurückzuführen. Ein weiterer Vorteil des NTGP-Verfahrens in der Neuanschaffung ist der problemlose Anschluss, der nur eine Stromquelle erfordert und keine weiteren baulichen Maßnahmen bezüglich der sicheren Entfernung von Chemikalien.

5.4 STERRAD[®] NX[®]

Die Herstellerangaben für die Sterilisation im STERRAD[®] NX[®] für flexible Endoskope liegen bei 1-Kanal-Teflon/Polyethylen-Lumen bei einem Lumendurchmesser von ≥ 1 mm sowie einer Länge ≤ 850 mm zur Behandlung entsprechend deklarerter Endoskope. In unseren Versuchen konnten wir sogar beweisen, dass der STERRAD[®] NX[®] im „ADVANCED-Cycle“ dazu in der Lage ist auch bei 2-Kanal-Endoskopen mit deutlich längerem Lumen (850 mm / 990 mm) eine Sterilisation ermöglicht. Durch die kurzen Wiederaufbereitungszeiten gegenüber anderen NT-Sterilisationsverfahren sind die sterilisierten Medizinprodukte schnell wieder einsetzbar.

Aufgrund seiner Größe eignet sich diese Geräteversion besonders für ambulante Endoskopiepraxen, die über eine begrenzte Anzahl an Endoskopen verfügen, die jedoch schnell wieder verwendet werden sollen. Aufgrund der geringen Kammergröße ist es nur möglich ein Endoskop pro Zyklus zu sterilisieren. Für Kliniken, in denen eine größere Anzahl an Endoskopen aufbereitet werden muss, eignet diese Geräteversion höchstens als Ergänzung.

5.5 STERRAD® 100NX®

Die Herstellerangaben für die Sterilisation im STERRAD® 100NX® für flexible Endoskope liegen bei 1-Kanal-Teflon/Polyethylen-Lumen bei einem Lumendurchmesser von ≥ 1 mm sowie einer Länge ≤ 850 mm. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass das STERRAD® 100NX®-Verfahren im „FLEX-Zyklus“ dazu in der Lage ist, auch bei 2-Kanal-Endoskopen mit deutlich längerem Lumen (850 mm / 990 mm) eine Sterilisation im Sinne der Definition (vgl. Machmerth, 2008) zu gewährleisten. Der STERRAD® 100NX® ist in der Lage, auf zwei Trays, zwei flexible Endoskope gleichzeitig aufzubereiten.

Der STERRAD® 100NX® eignet sich zur Installation aufgrund seiner Bauweise, seines größeren Fassungsvermögens und größeren Vielseitigkeit, besonders für die Sterilgutaufbereitung in größeren Krankenhäusern, indem Möglichkeit für ein schnelles NT-Sterilisationsverfahren für größere Mengen damit geschaffen wird, beispielsweise an flexiblen Endoskopen.

5.6 Savuna Sterisafe®-Sterilbarrieresystem

Bei unseren Versuchen kam ein neu konzipiertes Sterilbarrieresystem zum Einsatz. Das Sterisafe®-System soll somit für alle bekannten NT-Sterilisationsverfahren einsetzbar sein, auch für die Dampfsterilisation.

Seine Validation für NTGP-Sterilisationsverfahren (STERRAD®) war Teil unserer Versuche. Das System ist laut Herstellerangaben sehr stabil und aufgrund seiner Bauweise ohne Dichtungen wartungsfrei. Um den Inhalt gegen seine Umwelt keimfrei abzudichten, schließen seine Ober- und Unterschale nach dem Prinzip der Pasteur'schen Schleife ab. Dieses Prinzip sorgt allgemein dafür, dass Container beliebig häufig sterilisiert werden können und Verbrauchsmaterial, wie z.B. Filter und Plomben gespart werden können, was Kosten spart und demzufolge umweltfreundlicher ist (Storz

und Gabele, 2001). Der Sterisafe[®]-Container in unserer Versuchsreihe verfügte allerdings über ein Einmalfiltersystem mit integriertem Indikatorsystem für die NTGP-Sterilisation.

Die Vorteile des Sterilbarriere- und Verpackungssystems sind demnach vor allem die Vielseitigkeit in Bezug auf die unterschiedlichen Sterilisationsverfahren, das Einsparen von Folgekosten und ggf. die vorteilhafte Umweltfreundlichkeit.

Das im Rahmen der vorliegenden Versuche verwendete Modell beinhaltete eine passgenaue Silikoneinlagevorrichtung für das flexible 2-Kanal-Endoskop, welche dieses im Container beim Transport nicht verrutschen lässt.

In den Versuchen konnten im Vergleich zum schon früher vom Hersteller (A.S.P. Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA) validierten APTIMAX[®]-Tray keine Nachteile im Bezug auf die Sterilisation festgestellt werden. Beide Systeme lieferten ein adäquates Sterilisationsergebnis.

6 Zusammenfassung

Hochkomplexe Medizinprodukte, wie z.B. flexible Endoskope mit verschiedenen thermolabilen Werkstoffkomponenten, können mit den gebräuchlichen, thermophilen Dampfsterilisationsverfahren nicht aufbereitet werden, ohne dass es dabei zu einem höheren Verschleiß kommt und ggf. deren Funktionsfähigkeit eingeschränkt wird.

Um diese Medizinprodukte trotzdem zu sterilisieren, wurden Niedertemperaturverfahren entwickelt, wie z.B. die Ethylenoxid-, Formaldehyd- und als neueste Form die Wasserstoffperoxid-Gas-Plasma-(NTGP)-Sterilisation, welche im Gegensatz zu Dampfsterilisatoren bei Temperaturen unter 75 °C arbeiten.

Während die beiden Erstgenannten sich eines toxischen und z.T. als kanzerogen nachgewiesenen Agens bedienen, verwendet das NTGP-Sterilisationsverfahren das nichttoxische und nichtkanzerogene Wasserstoffperoxid als sterilisierendes Mittel.

Diese Grundlage der NTGP-Sterilisation ermöglicht ein vereinfachtes Anschließen, eine schnellere und somit beschleunigte erneute Bereitstellung der Instrumente und ein geringeres Gefahrenrisiko für das Bedien-Personal.

Kritisch zu betrachten ist jedoch die Auswirkung von Wasserstoffperoxid auf bestimmte Werkstoffe und die Wirksamkeit innerhalb engen, langen Lumina.

Die im Rahmen der vorliegenden Studie durchgeführten Versuche beschäftigten sich mit dem Vergleich der beiden aktuellsten NTGP-Sterilisationsgeräte, welche nach dem sogenannten NX[®]-Verfahren arbeiten. Dieses wurde einer mikrobiologischen Wirksamkeitsprüfung unterzogen, in Bezug auf ein flexibles 2-Kanal-Dauerspül-Laser-Uretero-Renoskop („The Cobra“ Richard Wolf GmbH, Knittlingen), mit einem Kanal-Lumen außerhalb der Herstellerangaben.

Des Weiteren wurden zwei Sterilbarriersysteme in Form des APTIMAX[®] INSTRUMENT TRAY und das Sterisafe[®] DURO A3-Set, getestet.

Beide Sterilisationstechnologien (STERRAD[®] NX[®] und STERRAD[®]100NX[®] (A.S.P. Johnson & Johnson Medical, Irvine, USA)) waren mit einer Software versehen, welche eine Evaluierung sowie eine Vergleichbarkeit mit anderen Sterilisationsverfahren, im Sinne der Halbzyklusmethode, ermöglichte.

Die beiden Kanäle des Prüfkörpers (Länge/Durchmesser des Biopsiekanal: 850 mm / 1,1 mm; Länge/Durchmesser des Laserkanals 990 mm / 1,1 mm) wurden mit einem ca. 1 cm langen Stahldraht, auf welchen Sporen von *G. stearothermophilus*

(ATCC 7953) inokuliert worden waren – an der am schwersten zugänglichen Stelle – im Sinne einer „worst-case“-Situation bestückt.

Die Keimzahl der Stahldrähte lag in den Versuchen zwischen $1,25 \times 10^6$ und $2,18 \times 10^6$, entsprechend der geforderten Ausgangskeimzahl (DIN EN ISO 14937 2010).

Anschließend wurden die Endoskope verpackt und der Sterilisator, wie im Routinebetrieb, im STERRAD® NX® mit einem Tray und im STERRAD®100NX® mit 2 Trays beladen.

Durch die unterschiedlichen Kombinationen aus Verpackung und Gerät ergaben sich vier Versuchsreihen, bei denen, da immer beide Kanäle bestückt wurden, pro Testdurchlauf zwei Keimträger sterilisiert wurden. Diese wurden anschließend nach einer quantitativen und qualitativen Methodik ausgewertet.

Für die quantitative Auswertung wurden 20 Keimträger in 10 Durchläufen pro Sterilisator und Sterilbarrieresystem, also insgesamt 80 Keimträger, ausgewertet.

Hierfür wurden die Keimträger unter aseptischen Bedingungen dem Endoskop nach Sterilisation entnommen, die überlebenden Sporen in mehreren Verfahrensschritten vom Keimträger gelöst und anschließend mittels des Koch'schen Plattengussverfahrens bestimmt sowie der Reduktionsfaktor berechnet.

Das identische Vorgehen erfolgte anhand eines nicht sterilisierten, aber kontaminierten Kontrollkeimträgers.

Für die qualitative Auswertung wurden 100 Keimträger in 50 Durchläufen pro Sterilisator und Sterilbarrieresystem, also insgesamt 400 Keimträger, ausgewertet. Nach Sterilisation wurden diese unter aseptischen Bedingungen dem Endoskop entnommen, in CASO-Bouillon überführt und unter täglicher Sichtkontrolle für 14 Tage bei $56 \pm 1^\circ\text{C}$ bebrütet. Bei Keimwachstum wäre es zu einem weißlichen Belag am Boden der Reagenzgläser gekommen. Da dieses nicht der Fall war, konnte angenommen werden, dass kein Keimwachstum stattfand.

Die Versuche zeigten, dass es bei keinem der 480 Keimträger nach Sterilisation zu Wachstum von *G. stearothermophilus* kam. Die statistische Auswertung ergab, dass die leicht variierenden Reduktionsfaktoren der quantitativen Auswertung von 6,19 - 6,3 lediglich auf leicht schwankenden Ausgangskeimzahlen der Keimträger beruhen. Insgesamt konnte für beide Geräteversionen mit beiden Sterilbarrieresystemen eine identische Wirksamkeit unter Testbedingungen nachgewiesen werden.

Damit entsprechen sowohl das STERRAD® NX®-Verfahren und STERRAD®100NX®-Verfahren den aktuellen Anforderungen an ein Sterilisationsverfahren in Deutschland (vgl. DIN 14161, 2010), die ein Entsprechen der Herstellerangaben fordern.

Vielmehr konnte eine Wirksamkeit über die Angaben des Herstellers hinaus bezüglich der Länge bewiesen werden. Ebenfalls erstmals nachgewiesen wurde die Wirksamkeit in einem 2-Kanal-Endoskop; bisherige Herstellerangaben umfassten bisher nur 1-Kanal-Endoskope.

Auch bezüglich der Verpackungsart zeigten sich keine Unterschiede, womit das Sterisafe® DURO A3-Set als eine Alternative zum bisher verwendeten APTIMAX® INSTRUMENT TRAY darstellt.

Gleichwohl ist unbedingt die Beachtung der Herstellerangaben sowie gesetzliche Vorgaben (vgl. DIN EN ISO 17664, 2007) für die Anwendung in Praxis und Klinik unerlässlich.

7 Literatur

Adler S, Scherrer M, Daschner FD (1998) Costs of low-temperature plasma sterilization compared with other sterilization methods. *J Hosp Infect* 40: 125-134.

Alfa MJ, DeCapne P, Olsen N, Pachalski T (1996) Comparison of plasma, vaporized hydrogen peroxide, and 100 % ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer. *Infect Control Hosp Epidemiol* 17: 92-100.

Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen und medizinischen Fachgesellschaften, AWMF (2012) Hygienemaßnahmen bei der Endoskopie. In: Leitlinien zur Hygiene in Klinik und Praxis. AK „Krankenhaus- und Praxishygiene“ der AWMF online

Block SS: Peroxygen compounds. In: Block SS (Hrsg): *Desinfection, sterilization and preservation*. 4. Aufl., Lea und Febinger, Philadelphia, 1991, pp. 168 -181.

Borneff M, Ruppert J, Bach A, Mannschott P, Amreihn P, Sonntag HG (1995) Wirksamkeitsprüfung der Niedertemperatur-Plasmasterilisation anhand praxisnaher Prüfkörpermodelle. *Zentr Steril* 3: 361-371

Borneff-Lipp M, Kaetzke A, Dürr M (2008) Evaluierung von Niedertemperatur-Wasserstoffperoxid-Plasma (NTP)-Sterilisationsverfahren. *Zentr Steril* 16: 35-42

Borneff-Lipp M, Karbowski S, Schmitt B, Feldmann I, Dürr M (2011) Sterilizability of Flexible 2-Channel Laser Endoscope Technologies in a New Container System Innovation für Low-Temperature Hydrogen Gas Plasma (LTP). 51. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC): September 18-21; Chicago. IL., USA

Borneff-Lipp M, Karbowski S, Schmitt B, Feldmann I, Dürr M (2012) Reprocessing of Flexible 2-Channel Laser Endoscopes in a New Technology of Low-Temperature Hydrogen Gas Plasma. 8th International Healthcare Infection Society (HIS) Conference and Federation of Infection Societies (FIS) Annual Conference 2012, Liverpool, UK

Costin ID, Grigo J (1974) Biological indicators for the control of autoclave function: some theoretical aspects and practical experience in their development and application. Zbl Bakt Orig A 227(1-4): 483-521.

Diab-Elschahawi M, Blacky A, Bachhofner N, Koller W (2010) Challenging the Sterrad 100NX[®] sterilizer with different carrier materials and wrappings under experimental „clean“ and „dirty“ conditions. Am J Infect Contr 38: 806-810

DIN 58900 Teil 1 Sterilisation - Allgemeine Grundlagen - Begriffe. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin, 2004

DIN 58948 Teil 7 Bauliche Anforderungen und Anforderungen an die Betriebsmittel sowie den Betrieb von Ethylenoxid-Sterilisatoren. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin, 2010

DIN 58953 Sterilisation - Sterilgutversorgung - Teil 1: Begriffe. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2010

DIN EN 14180 Sterilisatoren für medizinische Zwecke - Niedertemperatur-Dampf-Formaldehyd-Sterilisatoren - Anforderungen und Prüfung. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2012

DIN EN ISO 10993-7 Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 7: Ethylenoxid-Sterilisationsrückstände Berichtigung. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin, 2011

DIN EN ISO 11135 Teil 1 Anforderungen an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin, 2007

DIN EN ISO 11138 Teil 3 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge. Teil 3: Biologische Indikatoren für Sterilisationsverfahren mit feuchter Hitze. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 2009

DIN EN ISO 11138 Teil 5: Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge. Teil 5 Biologische Indikatoren für Sterilisationsverfahren mit Niedertemperatur-Dampf-Formaldehyd. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth, Berlin, 2009

DIN EN ISO 11607 Verpackungen für in der Endverpackung zu sterilisierende Medizinprodukte - Teil 1 Anforderungen an Materialien, Sterilbarriersysteme und Verpackungssysteme. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2009

DIN EN ISO 11737-2 Sterilisation von Medizinprodukten - Mikrobiologische Verfahren - Teil 2: Prüfungen der Sterilität bei der Definition, Validierung und Aufrechterhaltung eines Sterilisationsverfahrens. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin, 2010

DIN EN ISO 14161 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge - Biologische Indikatoren - Leitfaden für die Auswahl, Verwendung und Interpretation von Ergebnissen Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2010

DIN EN ISO 14937 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge - Allgemeine Anforderungen an die Charakterisierung eines sterilisierenden Agens und an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2010

DIN EN ISO 17664 Sterilisation von Medizinprodukten - Vom Hersteller bereitzustellende Informationen für die Aufbereitung von resterilisierbaren Medizinprodukten. Deutsches Institut für Normierung e.V., Beuth, Berlin 2007

Förtsch M, Prüter J-W, Draeger J, Helm F, Sammann A, Seibt H, Ahlborn H (1993) H₂O₂-Niedertemperatur-Plasmasterilisation (NTP) – Möglichkeiten für den Einsatz augenchirurgischer Instrumente. Ophthalmologe 90: 754-764

Hagen, v.d.T: Formaldehyd-Sterilisation. In: Wismer, G., Zanette, T. (Hrsg) Von der Reinigung bis zur Bereitstellung von Medizinprodukten. Handbuch Sterilisation. 5. Aufl. mhp-Verlag; Wiesbaden, 2013, S. 291-321

Heeg P, Setz J: Praxishygiene. Probleme und Lösungen. Thieme, Stuttgart/New York, 1994, S. 33

Höller C, Martiny H, Christiansen B, Rüden H, Gundermann KO (1993) The efficacy of lowtemperature plasma (LTP) sterilization, a new sterilization technique. Zbl Hyg 194: 388-391

Hückstädt K (2005) Entwicklung und Charakterisierung von pharmazeutischen Mikroemulsionen. Math.nat. Dissertation, Universität Kiel

Jacobs PT, Smith D (1998) The New STERRAD 100 S Sterilization system: Features and Advantages. Zentr Steril 6 (2): 86-94

Kanemitsu K, Ogawa A, Hatori T, Imasaka T, Kunishima H, Inden K, Hatta M, Nakamura I, Hirayama Y, Kaku M (2005) Validation of low-temperature steam with formaldehyde sterilization for endoscopes, using validation device. GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY Volume 62, No. 6

Kohnen W, Kober PT, Fleischhack R, Achterberg D, Kaiser U, Kühne T, Scheel K, Salzbrunn R, Getreuer H, Denhöfer E, Wegner WD: Grundlagen der Sterilisation. In: Kramer A, Assadian O, Exner M, Hübner NO, Simon A (Hrsg): Krankenhaus- und Praxishygiene. 2. Aufl. 2012 Urban & Fischer, München, S. 59-92.

Koller W, Lessky E (1996) Mikrobiologische Ergebnisse und Beobachtungen mit einem H₂O₂-Plasmasterilisator (Microbiological test results and observation with an H₂O₂ plasma sterilizer). Zentr Steril 4: 79-87

Kovaleva J, Peters FT, van der Mei HC, Degener JE (2013) Transmission of infection by flexible gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. Clin Microbiol Rev 26 (2): 231-54.

KRINKO (2012) Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) Bundesgesundheitsblatt 55: 1244-1310

Kroße LS (2009) Vergleichende Untersuchungen dreier Geräteversionen eines Niedertemperatur-H₂O₂-Plasma-Sterilisationsverfahren zur Aufbereitung von Endoskopen. Med. Dissertation, Universität Halle-Wittenberg

Lee YK, Park JB (2013) Steps of reprocessing and equipments. Clin Endosc 46(3): 274-9.

Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard JY (2012) Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action. J Antimicrob Chemother 67(7): 1589-96

Machmerth RM: Definition der Sterilisation und Anforderungen an Verfahren. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung, Thieme Verlag; Stuttgart, 2008, S. 49-54

McDonnell G, Burke P. (2011) Disinfection: is it time to reconsider Spaulding? *J Hosp Infect* 78(3):163-70.

Method Validation of U.S. Environmental Protection Agency Microbiological Methods of Analysis Section 6 (2009)

Notwendige Korrektur des Flussdiagramms der DGSV 2012 im Januar 2013 http://www.dgsv-ev.de/conpresso/_data/AKQ_ZT_1_2013.pdf, gelesen 18.12.2013

Okpara J (1997) Evaluierung der Nieder-Temperatur-Plasma-Sterilisation: Vorschlag zur Methodik bei der mikrobiologischen Prüfung des Verfahrens. Med. Dissertation, Universität Heidelberg

Okpara J (1998) Voraussetzungen für die Überprüfung von Sterilisationsverfahren mit *Bacillus* Sporen. *Zentr Steril* 6: 96-112

Okpara-Hofmann J, Knoll M, Dürr M, Schmitt B, Borneff-Lipp M (2005) Comparison of low-temperature hydrogen peroxide gas plasma sterilization for endoscopes using various Sterrad models. *J Hosp Infect* 59: 280–285

Peters J, Borchers U (1995) Vergleichende Untersuchungen zur Resistenz von *Mycobacterium terrae*, *Aspergillus niger* und *Bacillus*-Sporen bei der Plasma-sterilisation. *Zentr Steril* 3: 163-172

Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures (CLP-Verordnung). VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES (2008) Stand Oktober 2013 <http://www.reach-clp-biozid-helpdesk.de/de/CLP/CLP.html> gelesen 18.12.2013

Richard Wolf GmbH Processing of Richard Wolf Instruments in STERRAD® Systems Update <http://www.richardwolfusa.com> gelesen 18.12.2013

Rosenberg U: Desinfektionsmittel und deren Anwendung. In: Wismer G, Zanette T (Hrsg): *Handbuch Sterilisation*. 5. Aufl. mhp-Verlag; Wiesbaden, 2013, S. 98-140

Ruppert J (1995) Darstellung der Leistungsgrenzen des Niedertemperatur-Plasma-sterilisationsverfahrens bei Behandlung englumiger Objekte. Med. Dissertation, Universität Heidelberg

Rutala WA, Weber DJ (2013) Disinfection and sterilization: an overview. *Am J Infect Control* 41 (5 Suppl): S 2-5.

Salzbrunn R: Ethylenoxid-Sterilisation. In: Wismer G, Zanette T (Hrsg.): Handbuch Sterilisation. 5. Aufl. mhp-Verlag; Wiesbaden, 2013, S. 322-340

Schenk R (2007) Aufbereitung von Endoskopen mit einer neuen Geräteversion des Niedertemperatur-Plasmasterilisationsverfahrens für zentrale Sterilgutversorgungsabteilungen. Med. Dissertation, Universität Halle-Wittenberg

Scherrer M, Bauer M, Zinn C: Umweltschonende Aufbereitung von Medizinprodukten. In Daschner F, Dettenkofer M, Frank U, Scherrer M (Hrsg): Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz. 3. Aufl. Springer-Verlag, Heidelberg 2006, S. 140-161

Scherrer M, Daschner F (1995): Vergleich der human- und ökotoxikologischen Wirkungen verschiedener Sterilisationsverfahren für thermolabile Materialien. Hygiene Medizin 20: 410-420

Schilling B, Wolf C, Wagner P: Verpackung. In: Wismer, G., Zanette, T. (Hrsg) Von der Reinigung bis zur Bereitstellung von Medizinprodukten. In: Wismer G, Zanette T (Hrsg.): Handbuch Sterilisation. 5. Aufl. mhp-Verlag; Wiesbaden, 2013, S. 199-230

Schulte A, Bernauer U, Madle S, Mielke H, Herbst U, Richter-Reichhelm H-B, Appel K-E, Gundert-Remy U (2006) Assessment of the Carcinogenicity of Formaldehyde [CAS No. 50-00-0]. Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Shintani H (2009) Application of Vapor Phase Hydrogen Plasma Sterilisation to Endoscope. Biocontrol Science Vol. 14: 39-45

Sonntag H-G (2009) Entwicklungstrends im Bereich der Niedertemperatur-Sterilisationsverfahren. Zentr Steril 17: 6-13

Storz W, Gabele L (2001) Martin Medizintechnik entwickelt neuen Container mit der zukunftsweisenden „MicroStop“ Sterilbarriere. Zentr Steril 9: 446-449

Technische Regeln für Gefahrstoffe, TRGS 513: Tätigkeiten an Sterilisatoren mit Ethylenoxid und Formaldehyd. Gemeinsames Ministerialblatt, baua (2011) S. 993-1018

Technische Regeln für Gefahrstoffe, TRGS 905 (2005) Verzeichnis krebs-erzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe“, BArbBl. Heft 7: S. 68-78

U.S. Environmental Protection Agency (2009) Method Validation of U.S. Environmental Protection Agency Microbiological Methods of Analysis http://www.epa.gov/fem/pdfs/final_microbiology_method_guidance_110409.pdf
gelesen 18.12.2013

Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen (Gefahrstoffverordnung – GefStoffV) (2010) http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/gefstoffv_2010/gesamt.pdf
gelesen 18.12.2013

Weber M (2009) Schonende Sterilisation sensibler Instrumente: Ein Erfahrungsbericht aus wirtschaftlicher Sicht. Zentr Steril 17: 34-39

Witte C (2006) Bewertung von Sterilisationsverfahren und Einsatzmöglichkeiten von Niedertemperatur-Verfahren im Krankenhaus. Zentr Steril 14: 216-226

Witte C: Wasserperoxid-Plasmasterilisation. In: Wismer G , Zanette T (Hrsg) Von der Reinigung bis zur Bereitstellung von Medizinprodukten. (Hrsg): Handbuch Sterilisation. 5. Aufl. mhp-Verlag; Wiesbaden, 2013, S. 263-290

8 Anhang

8.1 Keimzahlen der Kontrollen

8.1.1 STERRAD®NX® – Versuche mit Sterisafe® DURO A3

Tabelle 4: Keimzahlen für Test 1 – Test 26 qualitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrishale 1	Petrishale 2	Petrishale 3	KBE/KT
Keimträger 1	215	214	207	$2,12 \times 10^6$
Keimträger 2	222	222	223	$2,22 \times 10^6$
Keimträger 3	207	203	194	$2,01 \times 10^6$
Keimträger 4	195	190	185	$1,90 \times 10^6$
				$2,06 \times 10^6$

Tabelle 5: Keimzahlen für Test 27 – Test 31 qualitativ/ Test 1 –Test 3 quantitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrishale 1	Petrishale 2	Petrishale 3	KBE/KT
Keimträger 1	222	217	216	$2,18 \times 10^6$
Keimträger 2	227	221	218	$2,22 \times 10^6$
Keimträger 3	217	215	210	$2,14 \times 10^6$
Keimträger 4	208	208	206	$2,07 \times 10^6$
				$2,15 \times 10^6$

Tabelle 6: Keimzahlen für Test 4 – Test 6 quantitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrishale 1	Petrishale 2	Petrishale 3	KBE/KT
Keimträger 1	213	219	211	$2,14 \times 10^6$
Keimträger 2	220	216	202	$2,13 \times 10^6$
Keimträger 3	221	215	213	$2,16 \times 10^6$
Keimträger 4	222	219	213	$2,18 \times 10^6$
				$2,15 \times 10^6$

Tabelle 7: Keimzahlen für Test 32 – Test 50 qualitativ/ Test 7 –Test 10 quantitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrishale 1	Petrishale 2	Petrishale 3	KBE/KT
Keimträger 1	221	219	218	$2,19 \times 10^6$
Keimträger 2	218	217	205	$2,13 \times 10^6$
Keimträger 3	212	206	198	$2,05 \times 10^6$
Keimträger 4	219	216	201	$2,12 \times 10^6$
				$2,12 \times 10^6$

STERRAD®NX® – Versuche APTIMAX® INSTRUMENT TRAY

Tabelle 8: Keimzahlen für Test 1 – Test 15 qualitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	224	209	227	2,20 x 10 ⁶
Keimträger 2	194	210	199	2,01 x 10 ⁶
Keimträger 3	171	164	173	1,69 x 10 ⁶
Keimträger 4	204	217	191	2,04 x 10 ⁶
				2,00 x 10 ⁶

Tabelle 9: Keimzahlen für Test 16 – Test 35 qualitativ/ Test 1 –Test 4 quantitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	233	223	216	2,24 x 10 ⁶
Keimträger 2	225	221	218	2,21 x 10 ⁶
Keimträger 3	228	224	211	2,21 x 10 ⁶
Keimträger 4	216	205	198	2,06 x 10 ⁶
				2,18 x 10 ⁶

Tabelle 10: Keimzahlen für Test 36 – Test 50 qualitativ/ Test 5 –Test 8 quantitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	222	218	217	2,16 x 10 ⁶
Keimträger 2	217	204	215	2,12 x 10 ⁶
Keimträger 3	198	186	181	1,87 x 10 ⁶
Keimträger 4	214	206	213	2,11 x 10 ⁶
				2,07 x 10 ⁶

Tabelle 11: Keimzahlen Test 9 –Test 10 quantitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	226	214	206	2,15 x 10 ⁶
Keimträger 2	218	216	201	2,12 x 10 ⁶
Keimträger 3	228	224	215	2,22 x 10 ⁶
Keimträger 4	215	207	204	2,09 x 10 ⁶
				2,15 x 10 ⁶

8.1.2 STERRAD®100NX® - Versuche mit Sterisafe® DURO A3

Tabelle 12: Keimzahlen für Test 1 – Test 8 qualitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/K
Keimträger 1	177	193	181	$1,84 \times 10^6$
Keimträger 2	189	200	179	$1,89 \times 10^6$
Keimträger 3	171	189	191	$1,84 \times 10^6$
Keimträger 4	203	194	211	$2,03 \times 10^6$
				$1,90 \times 10^6$

Tabelle 13: Keimzahlen für Test 1 –Test 7 quantitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	188	165	173	$1,75 \times 10^6$
Keimträger 2	181	176	197	$1,84 \times 10^6$
Keimträger 3	183	239	199	$2,07 \times 10^6$
Keimträger 4	213	217	199	$2,09 \times 10^6$
				$1,94 \times 10^6$

Tabelle 14: Keimzahlen für Test 9 – Test 15 qualitativ/ Test 8 –Test 10 quantitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	156	147	141	$1,48 \times 10^6$
Keimträger 2	125	118	149	$1,31 \times 10^6$
Keimträger 3	165	174	179	$1,73 \times 10^6$
Keimträger 4	182	149	154	$1,62 \times 10^6$
				$1,54 \times 10^6$

Tabelle 15: Keimzahlen für Test 16 – Test 40 qualitativ

Verdünnung 10^{-4}	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	183	169	159	$1,70 \times 10^6$
Keimträger 2	131	153	142	$1,42 \times 10^6$
Keimträger 3	118	111	134	$1,21 \times 10^6$
Keimträger 4	155	147	170	$1,57 \times 10^6$
				$1,48 \times 10^6$

Tabelle 16: Keimzahlen für Test 41 – Test 50 qualitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	155	169	147	1,57 x 10 ⁶
Keimträger 2	112	97	122	1,10 x 10 ⁶
Keimträger 3	141	113	128	1,27 x 10 ⁶
Keimträger 4	96	118	100	1,05 x 10 ⁶
				1,25 x 10 ⁶

STERRAD®100NX® – Versuche APTIMAX® INSTRUMENT TRAY

Tabelle 17: Keimzahlen für Test 1 – Test 5 qualitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	188	198	202	1,96 x 10 ⁶
Keimträger 2	185	207	213	2,02 x 10 ⁶
Keimträger 3	200	217	196	2,04 x 10 ⁶
Keimträger 4	191	183	184	1,86 x 10 ⁶
				1,97 x 10 ⁶

Tabelle 18: Keimzahlen für Test 6 – Test 23 qualitativ/ Test 1 –Test 6 quantitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	177	195	166	1,79 x 10 ⁶
Keimträger 2	201	192	180	1,91 x 10 ⁶
Keimträger 3	209	203	211	2,08 x 10 ⁶
Keimträger 4	204	183	194	1,94 x 10 ⁶
				1,93 x 10 ⁶

Tabelle 19: Keimzahlen für Test 24 – Test 30 qualitativ/ Test 7 –Test 10 quantitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	158	170	173	1,67 x 10 ⁶
Keimträger 2	166	163	173	1,67 x 10 ⁶
Keimträger 3	171	169	187	1,75 x 10 ⁶
Keimträger 4	159	172	164	1,65 x 10 ⁶
				1,68 x 10 ⁶

Tabelle 20: Keimzahlen für Test 31 – Test 50 qualitativ

Verdünnung 10⁻⁴	Petrischale 1	Petrischale 2	Petrischale 3	KBE/KT
Keimträger 1	209	187	198	1,98 x 10 ⁶
Keimträger 2	214	211	223	2,16 x 10 ⁶
Keimträger 3	207	199	217	2,08 x 10 ⁶
Keimträger 4	206	181	201	1,96 x 10 ⁶
				2,05 x 10 ⁶

8.1.3 Statistik Ausgangskeimzahlen

Tabelle 21: Statistische Auswertung der Ausgangskeimzahlen

	NX -Savuna	NX- APTIMAX	100NX- Savuna	100NX- APTIMAX
Ergebnisanzahl	48	48	60	48
Mittelwert	212,417	209,708	161,950	190,771
Standardabweichung	9,269	15,460	32,864	17,492
Standardfehler	1,338	2,231	4,243	2,525
Streuung	42,0	69,0	143,0	65,0
Maximalwert	227,0	233,0	239,0	223,0
Minimalwert	185,0	164,0	96,0	158,0
Median	215,0	214,5	167,0	193,0
Schiefe	-1,088	-1,199	-0,160	-0,189
Kurtosis	0,850	1,294	-0,554	-1,030
Summe der Ergebnisse	10196,0	10066,0	9717,0	9157,0
Summe der Quadrate	2169838,0	2122158,0	1637389,0	1761269,0

8.2 Quantitative Ergebnisse

8.2.1 STERRAD®NX®

Zyklus: Advanced half

Verpackung:

- APTIMAX® INSTRUMENT TRAY
- STERRAD® INSTRUMENT TRAY MAT
- KIMGUARD KC 100

Zusatzbeladung: –

Tabelle 22: Laserkanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF= $\log N_0 - \log N$
1	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
2	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
3	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
4	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
5	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
6	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
7	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
8	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
9	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
10	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3

Tabelle 23: Biopsiekanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF= $\log N_0 - \log N$
1	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
2	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
3	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
4	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
5	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
6	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
7	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
8	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
9	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
10	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3

* 0 nicht definiert, daher 1 angenommen
 N_0 durchschnittliche Ausgangskeimzahl
 N durchschnittliche überlebende Sporen

Zyklus:	Advanced half
Verpackung:	<ul style="list-style-type: none"> • Sterisafe® DURO A3- Container • Toolsafe® Gitterunterlage
Zusatzbeladung	–

Tabelle 24: Laserkanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF=log N_0 -logN
1	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
2	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
3	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
4	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
5	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
6	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
7	$2,12 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
8	$2,12 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
9	$2,12 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
10	$2,12 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3

Tabelle 25: Biopsiekanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF=log N_0 -logN
1	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
2	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
3	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
4	$2,18 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
5	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
6	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
7	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
8	$2,07 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
9	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3
10	$2,15 \times 10^6$	6,3	1*	0	6,3

* 0 nicht definiert, daher 1 angenommen

N_0 durchschnittliche Ausgangskeimzahl

N durchschnittliche überlebende Sporen

8.2.2 STERRAD®100NX®

Zyklus: Validation Flex

Verpackung:

- APTIMAX® INSTRUMENT TRAY
- STERRAD® INSTRUMENT TRAY MAT
- KINGUARD KC 400

Zusatzbeladung: flexible Endoskop CYF-5A mit gleicher Verpackung

Tabelle 26: Laserkanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF=log N_0 -logN
1	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
2	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
3	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
4	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
5	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
6	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
7	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
8	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
9	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
10	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23

Tabelle 27: Biopsiekanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF=log N_0 -logN
1	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
2	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
3	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
4	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
5	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
6	$1,93 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
7	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
8	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
9	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23
10	$1,68 \times 10^6$	6,23	1*	0	6,23

* 0 nicht definiert, daher 1 angenommen

N_0 durchschnittliche Ausgangskeimzahl

N durchschnittliche überlebende Sporen

Zyklus: Validation Flex

Verpackung:

- Sterisafe® DURO A3- Container
- Toolsafe® Gitterunterlage

Zusatzbeladung: flexible Endoskop CYF-5A mit gleicher Verpackung

Tabelle 28: Laserkanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF= $\log N_0 - \log N$
1	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
2	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
3	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
4	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
5	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
6	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
7	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
8	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19
9	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19
10	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19

Tabelle 29: Biopsiekanal

Prüfkörper	N_0	Log N_0	N	Log N	RF= $\log N_0 - \log N$
1	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
2	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
3	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
4	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
5	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
6	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
7	$1,94 \times 10^6$	6,29	1*	0	6,29
8	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19
9	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19
10	$1,54 \times 10^6$	6,19	1*	0	6,19

* 0 nicht definiert, daher 1 angenommen

N_0 durchschnittliche Ausgangskeimzahl

N durchschnittliche überlebende Sporen

8.3 Qualitative Ergebnisse

9.2.1 STERRAD® NX®

Tabelle 30: Vergleich der beiden Sterilbarrieresysteme

Verpackung	Testanzahl	Anzahl der Proben mit Keimwachstum Laserkanal	Anzahl der Proben mit Keimwachstum Biopsiekanal
Sterisafe® DURO A3	50	0	0
APTIMAX® INSTRUMENT TRAY	50	0	0

9.2.2 STERRAD® 100NX®

Tabelle 31: Vergleich der beiden Sterilbarrieresysteme

Verpackung	Testanzahl	Anzahl der Proben mit Keimwachstum Laserkanal	Anzahl der Proben mit Keimwachstum Biopsiekanal
Sterisafe® DURO A3	50	0	0
APTIMAX® INSTRUMENT TRAY	30	0	0
	20		

9 Thesen

1. Operative Eingriffe mittels flexibler Endoskope können eine Ursache für Infektionen darstellen. Zur Vorbeugung einer derartigen Komplikation gelten in Deutschland bestimmte Standards, welche vor dem Wiederverwenden des Instruments eine Reinigung, eine Desinfektion und gegebenenfalls eine Sterilisation, falls in keimfreien Körperhöhlen eingesetzt, vorgeben.
2. Für die Sterilisation thermolabiler, flexibler Endoskope stehen verschiedene Niedertemperatur-Sterilisationsverfahren zur Verfügung, wie z.B. mit Ethylenoxid, Formaldehyd und Wasserstoffperoxid (H_2O_2). Die beiden erstgenannten Verfahren verwenden ein für Mensch und Umwelt toxisches und z.T. kanzerogenes Agens, was bestimmte bauliche Sicherheitsmaßnahmen, lange Desorptionszeiten und bestimmte Arbeitsschutzmaßnahmen erfordert. Die Niedertemperatur-Gas-Plasma (NTGP)-Sterilisationsverfahren stellen eine demgegenüber relativ unproblematische Variante dar.
3. Das NTGP-Sterilisationsverfahren bietet nicht nur eine bessere Verträglichkeit für Mensch und Umwelt, sondern ist aufgrund seiner kurzen Zyklen, dem Wegfall von Desorptionszeiten und der daraus resultierenden schnelleren, erneuten Bereitstellung des Instruments eine kostengünstige Alternative.
4. Die Wirksamkeit der NTGP-Sterilisation ist durch bestimmte, konstruktions- und materialbedingte Eigenschaften der zu sterilisierenden Medizinprodukte begrenzt, welche die Diffusion des H_2O_2 beeinträchtigen oder eine zu große mikrostrukturelle Oberfläche aufweisen.
5. In der jüngsten Vergangenheit stand das Verfahren aufgrund der nicht sicher nachweisbaren Wirksamkeit in langen, endständigen Lumen in der Kritik. In diesem Bereich konnte mit der neusten Generation des STERRAD[®]-NX[®]-Verfahrens entscheidende Fortschritte erzielt werden.

6. Es wurden die beiden neuesten NTGP-Sterilisationsgeräte, nach dem STERRAD®-NX®-Verfahren konzeptioniert, anhand hygienisch-mikrobiologischer Testverfahren überprüft. Hierbei handelte es sich zum einen um ein kleines, mobiles Gerät, beispielsweise einsetzbar in Endoskopiepraxen und ein Großgerät, das für den Einsatz in einer zentralen Sterilgutversorgungsabteilung konzipiert wurde. Beide Geräte verfügen über einen speziellen Zyklus für flexible Endoskope.
7. In den Versuchen wurde ein „worst-case“-Szenario simuliert, indem die Keimträger mit hochresistenten Sporen von *Geobacillus stearothermophilus*, an einer möglichst schwer zu erreichenden Stelle in den beiden Kanälen des Endoskops platziert wurden.
8. Die vom Hersteller angegebene Wirksamkeit bezüglich des Lumens konnte unter Testbedingungen, in den speziellen Zyklen, sogar deutlich überschritten werden.
9. Im Rahmen der Versuche kamen zwei verschiedene Sterilbarrieresysteme in Form eines Container- und Traysystems im Vergleich zum Einsatz. Beide zeigten ein identisches Sterilisationsergebnis im Bezug auf das flexible Prüfendoskop. Die Handhabung bzw. Umweltfreundlichkeit des sogenannten Containersystems fiel dabei positiv auf.
10. Bei keinem der sterilisierten Keimträger, weder in den quantitativen, noch in den qualitativen Tests, war anschließend ein Keimwachstum nachweisbar. Damit konnte gezeigt werden, dass beide Geräteversionen den Anforderungen (DIN EN ISO 14161, 2010) sowie die geprüften Sterilbarrieresysteme den Anforderungen (DIN EN ISO 11607, 2009) entsprechen.

Tabellarischer Lebenslauf

Angaben zur Person:

Name	Simon Adolf-Adalbert Karbowski
Geburtsdatum	25.10.1985
Geburtsort	Münster
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch
Konfession	römisch-katholisch

Lebenslauf:

1992 – 1995	Altstädter Grundschule Osnabrück
1995 – 1996	Grundschule Ankum
1996 – 1998	Orientierungsstufe Ankum
1998 – 2005	Gymnasium Bersenbrück
10/2005 - 07/2006	Zivildienst Laurentiushaus Osnabrück (Obdachlosenheim)
10/2006 – 11/2013	Studium der Medizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
12/2013	Approbation als Arzt

Halle, den

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt zu haben. Dabei habe ich mich keiner anderen als der von mir angegebenen Quellen und Hilfen bedient.

Halle, den

Simon Adolf-Adalbert Karbowski

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, bisher an keiner in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt zu haben.

Halle, den

Simon Adolf-Adalbert Karbowski

Danksagung

Großer Dank gilt Frau **Prof. Dr. med. Marianne Borneff-Lipp**, Direktorin des Institutes für Hygiene des Universitätsklinikums Halle (Saale), für die freundliche Überlassung des Themas dieser Arbeit. Die wertvollen Anregungen und Kritiken waren mir eine große Hilfe und der Umgang stets kollegial und freundlich. Auch für ihre zu jeder Zeit gegebene Ansprechbarkeit gilt ein besonderer Dank.

Darüber hinaus gilt mein Dank insbesondere Herrn **Dr. sc. hum. Matthias Dürr**, seinerzeit wissenschaftlicher Mitarbeiter des Institutes für Hygiene des Universitätsklinikums Halle (Saale), jetzt. Diese Arbeit wäre in der vorliegenden Form ohne ihre Betreuung nicht möglich gewesen. Für die gemeinsamen Diskussionen und wertvollen Hinweise danke ich ihnen ebenso wie für die geschätzten wissenschaftlichen und persönlichen Ratschläge.

Großer Dank gilt darüber hinaus Frau **Birgit Schmitt** und Frau **Ina Feldmann**, den technischen Mitarbeiterinnen des Labors für Krankenhaushygiene des Institutes für Hygiene des Universitätsklinikums Halle (Saale), für die freundliche Aufnahme und Unterstützung bei der Durchführung meiner Experimente in den Laboratorien.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Hygiene des Universitätsklinikums Halle (Saale) 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.