

Aus der Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Überprüfung der Aufbereitungswirksamkeit bei Endoskopen mittels Proteinnachweis

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin

der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
vorgelegt von

Charlotte Carstens
aus Mainz

Mainz, 2021

Tag der Promotion: 12.07.2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis.....	6
Tabellenverzeichnis.....	7
1. Einleitung	8
2. Literaturdiskussion.....	10
2.1. Geschichte	10
2.2. Endoskopie allgemein	11
2.3. Endoskoparten.....	12
2.4. Aufbereitung von Medizinprodukten.....	14
2.4.1. Grundlagen zur Aufbereitung von Medizinprodukten.....	14
2.4.2. Reinigung.....	15
2.4.3. Desinfektion	16
2.4.4. Sterilisation	19
2.4.5. Aufbereitung von Endoskopen.....	19
2.4.6. Besonderheiten bei der Aufbereitung von Duodenoskopen	23
2.5. Verfahren zur Überprüfung der Aufbereitungsleistung	24
2.5.1. Keimnachweis	24
2.5.2. Proteinnachweis	25
3. Material & Methoden	27
3.1. Versuchsablauf	27
3.2. OPA-Methode	28
3.2.1. Material	28
3.2.2. Methode.....	28
3.2.3. Praxisanwendung.....	31
3.3. Prüfschläuche	32
3.3.1. Material	32
3.3.2. Versuche.....	33
3.4. Probenahme	35
3.4.1. Material	35
3.4.2. Entnahmetechniken.....	35
3.4.3. Untersuchte Endoskope.....	37
3.5. Mikrobiologische Auswertung.....	39
3.5.1. Material	39
3.5.2. Methode.....	39

4.	Ergebnisse.....	41
4.1.	Keimnachweis.....	41
4.2.	Proteinnachweis (OPA-Methode).....	42
4.3.	Korrelation Verschmutzungsgrad und Kontaminationsgrad.....	46
4.4.	Prüfschläuche	47
5.	Diskussion	48
5.1.	Methoden	49
5.1.1.	OPA-Methode.....	49
5.1.2.	Probenahme	50
5.2.	Ergebnisse	51
5.2.1.	Prüfschläuche.....	51
5.2.2.	Proteinnachweis	52
5.2.3.	Korrelation Verschmutzungsgrad und Kontaminationsgrad	53
5.2.4.	Duodenoskope	54
6.	Zusammenfassung.....	55
	Literaturverzeichnis	57
	Danksagung.....	63
	Lebenslauf	63

Abkürzungsverzeichnis

A

Absorption

AKI

Arbeitskreis Instrumentenaufbereitung

BfArM

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte

DAkkS

Deutsche Akkreditierungsstelle

DGKH

Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene

DGSV

Deutsche Gesellschaft für Sterilgutversorgung

E

Extinktion

ERCP

endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie

ESGE

European Society of Gastroenterology and Endoscopy

FDA

US Food and Drug Administration

IfSG

Infektionsschutzgesetz

KNS

Koagulase negativer Staphylokokkus

KRINKO

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention

MPBetreibV

Medizinprodukte-Betreiberverordnung

MPG

Medizinproduktegesetz

PTFE

Polytetraafluoroethylen

RDG-E

Reinigungs-Desinfektionsgerät für Endoskope

RKI

Robert Koch-Institut

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Koloskopaufbau HD+ Videokoloskop RetroView EC 3490Ti der Firma Pentax.....	13
Abbildung 2 Duodenoskopaufbau DEC™ Video Duodenoscope ED34 i10T2 der Firma Pentax	13
Abbildung 3 schematischer Ablauf Endoskopaufbereitung.....	20
Abbildung 4 RDG-E (ETD3 von Olympus)	22
Abbildung 5 OPA Eichkurve.....	30
Abbildung 6 Schema Prüfschlauch-Versuche	33
Abbildung 7 Probenahme Duodenoskop	37
Abbildung 8 Koagulase-negativer Staphylococcus	
Abbildung 9 aerober Sporenbildner	42
Abbildung 10 Probenauswertung Proteinkonzentration nach Geräten	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Wirkspektrum verschiedener Desinfektionsmittel	18
Tabelle 2 Verwendete Materialien OPA-Methode.....	28
Tabelle 3 BSA Verdünnungsreihe.....	29
Tabelle 4 OPA Reagenz.....	30
Tabelle 5 Verwendete Materialien Prüfschlauch-Versuche	32
Tabelle 6 Verwendete Materialien Probenahme	35
Tabelle 7 Koloskope	37
Tabelle 8 Duodenoskope	38
Tabelle 9 Gastroskope	38
Tabelle 10 Verwendete Materialien Mikrobiologische Auswertung	39
Tabelle 11 Endoskope mit positivem Keimnachweis	41
Tabelle 12 Probenauswertung Proteinkonzentration Teil 1	44
Tabelle 13 Probenauswertung Proteinkonzentration Teil 2	45
Tabelle 14 1. Versuch Prüfschläuche	47
Tabelle 15 2. Versuch Prüfschläuche	47

1. Einleitung

Viele Patienten fürchten aktuell eine Ansteckung mit resistenten Keimen durch Aufenthalte in Krankenhäusern. Eine solche Infektionsquelle können auch endoskopische Untersuchungen darstellen. Dies zeigte sich unter anderem an einer kalifornischen Klinik, an der Untersuchungen mit zwei kontaminierten Duodenoskopen zu mehreren Fällen von Infektionen mit Carbapenem-resistenten Enterobacteriaceae führten. Daraufhin wurde eine Studie in sechs US-Bundesstaaten durchgeführt, bei der sich ergab, dass auch Koloskope und Gastroskope eine ernstzunehmende Infektionsquelle darstellen können. (1), (2)

In Deutschland wurde, um die Sicherheit und den Schutz der Patienten vor Infektionskrankheiten zu gewährleisten, 1994 das Medizinproduktegesetz (MPG) verabschiedet (3). Nach § 37 Absatz 5 des MPG ist das Bundesministerium für Gesundheit ermächtigt, Rechtsverordnungen zu erlassen, die unter anderem „Anforderungen an die sichere Aufbereitung von bestimmungsgemäß keimarm oder steril zur Anwendung kommenden Medizinprodukten“ festlegen. Auf dieser Grundlage wurde die Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV) erlassen (4). § 8, Absatz 2 dieser Verordnung besagt: „Eine ordnungsgemäße Aufbereitung nach Absatz 1 Satz 1 wird vermutet, wenn die gemeinsame Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte zu den Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten beachtet wird [...]“

Von besonderem Stellenwert bei der Aufbereitung von Medizinprodukten sind demnach vor allem die Empfehlungen des RKI. Ähnliche Leitlinien wurden jedoch auch von anderen Arbeitskreisen und Fachgesellschaften verabschiedet, zum Beispiel durch den Arbeitskreis Instrumenten-Aufbereitung (AKI), der Deutschen Gesellschaft für Sterilgutversorgung (DGSV) oder der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH).

Generell gibt es also genügend Richtlinien, wie die Aufbereitung von Medizinprodukten und speziell von Endoskopen erfolgen sollte. Auch zur Überprüfung der Reinigungsleistung maschineller Reinigungs- und

thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte gibt es eine Leitlinie von DGKH, DGSV und AKI (5). In dieser ist auch die Messung von Proteinrückständen mittels der OPA-Methode beschrieben, die jedoch bisher in der Praxis kaum Anwendung findet. Die Leitlinie gilt jedoch nicht spezifisch für flexible Endoskope. Die Fälle in den USA haben aber gezeigt, dass besonders flexible Endoskope anfällig für infektiöse Kontaminationen sind. Dies liegt zum einen daran, dass flexible Endoskope beweglich sind und einen langen Hohlraum besitzen, durch den Instrumente eingeführt werden können, wodurch sie anfällig für Abnutzungserscheinungen sind. Zum anderen begünstigt die Oberflächenbeschichtung eine eventuelle Biofilmbildung, was die Reinigung erschwert.

Zur Routinekontrolle der Keimbelastung der Endoskope nach Aufbereitung in den Reinigungs-Desinfektions-Geräten für Endoskope (RDG-Es) werden durch die Hygiene-Abteilung der Universitätsmedizin Mainz regelmäßig mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt. Für die Überprüfung der Reinigungsleistung sind allerdings Proteinrückstände ein besser geeigneter Parameter. Es ergab sich daher die Frage, ob man die OPA-Methode zur Messung von Proteinresten soweit modifizieren kann, dass sie auch in Routineuntersuchungen eingesetzt werden könnte. Dadurch ließe sich auch die Reinigungsleistung älterer Geräte besser einschätzen, die von den Herstellern keine Garantie mehr erhalten, in vielen Krankenhäusern jedoch noch im Einsatz sind.

Im Rahmen einer Studie sollte daher eine anwendungsorientierte Methode zur Beurteilung der Restverschmutzung und Überprüfung der Reinigungsleistung etabliert werden. Die Ergebnisse dieser neuen Methode sollten dann mit den Ergebnissen der routinemäßig üblichen mikrobiologischen Testmethode verglichen werden. Durch einen Kurzzeit-Laborversuch war anhand von Prüfschläuchen außerdem zu zeigen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Alter bzw. der Abnutzung von Endoskopen und deren Kontaminierung nach der Aufbereitung besteht. Im Rahmen dieses Versuchs sollte auch getestet werden, ob der Kontaminierungsgrad vom jeweiligen Reinigungsmittel abhängig ist.

2. Literaturdiskussion

2.1. Geschichte

Das Bewusstsein für die Bedeutung der Hygiene in der Medizin entwickelte sich etwa ab dem 19. Jahrhundert. So erkannte Ignaz Semmelweis 1847 den Zusammenhang zwischen mangelnder Hygiene, insbesondere mangelnder Händedesinfektion, und erhöhter Sterblichkeit bei Müttern nach der Entbindung. Sir Joseph Lister nutzte in den 1850er Jahren erstmals Karbol zur Gerätedesinfektion. Neuzeitliche Hygienemaßnahmen wurden jedoch erst durch die Arbeiten von Robert Koch über die Erreger von Wundinfektionskrankheiten ermöglicht. Von besonderer Bedeutung sind dabei sein 1878 veröffentlichtes Werk „Über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten“, sowie seine 1882 veröffentlichten Erkenntnisse über die Übertragung von Tuberkulose (6), (7).

Die Entwicklung von Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) und Sterilisatoren wurde durch Louis Pasteur ermöglicht, der 1866 in seinem Werk „Études sur le vin“ beschrieb, wie Mikroorganismen durch Erhitzen abgetötet werden können (8).

Den ersten Lehrstuhl für Hygiene in Deutschland erhielt 1865 Max von Pettenkofer in München und 1883 folgte die Aufnahme der Hygiene als Prüfungsfach in das medizinische Staatsexamen.

Im darauffolgenden Jahrhundert nahm das Bewusstsein für Hygiene immer weiter zu, wodurch sie auch einen immer größeren Stellenwert in der Medizin einnahm. Als zentrales Ziel der Krankenhaushygiene wird heute die Verhinderung von sogenannten nosokomialen Infektionen (Krankenhausinfektionen) angesehen. Besonders wichtig sind daher genaue Leitlinien in allen Bereichen der Krankenhaushygiene, wie zum Beispiel bei der Gerätedesinfektion, und deren genaue Umsetzung und Kontrolle.

Durch all diese Maßnahmen konnte das Entstehen von nosokomialen Infektionen im letzten Jahrhundert bedeutend gesenkt werden, durch neue Behandlungsmöglichkeiten ergeben sich jedoch immer wieder neue Gefahrenquellen für Infektionen, weshalb das Thema wohl niemals an Aktualität verlieren wird.

2.2. Endoskopie allgemein

Endoskopische Untersuchungen werden in verschiedensten Fachbereichen der Medizin durchgeführt. In dieser Arbeit werden zwar hauptsächlich die bei gastroenterologischen Untersuchungen eingesetzten Endoskope betrachtet, weitere Endoskoparten werden aber auch im HNO-Bereich, in der Chirurgie bei laparoskopischen Operationen oder im Rahmen der Orthopädie für Arthroscopien eingesetzt.

Allen endoskopischen Untersuchungen ist gemein, dass dabei ein Endoskop in eine künstlich geschaffene oder natürlich vorhandene Körperöffnung geschoben wird, wodurch eine Spiegelung bzw. eine Ansicht der inneren Organe ohne chirurgischen Eingriff ermöglicht wird. Da die meisten Endoskope über einen Arbeits- bzw. Instrumentierkanal verfügen, durch den sich Instrumente einführen lassen, sind auch kleinere Eingriffe - wie Biopsien - oder Spülungen - wie eine Bronchiallavage - im Rahmen einer endoskopischen Untersuchung möglich. Endoskopien dienen meistens einer genauen Diagnosestellung oder zur Verlaufskontrolle bei bereits bekannten Erkrankungen wie z.B. Magengeschwüren. Derartige Untersuchungen sind oft Routineeingriffe, sie bergen jedoch auch Risiken. So können nach einer solchen Untersuchung neben Blutungen durch die Gewebereizung auch Infektionen auftreten.

Die Endoskopie wurde ursprünglich für die humanmedizinische Diagnostik entwickelt. Heutzutage wird sie immer häufiger auch in Bereichen eingesetzt, die früher überwiegend den chirurgischen Disziplinen vorbehalten waren (9). Insbesondere bei der Erkennung und Entfernung von Tumoren und Tumorstadien nehmen minimal-invasive operative Eingriffe mittels Endoskopie inzwischen einen hohen Stellenwert ein. Das Infektionsrisiko ist dabei gegenüber einer operativen Resektion zwar vermindert, aber dennoch vorhanden. Um dieses Risiko zu senken, ist die abschließende gründliche hygienische Aufbereitung der Endoskope von herausragender Bedeutung.

2.3. Endoskoparten

Alle Endoskope verfügen über eine Beleuchtungseinrichtung, eine Kamera, Spül- und Absaugvorrichtungen und einen Instrumentierkanal. Grundsätzlich lassen sich Endoskope in starre und flexible Endoskope unterteilen (10).

Starre Endoskope sind feste, dünne Metallrohre mit einem Stablinsensystem aus Quarzglas. Sie kommen heutzutage hauptsächlich in der Chirurgie bei Laparaskopien und Arthroskopien, in der Gynäkologie als Hysteroskope oder in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde als Otoskope, Sinuskope oder Laryngoskope zum Einsatz.

Im Gegensatz dazu bestehen flexible Endoskope aus einem Schlauch mit Fiberglasoptik und einer Videokamera sowie zumeist einer fernsteuerbaren Gerätespitze (siehe Abwinkelungsteil, Abbildung 1). Flexible Endoskope werden in vielen medizinischen Bereichen eingesetzt, neben den vielfältigen Einsatzbereichen in der Inneren Medizin zum Beispiel in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde oder Urologie.

Eine weitere Untergruppe sind Kapselendoskope, die in der Gastroenterologie verwendet werden. Sie bestehen aus einer Kapsel, in die eine Kamera eingebaut ist. Diese Kapsel kann geschluckt und die Bilder über eine drahtlose Verbindung zu einem vom Patienten außen getragenen Gerät bereitgestellt werden.

Diese Studie befasst sich mit den flexiblen Endoskopen, die im Rahmen gastroenterologischer Untersuchungen verwendet werden, genauer mit Koloskopen, Gastroskopen und Duodenoskopen. Koloskope und Gastroskope sind dabei vom Grundaufbau gleich, allerdings sind Gastroskope zumeist dünner und kürzer als Koloskope. Sie kommen bei Gastroskopen und Koloskopien zum Einsatz. Duodenoskope, die bei ERCP-Untersuchungen eingesetzt werden, unterscheiden sich von Koloskopen durch einen separaten Hebel am distalen Ende, den sogenannten Albarran-Hebel (siehe Abbildung 2). Dieser dient der präziseren Handhabung von Instrumenten oder Führungsdrähten.



Abbildung 1 Koloskopaufbau HD+ Videokoloskop RetroView EC 3490Ti der Firma Pentax (11)



Abbildung 2 Duodenoskopaufbau DEC™ Video Duodenoscope ED34 i10T2 der Firma Pentax (12)

2.4. Aufbereitung von Medizinprodukten

2.4.1. Grundlagen zur Aufbereitung von Medizinprodukten

Gesetzliche Grundlage für die Aufbereitung von Medizinprodukten liefern, wie in der Einleitung bereits erwähnt, das MPG und die Medizinproduktebetreiberverordnung (MPBetreibV). Dabei ist die Aufbereitung von bestimmungsgemäß keimarm oder steril zur Anwendung kommenden Medizinprodukten nach § 3 Abs. 14 MPG definiert als „die nach deren Inbetriebnahme zum Zwecke der erneuten Anwendung durchgeführte Reinigung, Desinfektion und Sterilisation einschließlich der damit zusammenhängenden Arbeitsschritte sowie die Prüfung und Wiederherstellung der technisch-funktionellen Sicherheit“ (3). In der Praxis basiert die Aufbereitung hauptsächlich auf den Richtlinien des RKI, auf die auch die MPBetreibV im ersten Absatz verweist (4). Für besondere medizinische Instrumente, insbesondere Endoskope, gibt es darüber hinaus noch eigene Leitlinien, die ebenfalls von der KRINKO und dem RKI veröffentlicht wurden (13).

Bei der Aufbereitung wird zwischen manueller und maschineller Aufbereitung unterschieden, wobei beide Arten in der Praxis erlaubt sind. Auch in der aktuellen Veröffentlichung des RKI zu den „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“ werden beide Techniken der Aufbereitung beschrieben (14). Dabei ist jedoch zu beachten, dass Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit laut RKI bei der maschinellen Aufbereitung besser seien und auch der Arbeitsschutz dabei besser umzusetzen sei.

Die Empfehlung sowie das MPG schreiben vor, dass der Hersteller Angaben zur Aufbereitung des Medizinproduktes zur Verfügung stellen muss und die Aufbereitung auch diesen Angaben zu folgen hat. Abweichungen sind zu begründen und zu dokumentieren.

In der Richtlinie legt das RKI auch fest, in welche Risikokategorie die einzelnen Instrumente vor der Aufbereitung einzustufen sind. Sie werden dabei in 3 Risikokategorien eingeteilt, die sich besonders aus der Art der Anwendung und dem daraus folgenden Infektionsrisiko bei nicht sachgemäßer Aufbereitung ergeben. Dabei sind unkritische Medizinprodukte jene, die nur mit intakter Haut in Berührung kommen. Semikritische Medizinprodukte kommen in der Anwendung

mit Schleimhaut oder krankhaft veränderter Haut in Berührung und kritische mit Blut, Blutkonserven oder anderen sterilen Arzneimitteln oder Medizinprodukten. Zu den 3 Risikokategorien gibt es jeweils noch Unterkategorien. So fallen Endoskope in die Kategorie der semikritischen Medizinprodukte, jedoch mit erhöhten Anforderungen an die Aufbereitung. Dies bedeutet auch, dass Endoskope bevorzugt maschinell aufbereitet werden sollten.

In der Praxis wird die manuelle Aufbereitung von Endoskopen hauptsächlich im ambulanten Bereich durchgeführt. Auch die maschinelle Aufbereitung muss jedoch mittels geeigneter Prüfmethode auf ihre Reinigungsleistung überprüft werden, insbesondere um die Leistung unterschiedlicher Maschinen und älterer Geräte vergleichen und bewerten zu können.

2.4.2. Reinigung

Das RKI definiert die Reinigung als „einen Prozess zur Entfernung von Verunreinigungen (z.B. Staub, chemische Substanzen, Mikroorganismen, organische Substanzen) unter Verwendung von Wasser mit reinigungsverstärkenden Zusätzen (z.B. Detergenzien oder enzymatische Produkte)“ (15).

Die Reinigung ist bei jeder Aufbereitung der erste Schritt. Dadurch kann die Keimzahl bereits auf bis zu 1/1000 der ursprünglichen Konzentration reduziert werden, was 3 $\log_{10}$ -Stufen entspricht (16). Die Studie von Alfa et al. bestätigte die Erreichbarkeit dieses Werts für die Reinigung von Endoskopen (17).

Ziel der Maßnahmen ist eine rückstandsfreie Reinigung, da die nachfolgenden Aufbereitungsschritte (Desinfektion und evtl. Sterilisation) von Blut-, Sekret- oder Geweberückständen beeinträchtigt werden können (14). So ist insbesondere darauf zu achten, dass bei der Reinigung passende Reinigungsmittel verwendet werden, die keine proteinfixierenden Eigenschaften besitzen.

Es gibt dabei physikalische und chemische Reinigungsverfahren. Unter physikalischen Verfahren versteht man dabei z.B. die Reinigung mittels Ultraschall. Die einzelnen Verfahren können auch kombiniert werden, müssen jedoch unbedingt aufeinander abgestimmt sein. Das heißt, dass beispielsweise auch bei

der Vorreinigung fixierende Verfahren vermieden werden sollen, wie z.B. die Verwendung von Aldehyden vor der Reinigung.

Bei der Wahl eines geeigneten Reinigungsmittels sind verschiedene Punkte zu beachten, da die einzelnen Mittel je nach pH-Wert und verschiedenen Zusammensetzungen unterschiedliche Wirkungen entfalten. Prinzipiell können enzymatische oder enzymfreie Reinigungsmittel sowie neutrale oder alkalische Tensid-Reiniger verwendet werden. Die alkalische Reinigung zeichnet sich durch eine hohe Wirksamkeit bei der Lösung von Proteinrückständen und ggf. sogar eine antimikrobielle Wirksamkeit aus, sie kann jedoch unter Umständen zu nachteiligen Materialveränderungen führen. Sie hat bei höherer Temperatur eine stärkere Reinigungswirkung. Enzymatische Reiniger enthalten meist mehrere Enzyme, die unterschiedliche organische Verbindungen spalten und dadurch wasserlöslich machen. Sie sind nur für die Anwendung bei niedrigeren Temperaturen (<60°C) einsetzbar, da die enthaltenen Enzyme bei höheren Temperaturen denaturieren und ihre Funktion verlieren. Viele Reinigungsmittel sind daher Kombinationspräparate aus einer Aldehyd- und einer enzymatischen Komponente. Dabei werden die beiden Reinigungswirkungen kombiniert und sie können auch bei Temperaturen von 55-60°C eingesetzt werden, sind jedoch nicht lang haltbar (18).

Ein geeignetes Reinigungsverfahren kann auch zu einer erheblichen Abreicherung von Prionprotein führen, was besonders im Hinblick auf die Vermeidung der Verbreitung pathologischen Prionproteins zu beachten ist.

2.4.3. Desinfektion

Nach der Reinigung folgt im Aufbereitungsprozess als nächster Schritt die Desinfektion. Durch die Desinfektion sollen in erster Linie alle pathogenen Keime entfernt werden. Daher wurde in einer fachlichen Übereinkunft festgelegt, dass die Keimzahl durch die Desinfektion um mindestens 5 log₁₀-Stufen reduziert werden muss, sodass davon keine Erregerübertragung mehr ausgehen kann (19).

Das RKI schreibt vor, dass die für die Desinfektion verwendeten Verfahren „nachweislich bakterizid, fungizid und viruzid sein [müssen]“ (14). Wegen der zuverlässigeren Wirksamkeit ist dabei den thermischen Verfahren in RDGs der

Vorrang gegenüber rein chemischen Verfahren zu geben. Für manuelle Desinfektionsverfahren empfiehlt das RKI die in der „VAH-Liste“ beschriebenen Mittel (20). Für maschinelle Verfahren gibt es entsprechende Fachgutachten, die die Wirksamkeit der einzelnen Desinfektionsmittel in einem RDG belegen. Desweiteren verweist das RKI für behördliche Maßnahmen und detailliertere Angaben zu weiteren Desinfektionsverfahren auf die „Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren“ (21) (22).

Bei der Auswahl des Desinfektionsmittels stehen viele Präparate zur Verfügung. Das RKI empfiehlt bei ausschließlicher Desinfektion ohne anschließende Sterilisation (wie bei der Aufbereitung von Endoskopen üblich) Desinfektionsmittel auf Basis von Glutaraldehyd oder Peressigsäure. Im Falle einer anschließenden Sterilisation sind weitere Wirkstoffe verwendbar. Die wichtigsten Wirkstoffe sollen im Folgenden näher vorgestellt werden.

Aldehyde besitzen sehr gute antimikrobielle Eigenschaften. Sie sind bakterizid, fungizid und viruzid. Ihr breites Wirkungsspektrum begründet sich in der Störung der Proteinsynthese von Mikroorganismen (20). Sie sind relativ kostengünstig, gut materialverträglich, schnell wirksam und in zahlreichen Studien erprobt (23). Nachteilig bei Aldehyden ist jedoch ihre langsamere Wirksamkeit gegenüber Mykobakterien und bakterielle Sporen und ihr hohes allergenes Potential (24). Derzeit werden Mittel auf Basis von Glutaraldehyd und Formaldehyd als Desinfektionsmittel eingesetzt. Aldehyde haben proteinfixierende Eigenschaften, weswegen besonders bei ihrer Verwendung als Desinfektionsmittel die vorhergehende gründliche Reinigung entscheidend ist für eine erfolgreiche Desinfektion.

Oxidationsmittel wie Peressigsäure oder Wasserstoffperoxid sind bakterizid, fungizid und viruzid. Peressigsäure hat daneben auch eine sporozide Wirkung, wirkt besonders schnell auch gegen Clostridium difficile-Sporen und es konnte keine Toleranzentwicklung bei Mikroorganismen beobachtet werden (24). Oxidationsmittel wirken durch Zellwandschädigung und Oxidationsvorgänge. Beide Mittel fixieren weder Blut noch Gewebe und sind leicht zu entsorgen. Peressigsäure besitzt jedoch stark proteinfixierende Eigenschaften, weswegen sich Mittel auf dieser Basis nur für die Desinfektion eignen und nicht für den Schritt der Reinigung (25). Wie bei Aldehyden muss deshalb auch bei Oxidationsmitteln auf eine

gründliche vorhergehende Reinigung geachtet werden. Im Gegensatz zu Aldehyden können Oxidationsmittel bestimmte Metalle korrodieren und besonders bei Peressigsäure besteht die Gefahr der Verpuffung (26).

Quartäre Ammoniumverbindungen (QAV) sind kationische Tenside, die sowohl in Fett als auch Wasser löslich sind und daher Fette in Wasser binden können (27). Sie wirken bakterizid und fungizid, indem sie die Zellwände schädigen und Proteine denaturieren, jedoch sind sie schlecht wirksam gegenüber Viren (23). Da sie keine proteinfixierenden Eigenschaften besitzen, sind sie sowohl als Desinfektions- als auch als Reinigungsmittel einsetzbar. Sie sind zudem vielseitig einsetzbar, da sie kaum materialschädigend wirken. Es ist allerdings zu beachten, dass bei unzureichender Nachspülung bzw. missbräuchlicher Anwendung Rückstände von QAV in die Umwelt gelangen können (28). Zu quartären Ammoniumverbindungen gehören Benzalkoniumchlorid oder Cetylalkoniumchlorid (23) (16).

Alkohole wirken durch eine Proteinkoagulation bakterizid, fungizid und viruzid, jedoch nur gegen behüllte Viren (20). Zur Desinfektion eingesetzt werden beispielsweise Ethanol, iso-Propanol oder Phenoxypropanol. Letzteres eignet sich gut zur Kombination mit anderen Substanzen, z.B. mit quartären Ammoniumverbindungen (29).

Desinfektionsmittel	bakterizid	fungizid	viruzid	sporozid
Aldehyde	✓	✓	✓	✓
Oxidationsmittel	✓	✓	✓	✓
Quartäre Ammoniumverbindungen	✓	✓	(✓)	(✓)
Alkohole	✓	✓	✓behüllt ✗unbehüllt	✗

Tabelle 1 Wirkspektrum verschiedener Desinfektionsmittel (30)

2.4.4. Sterilisation

Die Sterilisation erfolgt (bei als kritisch eingestuften Instrumenten) als letzter Schritt der Aufbereitung nach Reinigung, Desinfektion und Trocknung (14). Als „steril“ gilt ein Instrument nach Definition durch die DIN EN 556-1 dann, wenn die Wahrscheinlichkeit, dass ein einziger Mikroorganismus auf dem Instrument vorhanden ist, kleiner oder gleich 10^{-6} beträgt (31), (16). Ziel der Sterilisation ist eine Reduktion der Keimzahl auf dem Instrument um 10^6 . Dieser Wert wird als Sterility Assurance Level (SAL) bezeichnet. Im Gegensatz zur reinen Desinfektion werden durch die Sterilisation alle Keime, nicht nur die pathogenen, entfernt.

Laut RKI und MPBetreibV muss „zur Sterilisation ein hinsichtlich seiner Eignung für das Medizinprodukt geprüft, wirksames und validiertes Verfahren angewendet werden“ (14), (4). Dazu stehen verschiedene Verfahren zur Auswahl, darunter thermische wie die Dampf- und Heißluftsterilisation, Plasmasterilisation mittels H_2O_2 und Gassterilisation mittels Ethylenoxid oder Formaldehyd (32).

Aufgrund der Thermolabilität von Endoskopen ist eine Dampf- bzw. Heißluftsterilisation bei diesen Geräten nicht durchführbar. Eine Gassterilisation wäre zwar möglich, ist derzeit jedoch für semikritische Instrumente wie Endoskope nicht vorgesehen. Besonders in den USA wird jedoch nach den jüngsten durch Endoskope übertragenen Infektionen über eine möglicherweise nötige Änderung der Vorschriften diskutiert (33), (34).

2.4.5. Aufbereitung von Endoskopen

Flexible Endoskope werden vom RKI als semikritische Instrumente eingestuft und gehören zusätzlich wegen ihrer konstruktiven Besonderheiten wie den langen, engen Lumina zu Medizinprodukten mit erhöhten Anforderungen an die Aufbereitung (14).

Grundsätzlich stellen Patienten mit florider Infektionskrankheit, Erregerausscheider oder Träger von Infektionserregern eine potenzielle Infektionsquelle bei endoskopischen Untersuchungen für nachfolgend untersuchte Patienten dar (35). Oft ist der Trägerstatus eines Patienten jedoch unbekannt, weshalb jeder Patient als potenzielle Infektionsquelle angesehen werden muss. Bei unzureichender Aufbereitung, Verwendung von nicht geeigneten oder inkompatiblen Reinigungs-

und Desinfektionsmitteln, mangelhafte Bürstenreinigung oder Rekontamination durch Fehler bei Aufbewahrung und Transport des Endoskops kann es zu mikrobiologischen Kontaminationen und in der Folge zu Infektionsübertragungen bei den nachfolgenden Untersuchungen kommen (13).

Neben mikrobiologischen Kontaminationen besteht bei endoskopischen Eingriffen eventuell auch ein Risiko einer Übertragung prionenassoziierter Erkrankungen (TSE). Wegen der geringen Prävalenz dieser Erkrankungen ist das genaue Risiko dabei jedoch noch nicht genau abschätzbar. Auch zu diesem Thema hat das RKI nach dem zeitlichen Zusammenhang der BSE-Epidemie in Großbritannien mit dem Auftreten der vCJK Empfehlungen veröffentlicht (36). All diese Infektionen durch endoskopische Untersuchungen sind jedoch prinzipiell vermeidbar, weshalb für die Aufbereitung von flexiblen Endoskopen eine eigene Leitlinie entwickelt wurde (13). Auch für die räumlichen Bedingungen, in denen die Aufbereitung stattfindet, stellt das RKI bestimmte Anforderungen, die von der KRINKO in der Empfehlung „Anforderungen der Hygiene an die baulich-funktionelle Gestaltung und apparative Ausstattung von Endoskopieeinheiten“ beschrieben werden (37).



Abbildung 3 schematischer Ablauf Endoskopieaufbereitung

Wie in Abbildung 3 schematisch dargestellt, besteht die Aufbereitung von Endoskopen aus sechs Schritten, basierend auf den Empfehlungen des RKI (13), (14).

Im Folgenden wird die maschinelle Aufbereitung beschrieben. Eine manuelle Aufbereitung ist zwar auch zulässig, die maschinelle ist jedoch standardisierbar und wird besonders bei gastroenterologischen Endoskopen weltweit fast ausschließlich durchgeführt.

Zunächst erfolgt eine Vorreinigung direkt im Anschluss an die Untersuchung. Diese besteht aus einem Abwischen des Außenmantels und einem ersten Durchspülen der Kanäle. Als Nächstes erfolgt im Aufbereitungsraum eine Bürstenreinigung der Endoskopkanäle. Dabei ist auf eine passende Bürstengröße für das jeweilige Endoskop zu achten. Die RKI-Empfehlung sieht eine mehrfache Bürstenreinigung vor, auf Empfehlung der Hygiene-Abteilung wird in der Universitätsmedizin Mainz ein 10-faches Bürsten durchgeführt (38). Die weiteren Schritte bestehen aus einer Reinigung, Zwischenspülung und thermischer Desinfektion. Diese Schritte erfolgen, wie auch die Schlusspülung, maschinell im RDG-E. Dabei werden für die Reinigung überwiegend Tenside, enzymatische Reiniger, alkalische Reiniger, oder eine Kombination dieser Wirkstoffe verwendet. Für die Desinfektion werden weltweit fast ausschließlich Mittel auf Basis von Glutaraldehyd oder Peressigsäure verwendet (genauere Beschreibung der Wirkstoffe siehe 2.4.3). Reinigung und Desinfektion finden bei unterschiedlichen Temperaturen statt, da die Wirkstoffe bei unterschiedlichen Temperaturen wirksam sind. Die Temperaturregelung wird vom RDG-E automatisch durchgeführt. Wie bereits erwähnt, ist eine Sterilisation bei Endoskopen nicht üblich, da einerseits wegen der Thermolabilität der Schläuche nur eine Gassterilisation möglich ist, jedoch keine Dampf-, oder Heißluftsterilisation. Andererseits wird das Endoskop selbst nicht in ein keimfreies Körperareal eingeführt, was ein Kriterium für die Sterilität eines Instrumentes ist. Daher folgt auf die Desinfektion direkt abschließend die Trocknung mithilfe von Druckluft. Während der Aufbereitung ist auch der Arbeitsschutz des Personals sowohl gegenüber potentiell infektiösem Material, als auch gegenüber eventuell schädlichen Chemikalien zu beachten (39).

All diese Schritte müssen von den Mitarbeitern mit besonderer Sorgfalt durchgeführt werden, Probleme entstehen meist, wenn die manuelle Vorreinigung unzureichend ist (40) oder das Endoskop nicht richtig mit den Anschlüssen im RDG-E verbunden wird (Abbildung 4 zeigt ein solches RDG-E mit Anschlüssen).

Wenn das Endoskop im Anschluss gelagert werden soll, ist besonders darauf zu achten, dass die Kanäle vollständig trocken sind, da es sonst zur Rekontamination kommen kann. Zur Lagerung wird allgemein empfohlen, Endoskope hängend in einem speziellen Endoskopschrank arbeitsplatznah aufzubewahren (13), (39). Für die zulässige Dauer der Lagerung gibt es keine genauen Empfehlungen, Studien zeigen bisher lediglich, dass nach 5-7 Tagen bei einigen Endoskopen apathogene Hautkeime nachgewiesen wurden (41), (42).



Abbildung 4 RDG-E (ETD3 von Olympus)

2.4.6. Besonderheiten bei der Aufbereitung von Duodenoskopen

Wie unter 0 bereits beschrieben, unterscheiden sich Duodenoskope von anderen flexiblen Endoskopen durch einen Hebel am distalen Ende. Durch diese Bauweise sind sie schwerer aufzubereiten als andere Endoskope und stellen daher eine höhere Gefahr für Infektionen dar. Dies zeigen diverse Ausbrüche von Infektionen mit multiresistenten Keimen nach ERCP-Untersuchungen sowohl in den USA (43), (44) und Frankreich (45), als auch in Deutschland (46). Dabei wurden nur in einem Fall Mängel bei der Aufbereitung festgestellt, es wurden jedoch kleinste Verschleißdefekte am Distalende der Endoskope gefunden, die als eventuelle Eintrittspforte für Bakterien dienen. Der Albarran-Hebel stellt besondere Anforderungen an die Aufbereitung, insbesondere ist so die Bürstenreinigung erschwert. Offenbar können Mikroläsionen bereits als Eintrittspforte für Krankheitserreger dienen. Dabei besteht eine Infektionsgefahr vornehmlich durch Bakterien, die einen Biofilm bilden (47). Diese Mikroläsionen entgingen den Routinekontrollverfahren in Form von Dichtigkeitstests. Da Duodenoskope unterschiedlicher Hersteller teilweise unterschiedliche Bauweisen haben (z.B. durchspülbarer oder fixierter Albarran-Hebel), ist bei der Aufbereitung eine genaue Kenntnis der Bauweise und der Aufbereitungshinweise durch den Hersteller erforderlich (48). Nach den beschriebenen Ausbrüchen haben sowohl FDA (49) als auch das BfArM (50) Sicherheitshinweise veröffentlicht, die die Bedeutung einer sorgfältigen und sachgemäßen Aufbereitung hervorheben. In den USA wird außerdem diskutiert, ob Duodenoskope in Zukunft zusätzlich zur Desinfektion sterilisiert werden sollen (51). Dies ist derzeit aufgrund der Temperaturempfindlichkeit der Materialien jedoch kaum möglich.

2.5. Verfahren zur Überprüfung der Aufbereitungsleistung

Besonders wichtig in der Infektionsprävention ist auch die hygienische Beurteilung der Aufbereitung durch regelmäßige Kontrollen. Europäische und deutsche Leitlinien empfehlen bislang alle 3 Monate eine mikrobiologische Untersuchung aller Endoskopklassen (42), (43). Wie bei der Aufbereitung ist auch bei der Probenahme zur Überprüfung der Aufbereitungsleistung die genaue Kenntnis des Endoskopaufbaus, insbesondere bei Duodenoskopen, erforderlich.

2.5.1. Keimnachweis

Die Überprüfung der Reinigungsleistung von RDG-E's erfolgt derzeit nach der „Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope“ der DGKH (52) auf Basis der 2006 veröffentlichten DIN EN ISO 15883.

Bereits 1980 wurde vom Bundesgesundheitsamt eine Richtlinie erstellt, in der die mikrobiologische Überprüfung mithilfe von Bioindikatoren beschrieben wird (53). Mit diesem Verfahren lässt sich eine optische Kontrolle der Reinigungsleistung und eine mikrobiologische Kontrolle der Desinfektionsleistung durchführen. Darauf verweist auch das Robert Koch-Institut in einer Mitteilung von 2006 zur „Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren“ (54). Diese mikrobiologische Prüfung ist auch nach Einführung der DIN EN ISO 15883 als Überprüfung der Desinfektion gültig, da die neue Norm sich vor allem auf die Überprüfung der Reinigungsleistung bezieht.

In den oben genannten Richtlinien werden zur Kontrolle der Reinigungsleistung Prüfkörper aus Teflonschläuchen mit einer Anschmutzung aus defibriniertem Hammelblut und *Enterococcus faecium* verwendet. Ein weiterer wichtiger Punkt in der Beurteilung der Aufbereitungsleistung ist die Überprüfung der Reinigungsleistung bei realen Instrumenten, also die Bestimmung der Sauberkeit von aufbereiteten Endoskopen. Derzeit erfolgt diese Bestimmung nach der Leitlinie der DGKH zur „Hygienisch-mikrobiologische Überprüfung von flexiblen Endoskopen nach ihrer Aufbereitung“. In dieser wird gefordert, dass „jedes verwendete Endoskop [...] mindestens einmal pro Jahr hygienisch-mikrobiologisch untersucht werden [soll]“ (55). Diese Untersuchungen werden auch in der

routinemäßigen Hygieneüberprüfung der Endoskope in der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Dabei werden Abstrich- und Flüssigkeitsproben (Durchspülung des Arbeitskanals mit NaCl) auf verschiedene Nährböden ausgestrichen, bebrütet und auf Keimwachstum überprüft. Im Rahmen dieser Studie wurde diese Methode ebenfalls für Abstrichproben angewandt (genauere Beschreibung siehe 3.4); auf die Durchspülproben des Arbeitskanals wurde jedoch zugunsten einer Proteinbestimmung verzichtet.

2.5.2. Proteinnachweis

In den routinemäßigen Hygieneüberprüfungen werden die Endoskope wie beschrieben nur mikrobiologisch auf einen Keimnachweis untersucht, nicht jedoch chemisch auf einen Proteinnachweis, obwohl Proteinreste einen sehr genauen Reinigungsparameter darstellen und die DIN EN ISO 15883 einen solchen Nachweis als Standardverfahren zur Überprüfung der Reinigungsleistung vorsieht. In der Anlage dieser Norm wird dazu auf die Biuret- und die OPA-Methode verwiesen (56).

Die Biuret-Methode ist eine semiquantitative Methode, die durch eine Farbreaktion in der Lösung die ungefähre Menge des Restproteingehalts bestimmt. Eine genaue Angabe, speziell in Bereichen niedriger Proteinkonzentrationen, ist dabei nur schwer festzustellen, da es insbesondere bei geringen Farbunterschieden oft zu Fehlbewertungen kommt (57). Der Vorteil dieser Methode liegt in der einfachen Handhabung, weshalb sie sich gut für Routinedurchführungen eignet.

Mit der quantitativen modifizierten OPA-Methode lässt sich im Gegensatz zur Biuret-Methode der Restproteingehalt genau bestimmen. Nach der Studie von McCormick et al. ist diese Methode für Studien zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Medizinprodukten geeignet und auch die DGKH beschreibt sie in ihrer Leitlinie „Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope“ (58), (59).

Die OPA-Methode stammt ursprünglich aus der milchverarbeitenden Industrie. Sie erfasst die α - und ϵ -terminalen Aminogruppen der Proteine, die sich in Gegenwart einer Thiolkomponente mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA) zu einem stabilen, bei 340nm mit einem Photometer detektierbaren fluoreszierenden Endprodukt

zusammensetzen. Nach der Aufbereitung wird bei dieser Methode die Restverschmutzung mit einer 1%igen SDS-Lösung eluiert, mit den OPA-Reagenzien versetzt und anschließend mit einem Photometer die Extinktion gemessen. Mithilfe einer vorher erstellten Eichkurve oder dem Lambert-Beerschen Gesetz lässt sich daraus dann die Proteinkonzentration errechnen (60):

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \leftrightarrow c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$$

$E = \text{Extinktion}$, $\varepsilon = \text{molarer Extinktionskoeffizient} \left[\frac{L}{\text{mmol} \cdot \text{cm}} \right]$, $c = \text{Proteinkonzentration der Lösung} \left[\frac{\text{mmol}}{L} \right]$, $d = \text{Schichtdicke der Küvette [cm]} \text{ (zumeist 1cm)}$

Wichtig bei der Durchführung ist die Kenntnis chemischer Einflüsse und der photometrischen Messmethode. Die OPA-Methode sollte im Rahmen dieser Studie so vereinfacht werden, dass sie in Zukunft auch in der Routineuntersuchung etabliert werden kann. Dazu wurde sie in Zusammenarbeit mit einer Chemikerin¹ verändert und standardisiert, insbesondere die Erstellung der Eichkurve wurde dazu verändert (siehe 0).

Die Methode wurde bisher überwiegend zur Überprüfung der Reinigungsleistung der RDG-E's mithilfe von Prüfkörpern verwendet, wie von Köhnlein et al. beschrieben (61). Für den Restproteingehalt auf realen Instrumenten hat das RKI jedoch auch bereits einen Warnbereich festgelegt. Dieser liegt für Instrumente mit Hohlkörper (wie Endoskope) bei 75-150 µg Protein pro Instrument (für Instrumente mit einem Innendurchmesser >4mm bei 100-200 µg) (5). Für einzelne Arbeitselemente liegt der Warnbereich bei 50-100 µg Protein pro Element. Bei Überschreiten dieser Grenzwerte ist der Aufbereitungsprozess sofort abubrechen und erneut zu überprüfen.

¹ Ich danke Frau Dr.rer.nat. E. Gollner-Schleer.

3. Material & Methoden

Die Laborversuche wurden in einem Labor der Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Die Probenahme an Endoskopen erfolgte dann in der Abteilung Endoskopie der I. Medizinischen Klinik der Universitätsmedizin Mainz.

3.1. Versuchsablauf

Im Labor wurde zunächst, um die OPA-Methode anwenden zu können, eine Regressionsgerade erstellt. Dies erfolgte auf der Grundlage der „Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope“ (59) der DGKH. Jedoch wurde diese Methode, wie bereits in 2.5.2 erwähnt, mithilfe einer Chemikerin modifiziert. Mithilfe dieser Eichgeraden kann bei realen Endoskopen oder Prüfschläuchen der Restproteingehalt nach der Aufbereitung bestimmt werden.

Vor der Probenahme an realen Instrumenten wurden Versuche an Prüfschläuchen durchgeführt. Dabei sollte getestet werden, ob unterschiedliche Reiniger einen Einfluss auf die Proteinbelastung haben, also ob bestimmte Reiniger erfolgreicher Verschmutzungen aus den Schläuchen lösen. Des weiteren wurde untersucht, ob eine höhere Abnutzung der Schläuche, wie sie bei älteren Endoskopen durch die häufige Aufbereitung evtl. vorkommt, einen Einfluss auf die Reinigbarkeit der Prüfschläuche hat.

Anschließend an diese Vorversuche im Labor konnten dann Proben von realen Endoskopen nach der Aufbereitung genommen werden. Dabei wurden sowohl Proben für die Proteinuntersuchung genommen, als auch für mikrobiologische Untersuchungen. Die Proteinproben konnten dann im Labor mit der OPA-Methode ausgewertet werden, die mikrobiologischen Proben wurden wie auch in den routinemäßig durchgeführten Hygienetests nach den Vorgaben der DGKH ausgestrichen, bebrütet und ausgewertet (55).

3.2. OPA-Methode

Zielsetzung bei der Weiterentwicklung der OPA-Methode war eine Modifikation der Methode, um eine Einbindung in routinemäßige Hygiene-Untersuchungen in der Endoskopie zu ermöglichen und um die Reinigungsleistung der RDG-E's nicht nur wie bisher mit Prüfkörpern, sondern auch an realen Endoskopen überprüfen zu können. Das Prüflabor der Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention der Universitätsmedizin Mainz ist durch die DAkkS bereits akkreditiert, die modifizierte OPA-Methode zur Testung an Reinigungsindikatoren und Prüfkörpern anzuwenden (62).

3.2.1. Material

Produkt/Gerät	Hersteller/Vertrieb
Bovines Serum Albumin (BSA), Fraktion V, Reinheit $\geq 98\%$, T844.2	Carl Roth GmbH + Co.KG
SDS (Dodecylsulfate-Na-salt) 20760.01	SERVA Electrophoresis GmbH
Glaskolben (10ml, 50ml), Plastik Reagenzgläser (15ml), Einmalküvetten	Laborbedarf
Methanol, 1.06009	Merck KGaA
Di-Natriumtetraborat, 4403.1	Carl Roth GmbH + Co.KG
2-(Dimethylamino)- ethanethiolhydrochlorid, D141003	Sigma-Aldrich Co.
o-Phthaldialdehyd, 1.11452	Merck KGaA
Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer	Thermo Fisher Scientific

Tabelle 2 Verwendete Materialien OPA-Methode

3.2.2. Methode

Um eine Proteinuntersuchung mittels der OPA-Methode durchzuführen, musste zunächst eine Eichkurve aus bekannten Proteinkonzentrationen erstellt werden. Die Kurve sollte einen Bereich von 10-100 $\mu\text{g/ml}$ umfassen. Dazu wurde eine Stammlösung aus 100 mg BSA in 100ml 1%-SDS-Lösung hergestellt. Aus dieser Stammlösung wurden bestimmte Konzentrationen (gemäß Tabelle 3) entnommen und in 10 ml Glaskolben die entsprechenden Verdünnungen durch Zugabe von 1% SDS-Lösung hergestellt. Um das Pipettieren zu vereinfachen, wurden die Lösungen in 15 ml Plastik-Reagenzgläser umgefüllt.

Als Nächstes wurde aus den in Tabelle 4 genannten Materialien das OPA-Reagenz hergestellt und jeweils 500 µl davon in 11 Küvetten pipettiert. In eine dieser Küvetten wurde 500 µl 1%SDS-Lösung zugegeben; diese diente als Leerwert. In die weiteren 10 Küvetten wurden jeweils 500 µl der BSA-Verdünnungen in aufsteigender Konzentration zugegeben. Diese Ansätze wurden dreimal hergestellt und mittels Photometer die jeweiligen Extinktionen (E) ermittelt. Aus den drei Ergebnissen für jede Konzentration wurde der Mittelwert berechnet und diese Mittelwerte gegen die bekannten Konzentrationen in einer Regressionsgeraden aufgetragen. Die Auswertung erfolgte mittels der Excel-Anwendung „Auswertung der Kalibrationsgeraden nach DIN 32645“ Version 2004 (siehe Abbildung 5).

In der Leitlinie „Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope“ (59) wird vor der Geradenerstellung die Eigenextinktion der reinen BSA-Lösung in der jeweiligen Verdünnung gemessen, diese lag jedoch immer im Bereich 0,001-0,007 A, sodass im weiteren Verlauf dieser Arbeit auf die Messung der Eigenextinktion verzichtet wurde.

Mithilfe der Geradengleichung ($y=mx+b$) oder des Lambert -Beerschen Gesetzes (siehe 2.5.2) kann anhand der so erstellten Eichkurve der Proteingehalt unbekannter Proben berechnet werden.

Verdünnung	BSA-Stamm- lösung in	1%SDS- Lösung in ml	Konzentration in µg/ml
1	0,1	9,9	10
2	0,2	9,8	20
3	0,3	9,7	30
4	0,4	9,6	40
5	0,5	9,5	50
6	0,6	9,4	60
7	0,7	9,3	70
8	0,8	9,2	80
9	0,9	9,1	90
10	1	9	100

Tabelle 3 BSA Verdünnungsreihe

OPA-Reagenz, 2-fach-konz.	
A	
Menge	Reagenz
45 ml	H ₂ O (neue Anlage 510)
auf 40°C erwärmen (über Nacht im 50°C Brutschrank)	
2,01 g	Dinatriumtetraborat
lösen	
B	
Menge	Reagenz
2 ml	Methanol
80 mg	o-Phthaldialdehyd
200 mg	2-(Dimethylamino)ethanethiolhydrochlorid
lösen	
Lösung B zu Lösung A geben	
2,5 ml	20% SDS Lösung
Gesamt: 50 ml tägl. frisch ansetzen	

Tabelle 4 OPA Reagenz

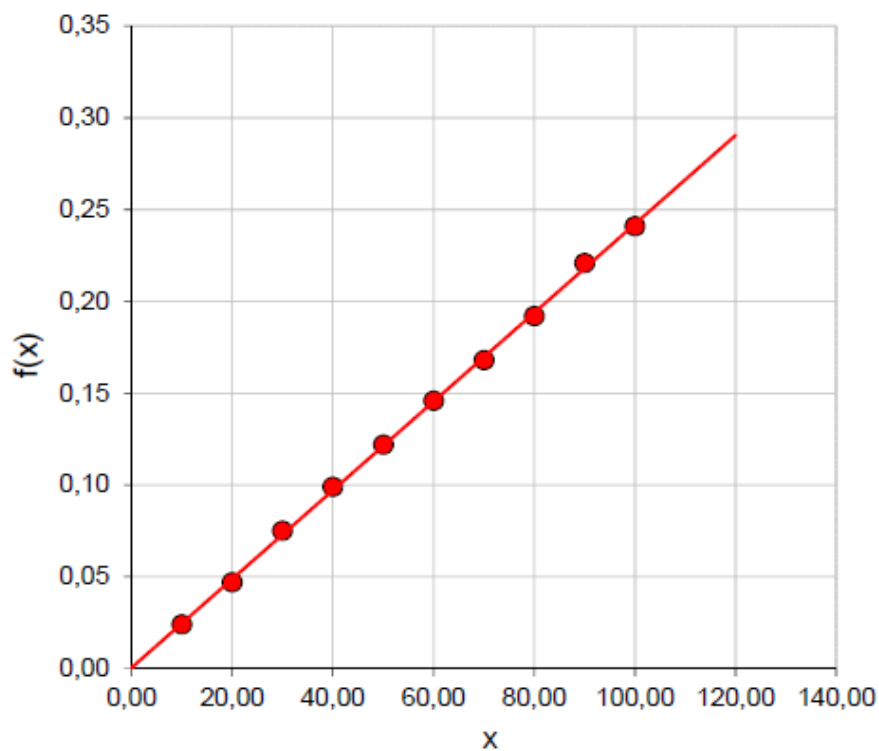


Abbildung 5 OPA Eichkurve

3.2.3. Praxisanwendung

In der Praxis müssen Proben, die mit der OPA-Methode auf Proteine getestet werden sollen, immer mittels 1% SDS-Lösung entnommen werden. Die SDS-Lösung dient dabei als Elutionsmittel, um möglichst alle Proteinrückstände in dem zu untersuchenden Gerät bzw. an dem zu untersuchenden Geräteteil zu lösen.

Dazu wird die Lösung in das Gerät eingefüllt, bei Endoskopen beispielsweise indem mit einer sterilen 20 ml- Einmalspritze 5 ml der SDS-Lösung in den Instrumentierkanal injiziert werden. Diese Lösung muss mindestens 30 Minuten einwirken und wird danach wieder aufgefangen. Das so gesammelte Eluat muss dann innerhalb von 72 Stunden analysiert werden. Dazu werden wie bei der Erstellung der Eichkurve 500 µl des Eluats zu 500 µl OPA-Reagenz in eine Küvette gegeben und die Extinktion mittels Photometer bestimmt.

Bei der Durchführung dieser Untersuchungen stellte sich heraus, dass bei den Proben die Eigenextinktion immer im Bereich von unter 0,010 A lag, weshalb im Verlauf, wie auch bei der Erstellung der Eichgeraden, auf deren Bestimmung verzichtet wurde.

Wie bereits erwähnt, lässt sich mit der gemessenen Extinktion dann anhand der Eichkurve ablesen oder mithilfe der Geradengleichung ($y=mx+b$) bzw. des Lambert-Beerschen Gesetzes genau berechnen, wie hoch der Proteinwert in der jeweiligen Probe in µg/ml ist. Da standardmäßig wie in der DGKH-Vorgabe angegeben (59) 5 ml SDS-Lösung zur Elution verwendet werden, kann man den errechneten Wert dann mit 5 multiplizieren und erhält den Proteinwert in µg pro Gerät bzw. bei Arbeitselementen wie dem Albarran-Hebel pro untersuchtem Geräteteil.

3.3. Prüfschläuche

Durch Versuche an mit Hammelblut behandelten Prüfkörpern aus PTFE-Schläuchen sollte der Einfluss verschiedener Reinigungsmittel und mechanischer Vorbelastung auf die Reinigung dieser Prüfschläuche getestet werden.

3.3.1. Material

Produkt/Gerät	Hersteller/Vertrieb
PTFE-Schläuche (Länge 2m, Ø2mm)	Bohlender GmbH
Stahlwolle, Silikonadapter, sterile Einwegspritzen (20ml, 50ml)	Laborbedarf
GIGASEPT® PAA Concentrate	SCHÜLKE & MAYR GmbH
thermosept® EndoCleaner	SCHÜLKE & MAYR GmbH
perform® classic alcohol IPA	SCHÜLKE & MAYR GmbH
Hammelblut, heparinisiert mit 10 I.E./ml, steril mit Protaminsulfat	ACILA Dr. Weidner GmbH
Einweg Endoskop-Reinigungsbürsten, DCB-DV-50	Cook® Medical
SDS (Dodecylsulfate-Na-salt), 20760.01	SERVA Electrophoresis GmbH

Tabelle 5 Verwendete Materialien Prüfschlauch-Versuche

3.3.2. Versuche

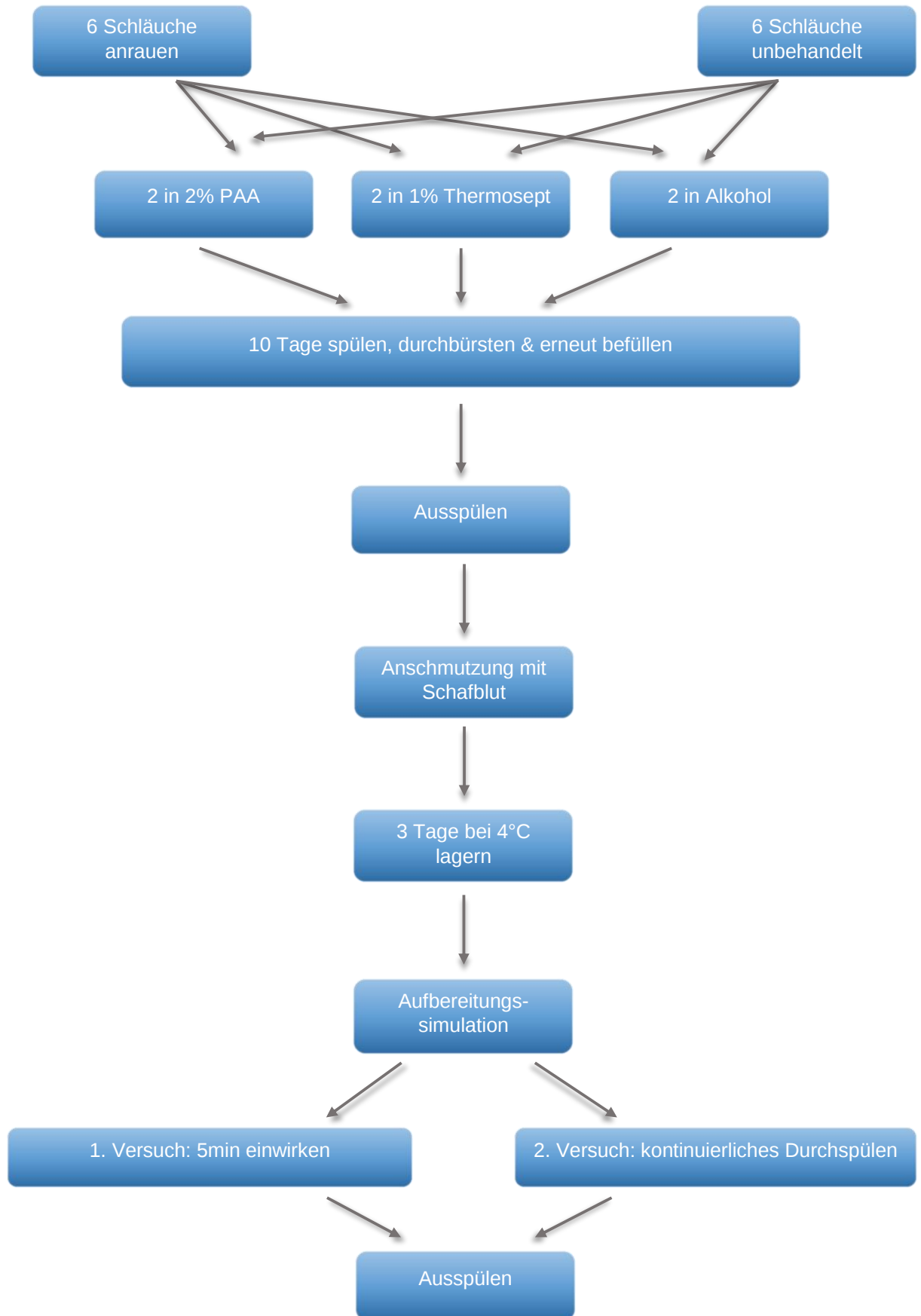


Abbildung 6 Schema Prüfschlauch-Versuche

Sechs Schläuche wurden mithilfe von Stahlwolle angeraut, wobei die Stahlwolle jeweils viermal an einem Draht durch den Schlauch gezogen wurde. Weitere sechs Schläuche blieben unbehandelt. Je 2 angeraute und 2 unbehandelte Schläuche wurden dann in 2% PAA-Lösung, 1% Thermosept-Lösung und Alkohol eingelegt, bzw. mit dem jeweiligen Mittel durchspült, die Flüssigkeit im Schlauch behalten und der Schlauch mit einem Silikonadapter verschlossen.

Die so vorbehandelten Schläuche wurden dann 10 Tage lang an jedem zweiten Tag mit destilliertem Wasser gespült, 10mal durchgebürstet und erneut mit dem jeweiligen Reinigungsmittel befüllt. Nach 10 Tagen wurden sie erneut mit destilliertem Wasser vollständig ausgespült und es wurde gemäß der Methode zur Herstellung der Prüfanschmutzung der Leitlinie (59) eine Anschmutzung mit reaktiviertem Hammelblut hergestellt.

Nach drei Tagen, in denen die Prüfkörper bei 4°C gelagert wurden, erfolgte dann die Simulation der Aufbereitung, zunächst durch Ausspülen mit destilliertem Wasser, bis die Schläuche visuell sauber waren. Darauf folgten ein erneutes Durchbürsten und Nachspülen mit destilliertem Wasser. Durch Injizieren von 2x50 ml Luft mit einer 50 ml Spritze wurde die Flüssigkeit entleert.

Mit einer 20 ml Spritze konnte dann der jeweilige Reiniger eingefüllt werden, wobei der Schlauch komplett gefüllt werden sollte, wozu ca. 6 ml des Reinigungsmittels benötigt wurden. Das Mittel sollte beim ersten Versuch 5 Minuten lang einwirken; bei der zweiten Messung wurde nach 2,5 Minuten der jeweilige Reiniger erneut eingefüllt, um ein kontinuierliches Durchspülen, wie es in den RDG-Es erfolgt, zu simulieren. Nach insgesamt 5 Minuten wurde die Flüssigkeit aus dem Schlauch wiederum durch Injektion von 2x50 ml Luft entfernt, der Schlauch 15 Sekunden lang mit destilliertem Wasser durchgespült und nochmals mit 2x50 ml Luft entleert.

Im Anschluss konnte die Proteinmessung erfolgen. Dazu wurden die Schläuche mit 5 ml 1%SDS-Lösung durchspült, die Flüssigkeit in einem Becherglas aufgefangen, erneut in den Prüfkörper eingefüllt und der Schlauch mit einem Silikonadapter verschlossen. Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten, wurde die Lösung durch Injektion von 3x20 ml Luft ausgespült und in einem Becherglas aufgefangen. Der Proteingehalt in der Lösung wurde dann mit der OPA-Methode bestimmt.

3.4. Probenahme

Ziel bei der Probenahme war eine Überprüfung der Reinigungsleistung der RDG-Es an realen Endoskopen nach deren vollständiger Aufbereitung, sowie die Erstellung und Vereinfachung eines Probeentnahmeverfahrens für die Proteintestung mittels OPA-Methode, mit dem insbesondere auch der Albarran-Hebel an Duodenoskopen beprobt werden kann.

3.4.1. Material

Produkt/Gerät	Hersteller/Vertrieb
eSwab™ Copan Liquid Amies Elution Swab, 490CE.A	COPAN Diagnostics Inc.
sterile Einwegspritzen (20ml), sterile Einmal-Gefäße (100ml), Probenbeutel, sterile Tubes (15ml), sterile Abdecktücher	Laborbedarf
SDS(Dodecylsulfate-Na-salt), 20760.01	SERVA Electrophoresis GmbH
Labor-Homogenisationsbeutel Stomacher® Jumbo Bag	Seward Limited

Tabelle 6 Verwendete Materialien Probenahme

3.4.2. Entnahmetechniken

Grundsätzlich ist vor jeder Probenahme eine hygienische Händedesinfektion durchzuführen. Zur Probenahme sind zudem Einmal-Handschuhe und ein frischer, ungetragener Kittel, oder entsprechende Einmal-Kleidung zu tragen. Das zu untersuchende Endoskop wird für die Probenahme auf ein steriles Abdecktuch gelegt.

Zur mikrobiologischen Untersuchung wurden zunächst Abstrichproben mit Tupfern (eSwab™) vom distalen Ende, dem Außenmantel des Abwinkelungsteils, dem Eingang des Instrumentierkanals (siehe Abbildung 1) und bei Duodenoskopen vom Albarran-Hebel (siehe Abbildung 2) genommen. Die Tupfer wurden anschließend in das Transportröhrchen gegeben, verschlossen und beschriftet. In der hygienischen Routineuntersuchung wird nach den Abstrichproben zusätzlich eine Durchspülprobe des Instrumentierkanals mit NaCl genommen; für diese Arbeit

wurde darauf aber zugunsten der Proteinuntersuchung verzichtet. Die Abstrichproben wurden dann im Anschluss (innerhalb von ca. einer Stunde) auf verschiedenen Nährböden ausgestrichen und bebrütet.

Zur chemischen Proteinuntersuchung wurde im Anschluss an die Abstrichproben 5ml 1%SDS-Lösung mit einer 20ml Spritze in den Instrumentierkanal injiziert, wobei besonders darauf zu achten war, das Endoskop so zu halten, dass die Flüssigkeit nur in den Instrumentierkanal fließt. Nach 30min Einwirkzeit wurde das Endoskop vollständig entleert, evtl. mit Hilfe einer zweiten Person, und die Flüssigkeit in einem sterilen 100ml Gefäß aufgefangen. Das Gefäß wurde verschlossen, beschriftet und der Proteingehalt in der Lösung innerhalb von 72 Stunden mittels OPA-Methode bestimmt.

Bei Duodenoskopen erfolgte zusätzlich noch eine Untersuchung des Albarran-Hebels auf eventuelle Proteinrückstände. Eine Beprobung mit den eSwab™-Tupfern erwies sich hierbei als zu ungenau, da die Tupfer einen hohen Eigenproteinwert haben und das Transportmedium die Ergebnisse verfälschte. Getestet wurde deshalb eine Beprobung mit DNA-freien Tupfern, oder mit sterilen Tüten (Stomacher Bags), in die direkt SDS eingefüllt wurde. Bei den DNA-freien Tupfern gab es zwar kein Problem mit dem Eigenwert, jedoch konnten damit nur unzureichend Proteinreste vom Albarran-Hebel aufgenommen werden und es ergaben sich falsch niedrige Werte. Daher erfolgte im weiteren Verlauf die Beprobung des Albarran-Hebels, indem das distale Ende mit dem Albarran-Hebel in eine mit 5ml 1%SDS-Lösung gefüllte sterile Tüte für 30 min eingetaucht wurde (siehe Abbildung 7). Dabei war darauf zu achten, dass der Albarran-Hebel die ganze Zeit vollständig von der Flüssigkeit umspült wurde. Nach 30 Minuten wurde das Endoskop aus der Tüte entnommen und die Tüte sicher verschlossen. Im Labor wurde dann die Flüssigkeit mit sterilen Pipetten in ein steriles 100ml Gefäß überführt und innerhalb von 72 Stunden mittels OPA-Methode analysiert.



Abbildung 7 Probenahme Duodenoskop

3.4.3. Untersuchte Endoskope

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 24 Proben von 11 verschiedenen Koloskopen, 20 Proben von 11 verschiedenen Gastroskopen und 12 Proben von 6 Duodenoskopen genommen. Es wurden nur Endoskope der Firmen Pentax und Fuji untersucht. Die genauen Seriennummern finden sich in den nachfolgenden Tabellen.

Koloskope

Seriennummer	Herstellerfirma	Anzahl Proben
1C731K051/EC-760ZP-V/L	Fuji	1
A110261/EC34-i10F	Pentax	1
H110061/EC-3490TMi	Pentax	8
A110898/EC-3890Fi2	Pentax	2
A110752/EC-32i10F2	Pentax	1
A110506/EC-38i10F2	Pentax	1
A111044/EC38-i10L	Pentax	1
H110034/EC-3890FZi	Pentax	1
A110750/EC38-i10F2	Pentax	3
A110108/EC34i10F	Pentax	2
A110108/EC34-i10M	Pentax	3

Tabelle 7 Koloskope

Duodenoskope

Seriennummer	Herstellerfirma	Anzahl Proben
A120395/ED-3480TK	Pentax	2
H110644/ED34-i10T	Pentax	1
A110651/ED-34i10T	Pentax	3
2D127K021/ED-580XT	Fuji	3
2D127K020/ED-580XT	Fuji	1
A110644/ED34-i10T	Pentax	2

Tabelle 8 Duodenoskope

Gastroskope

Seriennummer	Herstellerfirma	Anzahl Proben
A111119/EG27-i10	Pentax	3
A110222/EG27-i10	Pentax	4
H110105/EG-2990Zi	Pentax	3
1G4021C349/EG-760R	Fuji	1
A110645/EG27-i10	Pentax	2
A120565/EG-2990K	Pentax	1
A120024/EG-2470K	Pentax	1
SN-1G375K269/EG-530CT	Fuji	2
H110112/EG-29907i	Pentax	1
A113380/EG29-i10	Pentax	1
A113379/EG29-i10	Pentax	1

Tabelle 9 Gastroskope

3.5. Mikrobiologische Auswertung

Durch die mikrobiologische Untersuchung und Auswertung sollten eventuell vorhandene Keime an unterschiedlichen Stellen des Endoskops nachgewiesen werden. Wie unter dem Punkt Probenahme beschrieben, wurden dazu die entnommenen Proben innerhalb von 1 Stunde ausgestrichen, in einen Brutschrank gelegt und nach 24 bzw. 48 Stunden ausgewertet.

3.5.1. Material

Produkt/Gerät	Hersteller/Vertrieb
Columbia-Blut-Agar Platten, PB5039A	Thermo Fisher Scientific
BHI-Bouillon, TV5090E	Thermo Fisher Scientific
Cetrimid-Agar Platten, PO5076A	Thermo Fisher Scientific
Mac Conkey-Agar Platten, PO5002A	Thermo Fisher Scientific
Slanetz & Bartley-Agar Platten, PO5018A	Thermo Fisher Scientific
sterile Glasspatel, Einmal-Ösen, Eppendorf-Pipetten mit sterilen Einwegspitzen	Laborbedarf
Kühlschrank	Liebherr
Brutschrank 36°C ± 1°C	Binder GmbH
BD BBL™ Crystal™ Gram-Positive ID System	Thermo Fisher Scientific
Reagenzglasschüttler	IKA®-Werke GmbH & CO. KG

Tabelle 10 Verwendete Materialien Mikrobiologische Auswertung

3.5.2. Methode

Grundlage des Verfahrens sind die Vorgaben der DGKH (55) und der KRINKO/BfArM (13). Jeder der Tupfer mit den Abstrichproben wurde zunächst auf je einer halben Columbia-Blut-Agar-Platte ausgestrichen. Dazu wurde der Tupfer am Rand auf dem Agar ausgerollt und das Material mittels einer sterilen Einmal-Öse im fraktionierten 3-Ösen-Ausstrich auf der Platte verteilt.

Anschließend wurde jeder Tupfer in je ein Röhrchen mit BHI-Bouillon überführt und mit Hilfe eines Reagenzglasschüttlers extrahiert. Die Nährmedien wurden dann über Nacht bei 36°C ± 1°C in einem Brutschrank bebrütet. Die Auswertung erfolgte nach 22 ± 2 Stunden und nach 44 ± 4 Stunden.

Bei Wachstum auf der Columbia-Blut-Agar-Platte erfolgte eine Differenzierung auf Selektivnährmedien. Ebenso bei einer Trübung der BHI-Bouillon. Dazu wurde mit einer Pipette ein wenig Flüssigkeit aus der BHI-Bouillon entnommen, auf den einzelnen Selektivnährböden aufgetragen und mit Hilfe eines Spatels verteilt. Die Selektivnährböden wurden dann erneut nach 22 ± 2 bzw. 44 ± 4 Stunden abgelesen. Verdächtige Kulturen wurden dann mit einem biochemischen Differenzierungssystem (BD BBL™ Crystal™) identifiziert. Die Wertangabe erfolgte als positiv oder negativ, eine Zählung der Kolonien war nicht nötig.

4. Ergebnisse

4.1. Keimnachweis

Im Direktausstrich der entnommenen Proben auf Columbia-Blut-Agar konnte in keinem Fall ein Keimwachstum nachgewiesen werden. Lediglich nach 24h Anreicherung in einer BHI-Bouillon war bei 14 Proben ein Koagulase-negativer Staphylokokkus (KNS) (Abbildung 8), bei einer Probe ein aerober sporenbildender Keim (Abbildung 8) und bei der Probe 5a am Außenmantel des Abwinkelungsteils des Koloskops mit der Seriennummer H110061/EC-3490TMi ein Corynebakterium genitalium nachweisbar. Der Nachweis von KNS und Sporenbildnern ist dabei als nicht pathogene Kontamination zu betrachten, da die Endoskope von den Mitarbeitern der Endoskopie ohne Handschuhe verwendet und transportiert werden und derartige Keime Teil der natürlichen Hautflora sind. Die Ursache für den einmaligen Nachweis des Corynebakteriums bedarf weiterer Abklärung.

Endoskopnummer	Ort des pos. Keimnachweises	Keim
1C731K051/EC-760ZP-V/L	Außenmantel	KNS
H110061/EC-3490TMi	Außenmantel	Corynebakterium genitalium
H110061/EC-3490TMi	Eingang Biopsiekanal	KNS
H110061/EC-3490TMi	Eingang Biopsiekanal	KNS
H110644/ED34-i10T	Eingang Biopsiekanal	KNS
H110061/EC-3490TMi	Außenmantel	KNS
A111044/EC38-i10L	Eingang Biopsiekanal	KNS
H110034/EC-3890FZi	Außenmantel	Sporenbildner
H110034/EC-3890FZi	Distalende	KNS
1G402IC349/EG-760R	Außenmantel	KNS
H110105/EG-2990Zi	Außenmantel	KNS
A110645/EG27-i10	Eingang Biopsiekanal	KNS
A110750/EC3810F2	Eingang Biopsiekanal	KNS
H110061/EC-3490TMi	Eingang Biopsiekanal	KNS
A120024/EG-2470K	Distalende & Eingang Biopsiekanal	KNS
A110108/EC34-i10M	Außenmantel	KNS

Tabelle 11 Endoskope mit positivem Keimnachweis



Abbildung 8 Koagulase-negativer *Staphylococcus*



Abbildung 9 aerober Sporenbildner

4.2. Proteinnachweis (OPA-Methode)

Laut DIN EN ISO 15883 ist zur Überprüfung der Reinigungsleistung ein Proteinnachweis nötig (56). Die Grenzwerte bei Verwendung der OPA-Methode sind dabei von DGKH, DGSV und AKI festgelegt worden. Der Warnbereich für Durchspülproben bei Geräten mit mehr als 4 mm Innendurchmesser liegt dabei bei 100-200 µg/Gerät, für Arbeitselemente einzeln (wie den Albarran-Hebel bei Duodenoskopen) wird der Warnbereich mit 50-100 µg/Element angegeben (5).

In der vorliegenden Testreihe wurden die Endoskope jeweils nach der maschinellen Aufbereitung auf den Restproteingehalt getestet. Dabei wurden 24 Proben von Koloskopen, 20 Proben von Gastroskopen und 12 Proben von Duodenoskopen untersucht. Bei zwei Koloskopen der Firma Pentax, mit der Seriennummer A110750/EC38-i10F2 bzw. A110108/EC34i10F wurden in der Durchspülprobe Proteinwerte oberhalb des Warnbereichs von 100 µg/Gerät erfasst. Die Werte lagen bei 122,5, bzw. 200 µg/Gerät. Sie wurden wie alle anderen getesteten Geräte nach der Untersuchung neu aufbereitet und bei einer erneuten Testung wurde eine Proteinbelastung unterhalb des Warnbereichs festgestellt. Sämtliche Proben der anderen Geräte zeigten direkt Ergebnisse unterhalb des Warnbereichs.

Die 20 Proben der Gastroskope ergaben nur einmal einen gemessenen Proteinwert der Spülproben innerhalb des Warnbereichs mit 110 µg/Gerät (Seriennummer A111119/EG27-i10), wobei der Warnbereich bei Durchspülproben wie oben beschrieben bei 100-200µg/Gerät liegt.

In der letzten Phase der Untersuchungen wurden die Gastroskope nach der normalen Probenentnahme noch einmal durchgebürstet und der Bürstenkopf in 1% SDS-Lösung eingelegt und mittels OPA-Methode gemessen. Bei diesen Proben lag der ermittelte Proteinwert nach Abzug des Leerwertes der Bürste (ca. 0,035A) jeweils unterhalb der Bestimmungsgrenze von 4,5 µg/ml.

Von den 12 an Duodenoskopen entnommenen Proben ergaben sechs Proben Proteinwerte innerhalb des Warnbereichs. Bei den sechs positiven Proben handelt es sich jeweils um Proben der Albarran-Hebel. Da es sich dabei um Arbeitselemente an Endoskopen handelt, liegt der Warnbereich hierfür bei 50-100 µg/Element. Die gesamte Auswertung kann anhand der nachfolgenden Tabellen, sowie der Graphiken nachvollzogen werden. Tabelle 12 zeigt dabei den ersten Teil der Untersuchung, Tabelle 13 die Ergebnisse der speziellen Duodenoskopuntersuchungen, sowie der Bürstenproben der Gastroskope. Markiert sind dabei jeweils die Endoskope, bei denen ein Wert innerhalb des Warnbereichs gemessen wurde. Für die Bürstenproben der Gastroskope wurde dabei keine Graphik erstellt, da die Werte allesamt unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen.

Probe	Endoskopart	Seriennummer	Probenart	Extinktion (A)	Konzentration (µg/ml)	Konzentration (µg/Gerät)
1e	Duodenoskop	A120395/ED-3480TK	Spüllösung	0,029	12	60
2d	Koloskop	1C731K051/EC-760ZP-V/L	Spüllösung	0,007	<4,5	
3d	Gastroskop	A111119/EG27-i10	Spüllösung	0,014	6	30
4d	Koloskop	A110261/EC34-i10F	Spüllösung	0	<4,5	
5d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,004	<4,5	
6d	Koloskop	A110898/EC-3890Fi2	Spüllösung	0,019	8	40
7d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,01	<4,5	
8d	Koloskop	A110506/EC-38i10F2	Spüllösung	0,017	7	35
9d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,013	5	25
10d	Gastroskop	A110222/EG27-i10	Spüllösung	0,001	<4,5	
11d	Gastroskop	A110222/EG27-i10	Spüllösung	0,013	5	25
12d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,009	<4,5	
13d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,021	9	45
14d	Koloskop	A110752/EC-32i10F2	Spüllösung	0,018	7,5	32,5
15d	Gastroskop	H110105/EG-2990Zi	Spüllösung	0,017	7	35
16d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,018	7,5	32,5
17e	Duodenoskop	H110644/ED34-i10T	Spüllösung	0,02	8,5	42,5
18d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,021	9	45
19d	Koloskop	A111044/EC38-i10L	Spüllösung	0,026	11	55
20d	Koloskop	H110034/EC-3890FZi	Spüllösung	0,023	9,5	47,5
21d	Gastroskop	1G402IC349/EG-760R	Spüllösung	0,02	8,5	42,5
22d	Gastroskop	H110105/EG-2990Zi	Spüllösung	0,013	5	25
23d	Koloskop	A110898/EC-3890Fi2	Spüllösung	0,043	18	90
24d	Gastroskop	A110222/EG27-i10	Spüllösung	0,033	14	70
25d	Koloskop	A110750/EC38-i10F2	Spüllösung	0,059	24,5	122,5
26d	Koloskop	A110752/EC38-i10F2	Spüllösung	0,03	12,5	62,5
27d	Gastroskop	A110645/EG27-i10	Spüllösung	0,031	13	65
28d	Koloskop	A110750/EC38i10F2	Spüllösung	0,03	12,5	62,5
29d	Gastroskop	A111119/EG27-i10	Spüllösung	0,053	22	110
30d	Koloskop	A110108/EC34i10F	Spüllösung	0,097	40	200
31d	Gastroskop	A110222/EG27-i10	Spüllösung	0,037	15,5	77,5
32d	Koloskop	A110108/EC34i10F	Spüllösung	0,015	6	30
33d	Gastroskop	A110645/EG27-i10	Spüllösung	0,016	6,5	32,5
34d	Koloskop	A110108/EC34-i10M	Spüllösung	0,021	9	45
35d	Gastroskop	A111119/EG27-i10	Spüllösung	0,026	11	55
36d	Koloskop	A110108/EC34-i10M	Spüllösung	0,031	13	65
37d	Gastroskop	A120565/EG-2990K	Spüllösung	0,008	<4,5	
38d	Koloskop	H110061/EC-3490Tmi	Spüllösung	0,02	8,5	42,5
39d	Gastroskop	A120024/EG-2470K	Spüllösung	0,008	<4,5	
40d	Koloskop	A110108/EC34-i10M	Spüllösung	0,033	14	70
41d	Gastroskop	SN-1G375K269/EG-530CT	Spüllösung	0,03	12,5	62,5

Tabelle 12 Probenauswertung Proteinkonzentration Teil 1

Probe	Endoskopart	Seriennummer	Probenart	Extinktion (A)	Konzentration (µg/ml)	Konzentration (µg/Gerät)
1a	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Albarran	0,031	13	65
2b	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Spüllösung	0,02	8,5	42,5
3a	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Albarran	0,023	9,5	47,5
3b	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Spüllösung	0,016	6,5	32,5
4a	Duodenoskop	A110644/ED34-i10T	Albarran	0,023	9,5	47,5
4b	Duodenoskop	A110644/ED34-i10T	Spüllösung	0	<4,5	
5a	Gastroskop	H110112/EG-29907i	Spüllösung	0,015	6	30
5b	Gastroskop	H110112/EG-29907i	Bürste	0,023***	<4,5	
6a	Duodenoskop	2D127K020/ED-580XT	Albarran	0,014	5,5	27,5
6b	Duodenoskop	2D127K020/ED-580XT	Spüllösung	0,018	7,5	37,5
7a	Duodenoskop	A120395/ED-3480TK	Albarran	0,025	10,5	52,5
7b	Duodenoskop	A120395/ED-3480TK	Spüllösung	0,011	<4,5	
8a	Gastroskop	A113380/EG29-i10	Spüllösung	0,01	<4,5	
8b	Gastroskop	A113380/EG29-i10	Bürste	0,025***	<4,5	
9a	Duodenoskop	A110644/ED34-i10T	Albarran	0,042	17,5	87,5
9b	Duodenoskop	A110644/ED34-i10T	Spüllösung	0,014	5,5	27,5
10a	Gastroskop	A113379/EG29-i10	Spüllösung	0,01	<4,5	
10b	Gastroskop	A113379/EG29-i10	Bürste	0	<4,5	
11a	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Albarran	0,029	12	60
11b	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Spüllösung	0,012	5	25
12a	Gastroskop	H110105/EG-2990Zi	Spüllösung	0,003	<4,5	
12b	Gastroskop	H110105/EG-2990Zi	Bürste	0	<4,5	
13a	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Albarran	0,032	13,5	67,5
13b	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Spüllösung	0	<4,5	
14a	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Albarran	0,011	<4,5	
14b	Duodenoskop	2D127K021/ED-580XT	Spüllösung	0	<4,5	
15a	Gastroskop	1G375K269/EG-530CT	Spüllösung	0,016	6,5	32,5
15b	Gastroskop	1G375K269/EG-530CT	Bürste	0	<4,5	
16a	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Albarran	0,043	18	90
16b	Duodenoskop	A110651/ED-34i10T	Spüllösung	0	<4,5	

Tabelle 13 Probenauswertung Proteinkonzentration Teil 2

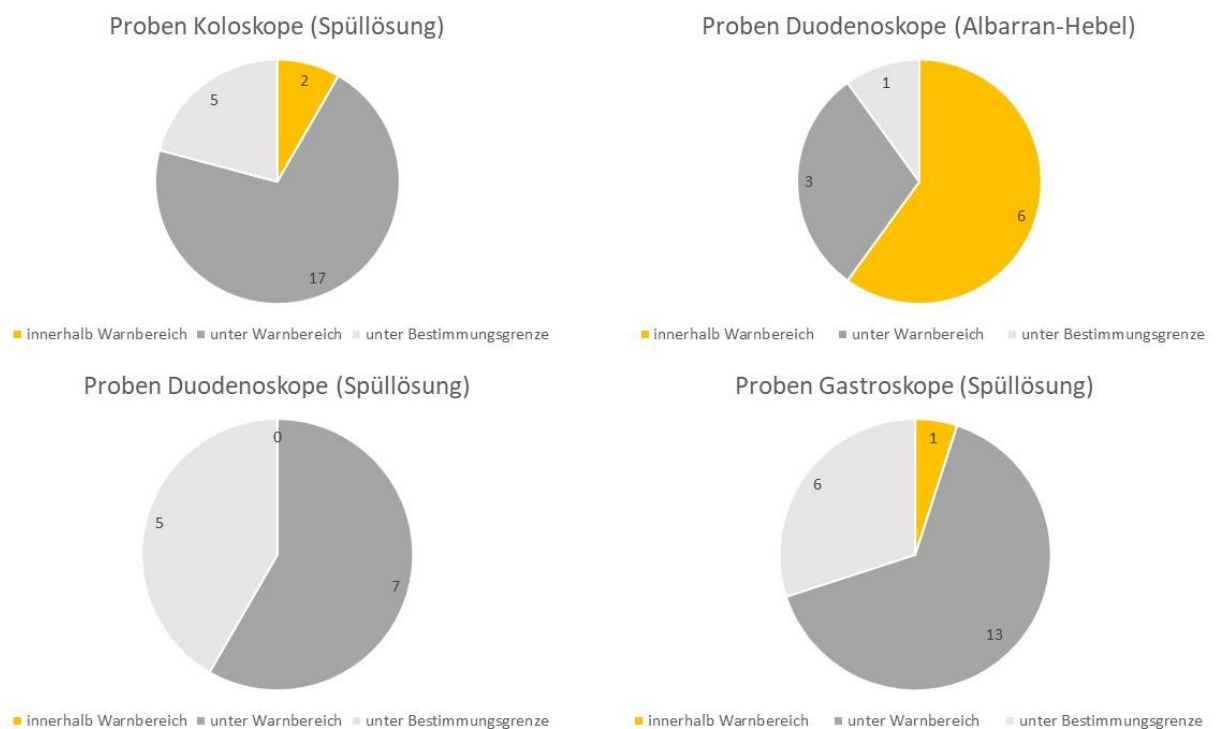


Abbildung 10 Probenauswertung Proteinkonzentration nach Geräten

4.3. Korrelation Verschmutzungsgrad und Kontaminationsgrad

Es konnte keine Korrelation zwischen mikrobiologischem Kontaminationsgrad und (Protein-) Verschmutzungsgrad der Endoskope festgestellt werden. So erfolgte zwar bei 14 Endoskopen ein mikrobiologischer Keimnachweis (siehe Tabelle 11), jedoch konnte bei keinem von diesen Endoskopen eine erhöhte Proteinkonzentration gemessen werden. Bei drei Endoskopen wurde eine erhöhte Proteinkonzentration nachgewiesen, ohne dass eine Keimbelastung mikrobiologisch festgestellt werden konnte. Da es sich zudem, mit Ausnahme des einmal nachgewiesenen *Corynebakterium*, bei allen mikrobiologisch nachgewiesenen Keimen um Keime der natürlichen Hautflora handelte, wurde bei der gesonderten nachfolgenden Proteinuntersuchung der Duodenoskope (Probennummer 42 – 56 Tabelle 12) auf die mikrobiologische Testung verzichtet. Daher lässt sich nicht überprüfen, ob bei den sechs Duodenoskopen, bei denen eine erhöhte Proteinkonzentration nachgewiesen wurde, auch eine Korrelation mit dem Kontaminierungsgrad bestand.

4.4. Prüfschläuche

Wie in Kapitel 3.3 beschrieben wurden die Prüfschläuche nach einer simulierten Aufbereitung mittels OPA-Methode auf die Restproteinkonzentration untersucht. Während das jeweilige Reinigungsmittel beim 1. Versuch 5 Minuten lang einwirken sollte, wurde beim 2. Versuch ein kontinuierliches Durchspülen simuliert, indem die Schläuche nach 2,5 Minuten erneut mit dem Reinigungsmittel durchspült wurden. Die nachfolgenden Tabellen zeigen (Spalte Proteinkonzentration in µg/Gerät), dass bei beiden Versuchen unabhängig vom gewählten Reinigungsmittel eine Restproteinkonzentration in den Schläuchen messbar war. Beim 2. Versuch wurden die Schläuche ein 2. Mal untersucht, also nach der 1. Messung erneut mit SDS-Lösung befüllt und mittels OPA-Methode ausgewertet. Bei dieser 2. Messung war in keinem Schlauch eine Restproteinkonzentration oberhalb der Nachweisgrenze messbar.

1. Versuch

Art	Reinigungsmittel	Extinktion (A)	Protein-konzentration (µg/ml)	Protein-konzentration (µg/Schlauch)
rau	Peressigsäure	0,116	47	235
unbehandelt	Peressigsäure	0,182	76	380
rau	Alkohol	0,15	62	310
unbehandelt	Alkohol	0,114	46	230
rau	Thermosept (maschinell)	0,053	23	115
unbehandelt	Thermosept (maschinell)	0,06	25	125

Tabelle 14 1. Versuch Prüfschläuche

2. Versuch

Art	Reinigungsmittel	Extinktion (A)	Protein-konzentration (µg/ml)	Protein-konzentration (µg/Schlauch)	2. Messung Extinktion (A)	2. Messung Konzentration (µg/ml)
rau	Peressigsäure	0,081	33	165	0	<4,5
unbehandelt	Peressigsäure	0,077	31	155	0,011	<4,5
rau	Alkohol	0,003	<4,5		0,007	<4,5
unbehandelt	Alkohol	0,018	7	35	0	<4,5
rau	Thermosept (maschinell)	0,049	21	105	0,01	<4,5
unbehandelt	Thermosept (maschinell)	0,042	18	90	0	<4,5

Tabelle 15 2. Versuch Prüfschläuche

5. Diskussion

Die Qualität der Aufbereitung von Endoskopen ist immer wieder Thema aktueller Diskussionen. Zur Überprüfung der Aufbereitung hat sich allgemein die mikrobiologische Testung des Kontaminationsgrades etabliert. Mikrobiologische Keimnachweise werden seit Jahren standardisiert durchgeführt, sind allerdings generell durch die Bebrütungsdauer zeitaufwendig und man benötigt vergleichsweise viele Materialien. Im Vergleich dazu sind Proteinmessverfahren zwar in vielen Bereichen ebenfalls etabliert, werden aber zur Routinetestung von Endoskopen noch selten durchgeführt.

Da verschiedene Studien zeigen, dass Endoskope bei unzureichender Aufbereitung eine ernstzunehmende Infektionsquelle für Patienten darstellen, ist es umso wichtiger, die Aufbereitung solcher Instrumente schnell und sicher überprüfen zu können (1). Die Beurteilung der Aufbereitung mit genauer Dokumentation der Überprüfung ist für Ärzte und Krankenhausbetreiber auch aus rechtlicher Sicht bedeutsam, da laut Infektionsschutzgesetz (IfSG) im Falle einer Infektion des Patienten der behandelnde Arzt die korrekte Aufbereitung der verwendeten Geräte nachweisen muss (63).

5.1. Methoden

5.1.1. OPA-Methode

Die OPA-Methode stellt ein schnelles und kostengünstiges Verfahren zur Überprüfung der Reinigungsleistung dar. Ein Vorteil der modifizierten OPA-Methode liegt in ihrer hohen Sensitivität aufgrund ihrer niedrigen Nachweisgrenze, die für diese Arbeit mit 4,5 µg/ml festgelegt wurde. Die Nachweisgrenze ist jedoch abhängig von der Steigung der Eichkurve, weshalb ein niedriger Wert nur zu erreichen ist, wenn bei der Erstellung der Eichkurve sehr sorgfältig und kontaminationsfrei gearbeitet wird. Daher ist eine Voraussetzung zur Durchführung dieser Methode eine gewisse Erfahrung in der Arbeit mit chemischen Substanzen, insbesondere eine hohe Sorgfalt beim Pipettieren auch von geringen Mengen dieser Chemikalien. Um die Umsetzung zu erleichtern und eine geringe Nachweisgrenze zu erreichen, wurde die Erstellung der Eichkurve im Vergleich zur von Wehrl et al. beschriebenen Methode (59) verändert (siehe 3.2.2) und der Messbereich dadurch verkleinert. Diese Modifikation resultierte in einer besseren Reproduzierbarkeit der Eichkurve, was besonders wichtig ist, um davon ausgehen zu können, dass die Nachweisgrenze einem realistischen Wert entspricht und nicht bei wiederholter Erstellung der Kurve andere Werte ergibt. Bei guter Reproduzierbarkeit kann man die gewonnenen Proben anhand dieser Kurve auswerten, ohne bei jeder Anwendung eine neue Eichkurve erstellen zu müssen.

Zur Probengewinnung sind je nach Gerät bzw. Geräteteil unterschiedliche Methoden zu verwenden, wie in Teil 3.4.2 beschrieben. Als Detergens zur Ablösung der Proteine vom Instrument wurde eine 1%-SDS-Lösung verwendet, da eine derartige Lösung „in der Literatur als das beste denaturierende (im Sinne von proteinauffaltend und -lösend) Tensid beschrieben wird“ (64).

Da Proteine die wesentliche Kontaminationsquelle medizinischer Geräte (65) und einen sehr sicheren Reinigungsparameter darstellen, ist die OPA-Methode, sofern man die Technik beherrscht, ein sicheres Verfahren, um die Reinigungsleistung der Aufbereitung von Endoskopen zu überprüfen. Es ist zudem schneller durchführbar als ein mikrobiologischer Keimnachweis, da die Auswertung am selben Tag wie die Probengewinnung erfolgt. Da DGKH, DGSV und AKI unterschiedliche Warnbereiche für unterschiedliche Geräte, bzw. Geräteteile angeben, ist die Methode auch in anderen Bereichen zur Reinigungsüberprüfung einsetzbar (5).

5.1.2. Probenahme

Die Probenahme zur Durchführung der OPA-Methode an Endoskopen gestaltete sich schwierig, da in der Leitlinie gefordert wird, die zu untersuchenden Geräte vollständig in der SDS-Lösung zu eluieren bzw. Geräte mit Hohlkörper, wie Endoskope, mit der Lösung zu durchspülen (5). Dazu soll zudem eine möglichst geringe Menge an 1% SDS-Lösung verwendet werden. Bei der Probenahme von Endoskopen ist besonders darauf zu achten, dass die Lösung für den gesamten Zeitraum der Elution im Gerät verbleibt, was bei den hier untersuchten Endoskopen aufgrund ihrer Länge und Biegsamkeit eine Herausforderung darstellte.

Ein weiteres Problem stellte die gesonderte Überprüfung der Albarran-Hebel von Duodenoskopen dar, da die Probenahme mit sterilen Tupfern hier nicht den gewünschten Erfolg brachte. Durch Eintauchen in die Lösung konnte letztendlich eine adäquate Probenahme ermöglicht werden, wie auf Abbildung 7 Probenahme Duodenoskop sehen. In der Routinediagnostik könnte diese Art der Probenahme jedoch ein Hindernis darstellen, da zwei Personen nötig sind, um ein Durchspülen der Endoskope mit anschließendem Wiederauffangen der Lösung zu ermöglichen, was einen deutlich erhöhten personellen Aufwand erzeugen würde.

Die Probenahme zur mikrobiologischen Untersuchung hingegen ist standardisiert und wird von Mitarbeitern der Hygiene-Abteilung routinemäßig nach den Vorgaben der ESGE durchgeführt (66). Dabei ist vor allem darauf zu achten, dass man mit den Tupfern möglichst sorgfältig Abstriche von allen Stellen des zu beprobenden Teils nimmt.

5.2. Ergebnisse

5.2.1. Prüfschläuche

Mit dem Kurzzeit-Laborversuch an Prüfschläuchen sollte zum einen eine eventuelle Abhängigkeit der Proteinbelastung von Endoskopen nach ihrer Reinigung und Aufbereitung von der Abnutzung und zum anderen von der Art des Reinigungsmittels gezeigt werden.

Aufgrund fehlender Verfügbarkeit von tatsächlichen Endoskopen für diese Versuche wurde eine Simulation an PTFE-Schläuchen durchgeführt. Die Abnutzung von Endoskopen durch langjährige Benutzung an PTFE-Schläuchen zu simulieren, stellte sich dabei als schwierig heraus, da nicht überprüft werden konnte, ob ein Anrauen der Schläuche mit Stahlwolle auch tatsächliche Risse oder ähnliche Abnutzungserscheinungen im Inneren der Schläuche hervorruft. Durch die kurzfristige Belastung durch die Stahlwolle konnten keine wesentlichen Unterschiede im Reinigungserfolg aufgezeigt werden. Diese Ergebnisse sind jedoch nicht statistisch abgesichert und es handelt sich dabei, wie erwähnt, nur um eine Simulation mit recht kurzfristiger Belastung.

Es wäre daher interessant zu überprüfen, ob die jahrelange Nutzung von Endoskopen sichtbare Schäden im Inneren der Schläuche hervorruft und inwiefern diese dann tatsächlich Einfluss auf die Reinigung der Endoskope haben, insbesondere da Untersuchungen in den USA zeigten, dass Mikroläsionen an Endoskopen das Bakterienwachstum im Inneren der Endoskope fördern (67). Derartige Tests sollten also erneut, wenn möglich auch über einen längeren Zeitraum, an echten Instrumenten durchgeführt werden.

Auch die Simulation der Reinigung ist nicht gleichwertig mit einer Reinigung in einem RDG-E. Es wäre daher sinnvoll, die Versuche erneut zu einem Zeitpunkt durchzuführen, an dem die Prüfschläuche nach Anschmutzung auch in einem RDG-E aufbereitet werden können.

Die unterschiedlichen Reinigungsmittel zeigten keine wesentlichen Unterschiede beim Reinigungserfolg. Auch hierbei handelte es sich jedoch nur um eine Simulation, da die Reinigungsmittel nicht in einem RDG-E eingesetzt wurden, sondern die Prüfschläuche manuell damit gereinigt wurden. Es zeigte sich allerdings bei allen Versuchen, dass ein mehrfaches Durchspülen der Schläuche

einen wesentlich höheren Reinigungseffekt hatte als ein einmaliges Einwirken der Reinigungsmittel. Auch diese Ergebnisse sind jedoch nicht vollständig statistisch abgesichert und sollten in einem längerfristig angelegten Versuch überprüft werden.

5.2.2. Proteinnachweis

Die Ergebnisse der Proteinmessmethode lassen sich unterteilen in Messungen am Instrumentierkanal der Endoskope durch die Auswertung einer Spüllösung und Messungen am Distalende bzw. dem Albarran-Hebel der Duodenoskope. Auf die Ergebnisse der Duodenoskope wird in 5.2.4 genauer eingegangen.

Die Auswertung des Proteingehalts im Innenteil der Endoskope ergab in nur drei von 56 Fällen einen Wert innerhalb des Warnbereichs (Durchspülproben mit Warnbereich von 100-200µg/Gerät). Dies zeigt, dass bei 95% der untersuchten Endoskope die Aufbereitung im RDG-E ausreicht, um alle Proteinreste aus dem Instrumentierkanal zu entfernen. In 16 Fällen lag der Wert sogar unterhalb der Nachweisgrenze. Insgesamt zeigen die Ergebnisse also eine gute Qualität der maschinellen Aufbereitung des Innenteils von Endoskopen, auch durch Geräte, die schon mehrfach repariert wurden und laut Auskunft der Endoskopie-Abteilung von den Herstellern keine Garantie mehr erhielten. Der Proteinnachweis stellt dabei auch für derartige Geräte eine sichere und schnelle Methode dar, um die Aufbereitungsqualität zu beurteilen und somit die Patientensicherheit und den Schutz vor Infektionen bei endoskopischen Untersuchungen zu gewährleisten.

Einschränkend ist jedoch zu sagen, dass mit der Methode vor allem der Instrumentierkanal und das Distalende (bei Duodenoskopen mit Albarran-Hebel) eines Endoskops getestet werden können und nicht der gesamte Außenbereich. Da es sich bei dem Instrumentierkanal und dem Distalende jedoch um die am schwierigsten aufzubereitenden Teile eines Endoskops handelt, ist bei negativem Proteinnachweis davon auszugehen, dass das Endoskop insgesamt einwandfrei aufbereitet ist. Die modifizierte OPA-Methode ist somit eine sichere Methode zur Überprüfung der Aufbereitungsqualität von Endoskopen, die bei ausreichender Schulung des Personals auch in der Routinekontrolle eingesetzt werden kann.

5.2.3. Korrelation Verschmutzungsgrad und Kontaminationsgrad

Der Vergleich der Ergebnisse der mikrobiologischen Kontamination mit der Untersuchung auf Proteinbelastung der Endoskope zeigte keine Korrelation. So konnte in einigen Fällen trotz nicht vorhandenem Keimnachweis eine Proteinbelastung festgestellt werden, umgekehrt war bei vorhandener Keimbelastung in keinem Fall eine Proteinverschmutzung feststellbar. Dies zeigt einerseits, dass Endoskope, die nach der rein mikrobiologischen Untersuchung als keimfrei und damit sauber gelten, dennoch Proteinreste enthalten können und daher nicht einwandfrei gereinigt sind. Andererseits gilt aber auch, dass sich trotz nicht vorhandenem Proteinnachweis Keime an den Endoskopen befinden können.

Dies könnte damit zusammenhängen, dass es sich bei den Keimen (mit einer Ausnahme) um nicht pathogene Keime der natürlichen Hautflora handelte, die möglicherweise von den Mitarbeitern stammen. Dieser Verdacht besteht insbesondere deshalb, weil die Keime überwiegend auf den Außenteilen der Endoskope wie dem Außenmantel und dem Distalende festgestellt wurden, während die Proteinbelastung nur im Inneren, also im Arbeitskanal der Endoskope getestet wurde. Die Endoskope werden von den Mitarbeitern ohne Handschuhe beispielsweise zur Aufbewahrung in die Schränke gehängt, wodurch sich Keime an die äußeren Teile der Endoskope übertragen können. Interessant wäre es daher, den Innenteil der Endoskope durch beide Methoden zu überprüfen, was jedoch leider mit der aktuellen Art der Probengewinnung nicht möglich ist, da bei beiden Methoden die Endoskope mit einer Spüllösung durchgespült werden müssen. Allein durch diesen Spülvorgang werden Keime bzw. Proteinreste aus dem Inneren gelöst, wodurch die nachfolgende Methode grundsätzlich eine falsch niedrige Kontamination bzw. Verschmutzung zeigen würde.

Die Tatsache, dass keine Korrelation nachgewiesen werden konnte, zeigt vor allem auch, dass beide Methoden ihren Stellenwert bei der Überprüfung der Aufbereitung von Endoskopen haben. Die Proteintestung ist insbesondere zur Überprüfung der Reinigung des Innenteils schnell und sicher durchführbar, während Außenteile des Endoskops besser durch mikrobiologische Keimnachweise beurteilt werden können.

5.2.4. Duodenoskope

Die Überprüfung der Aufbereitung von Duodenoskopen nimmt einen besonderen Stellenwert ein, da Duodenoskope durch den Albarran-Hebel besonders schwer zu reinigen sind. Das erklärt auch die bekannten Infektionsübertragungen durch Duodenoskope (68). Umso wichtiger ist es, für diese Geräte eine geeignete Methode zu finden, um den Reinigungserfolg schnell überprüfen zu können.

Die mikrobiologischen Untersuchungen der Duodenoskope ergaben in einem einzigen Fall einen Nachweis eines KNS am Eingang des Biopsiekanals, alle anderen Duodenoskope waren dabei unauffällig. Dies spricht zunächst für einen guten Reinigungserfolg und eine erfolgreiche Aufbereitung der Duodenoskope.

Auch die mittels OPA-Methode getesteten Spülproben zeigten keine erhöhten Proteinwerte im Instrumentierkanal der Duodenoskope. Im Gegensatz dazu waren jedoch bei den Proben der Albarran-Hebel 6 von 10 untersuchten Proben positiv bzw. ergaben Werte innerhalb des Warnbereichs (d.h. Werte zwischen 50-100µg/Element). Eine Wiederholung dieser Testung an mehr Geräten wäre wünschenswert, jedoch zeigt auch diese Stichprobenuntersuchung bereits, dass die Aufbereitung der Albarran-Hebel problematisch ist. Auch wenn keine pathogenen Keime gefunden wurden, zeigt eine erhöhte Proteinbelastung einen nicht ausreichenden Reinigungserfolg.

Duodenoskope werden in den gleichen Geräten aufbereitet wie Koloskope und Gastroskope, weshalb dort keine gesonderte Reinigung der Albarran-Hebel stattfindet. Um den Reinigungserfolg an diesen Arbeitsteilen zu verbessern, ist daher eine besonders sorgfältige Vorreinigung vonnöten. Dass eine Aufbereitung mit guter Reinigung auch des Albarran-Hebels möglich ist, zeigt sich darin, dass in 4 von 10 Fällen der gemessene Proteinwert unterhalb des Warnbereichs lag, also Werte unterhalb 50µg/Element gemessen wurden. Eine weitere Untersuchung an Duodenoskopen wäre anzuraten, um die beste Technik zur Vorreinigung zu etablieren und die Quote an einwandfrei aufbereiteten Duodenoskopen zu erhöhen.

6. Zusammenfassung

Das wichtigste Ziel der Hygiene ist die Gesundheitserhaltung des Menschen. Dabei nimmt der Infektionsschutz einen hohen Stellenwert ein. Um eine Infektionsübertragung durch medizinisch notwendige Prozeduren wie endoskopische Untersuchungen zu vermeiden, müssen Medizinprodukte sorgfältig gereinigt und aufbereitet werden. Um den Reinigungserfolg nach der Aufbereitung am entsprechenden Gerät zu überprüfen, sind geeignete Methoden nötig, die evtl. bestehende Rückstände von biologischem Material nachweisen. Bei Endoskopen handelt es sich um besonders schwierig aufzubereitende Geräte, die zudem thermolabil sind und daher nicht sterilisiert werden können. Ziel dieser Arbeit war es daher, den Aufbereitungsprozess an Endoskopen zu beurteilen und eine geeignete Methode zu entwickeln, mit der man diese Überprüfung schneller, ausführlicher und sicher durchführen kann.

Bisher erfolgte die Überprüfung des Reinigungsprozesses hauptsächlich durch die mikrobiologische Auswertung von Abstrichen. Diese Methode wurde auch hier zum Vergleich durchgeführt und zeigte, mit einer Ausnahme, in keinem Fall eine problematische Keimbelastung, was für eine gute Qualität der Aufbereitung spricht. Jedoch ist eine mikrobiologische Auswertung aufgrund der Bebrütungszeit der Nährböden zeitlich aufwändig und ein Ergebnis frühestens am Tag nach der Beprobung zu erwarten. Bis zur Ergebnismitteilung kann das Endoskop jedoch nicht verwendet werden, was bei begrenzten Ressourcen ein Problem darstellt.

Im Gegensatz dazu ist eine Proteinmessung mithilfe der modifizierten OPA-Methode deutlich schneller durchführbar und eine Auswertung und Ergebnismitteilung daher direkt nach der Beprobung möglich. Da Proteine einen sicheren Reinigungsparameter darstellen und vom RKI bereits Grenzwerte für Warnbereiche an Endoskopen festgelegt wurden, stellt die OPA-Methode eine geeignete Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung dar. Bei den Testungen im Rahmen dieser Arbeit ergaben sich Werte innerhalb des Warnbereichs vor allem an den Albarran-Hebeln von Duodenoskopen. Da diese Arbeitselemente besonders schwer aufzubereiten sind und unter anderem in den USA für Infektionsübertragungen nach ERCP-Untersuchungen verantwortlich waren, stellte die Untersuchung von Duodenoskopen einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit dar.

Aufgrund der Messergebnisse lässt sich sagen, dass die Aufbereitung von Endoskopen mittels RDG-E grundsätzlich einen guten Reinigungserfolg bewirkt. Bei Duodenoskopen ist im Bereich der Albarran-Hebel jedoch eine sorgfältigere Vorreinigung nötig, um die Proteinbelastung unterhalb des Warnbereichs zu senken.

Mittels eines Laborversuchs an Prüfschläuchen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Aufbereitung von angerauten und neuen Schläuchen oder zwischen der Aufbereitung mit unterschiedlichen Reinigungsmitteln gezeigt werden. Die angerauten Prüfschläuche sollten dabei den Abnutzungsgrad älterer, stark beanspruchter Endoskope simulieren. Dabei handelte es sich jedoch nur um einen Kurzzeit-Versuch, dessen Ergebnisse an realen Instrumenten überprüft werden sollten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die modifizierte OPA-Methode eine geeignete Methode zur Überprüfung der Proteinbelastung und damit der Reinigungs- bzw. Aufbereitungsqualität von Endoskopen darstellt, die bei sorgfältiger Durchführung auch in der Routinekontrolle verwendet werden kann. Aufgrund der erschwerten Probenahme und da kein Zusammenhang zwischen Verschmutzungs- und Kontaminationsgrad gefunden werden konnte, kann eine mikrobiologische Untersuchung insbesondere der Außenteile von Endoskopen jedoch nicht vollständig ersetzt werden.

Literaturverzeichnis

1. Infektionen nach ambulanten Endoskopien häufiger als angenommen. Deutsches Ärzteblatt. 2018 1. Juni.
2. FDA: Neue Regeln für Reinigung von Endoskopen. Deutsches Ärzteblatt. 2015 13. März.
3. Medizinproduktegesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 7. August 2002 (BGBl. I S. 3146), letzte Änderung durch Art. 11 des Gesetzes vom 9. August 2019 (BGBl. I S. 1202)..
4. Medizinprodukte-Betreiberverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 21. August 2002 (BGBl. I S. 3396), letzte Änderung durch Art. 9 der Verordnung vom 29. November 2018 (BGBl. I S. 2034)..
5. DGKH , DGSV , AKI. Leitlinie für die Validierung und Routineüberwachung maschineller Reinigungs- und thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte. 5.Auflage. Zentralsterilisation. 10/2017: 25-26.
6. Koch R. Über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten; 1878.
7. Robert Koch Institut. [Online]. [cited 2019 09 08. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Institut/Geschichte/Robert_Koch.html.
8. Pasteur L. Études dure le vin, ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver at pour le viellir Paris: F. Savy; 1873: 129.
9. Krüger-Brand HE. Endoskopische Verfahren: Viele Innovationen auf dem Weg. Deutsches Ärzteblatt. 2015: 112(14): A-615 / B-526 / C-513.
10. Gottschalk U, Maeting S, Kahl S. Arbeitsplatzbuch Endoskopie: Thieme; 2018.
11. Pentax Medical. [Online]. [cited 2019 09 10. Available from: <https://www.pentaxmedical.com/pentax/de/101/2/RetroView-EC-3490Ti-Video-Colonoscope>.
12. Pentax Medical. [Online]. [cited 2019 09 10. Available from: <https://www.pentaxmedical.com/pentax/af/hoya/nav/common/commonFlowForAI.do?channelId=-12608&selectedChannels=-12607,-12608&srcType=2&oid=77706&pages=-12371,-12374,77706&contentTypeId=8006&serviceId=101&lang=de>.
13. KRINKO beim RKI. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung flexibler Endoskope und endoskopischen Zusatzinstrumentariums. Bundesgesundheitsblatt. 2002; 45: 395-411.
14. KRINKO beim RKI und BfArM. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Bundesgesundheitsblatt. 2012; 55: 1244-1310.

15. KRINKO beim RKI. Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. Bundesgesundheitsblatt. 2004; 47: 51-61.
16. Endspurt Klinik Skript 17: Hygiene, Mikrobiologie. In.: Thieme; 2. Auflage 2017. 10-12.
17. Alfa M, Degagne P, Olson N. Worst-case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning. American Journal of Infection Control. 1999; 27 (5): 392-401.
18. gke Reinigungs- und Sterilisationsüberwachung. Handhabung von Reinigern bei der Instrumentenaufbereitung. [Online]. [cited 2019 09 23. Available from: <https://www.gke.eu/de/technical-information.html>.
19. Kremmel M. Aufbereitung von Medizinprodukten: Handlungshilfe für Anwender und Behörden. 3rd ed. Kremmel E, editor. Norderstedt: BoD - Books on Demand GmbH; 2012.
20. Desinfektionsmittel-Kommission im Verbund für Angewandte Hygiene (VAH). Desinfektionsmittel-Liste des VAH. Wiesbaden: mhp. Stand: 5. Oktober 2017.
21. RKI. Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren. In Bundesgesundheitsblatt. Berlin/Heidelberg: Springer; 31.10.2017. 60:1274–1297.
22. Kassenärztliche Vereinigung Bayerns (KVB). Hygienische Aufbereitung von Medizinprodukten in der Arztpraxis und im MVZ. München;; April 2017.
23. Leiss O. Vor- und Nachteile verschiedener Desinfektionsmittel zur Desinfektion flexibler Endoskope. Verdauungskrankheiten. 2003; 21: 235-244.
24. KRINKO und BfArM beim RKI. Kommentar zur Anlage 8 „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung flexibler Endoskope und endoskopischen Zusatzinstrumentariums“ der Empfehlung „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“. Epidemiologisches Bulletin. 15. Juli 2013.
25. Kampf G, Fliss P, Martiny H. Is peracetic acid suitable for the cleaning step of reprocessing flexible endoscopes? World journal of gastrointestinal endoscopy. 2014 September: 6(9):390-406.
26. Industrieverband Hygiene und Oberflächenschutz (IHO). Hinweise zum sicheren Umgang mit Peressigsäure. [Online].; 06.05.2013 [cited 2020 10 27. Available from: <https://www.iho.de/stellungnahmen/hinweise-zum-sicheren-umgang-mit-peressigsaeure/>.
27. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit. Quartäre Ammoniumverbindungen – Pflanzenschutz- oder Desinfektionsmittel? – Untersuchungsergebnisse 2012. [Online].; 2012 [cited 2019 09 24. Available from:

https://www.lgl.bayern.de/lebensmittel/chemie/pflanzenschutzmittel/pestizide_pflanzlich_lm/ue_2012_qav.htm.

28. Industrieverband Hygiene und Oberflächenschutz (IHO). Rückstände Quaternärer Ammoniumverbindungen (QAV) auf Lebensmitteln. [Online]. [cited 2020 10 27. Available from: <https://www.iho.de/rueckstaende-quaternaerer-ammoniumverbindungen-qav-auf-lebensmitteln-anwendung-von-desinfektionsmitteln-unbedenklich/>.
29. Adam D, Doerr HW, Link H. Die Infektiologie H. L, editor.: Springer; 2004.
30. Stiemcke L. Grenzen der Aufbereikbaarheit von Silikonmarkierungsringen an zahnärztlichen Instrumenten. Mainz: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention; 2017.
31. Beuth. DIN EN 556-1 Berichtigung 1:2006-12. Sterilisation von Medizinprodukten - Anforderungen an Medizinprodukte, die als "STERIL" gekennzeichnet werden - Teil 1: Anforderungen an Medizinprodukte, die in der Endpackung sterilisiert wurden. Berlin.; 2001.
32. Klischies R, Panther U, Singbeil-Grischkat V. Hygiene und medizinische Mikrobiologie - Lehrbuch für Pflegeberufe. 5th ed. Stuttgart: Schattauer; 2008.
33. Rutala W, Weber D. Reprocessing semicritical items: Current issues and new technologies. American Journal of Infection Control. 5/2016; 44(5 Suppl): 53-62.
34. Rutala W, Kanamori H, Sickbert-Bennett E, Weber D. What's new in reprocessing endoscopes: Are we going to ensure "the needs of the patient come first" by shifting from disinfection to sterilization? American Journal of Infection Control. 6/2019; 47S: A62-A66.
35. Leiß O, Niebel J, Exner M. Infektionsrisiko in der Endoskopie. Leber Magen Darm. 1995; 25: 198–202.
36. RKI. Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) - Epidemiologie, Erkennung, Diagnostik und Prävention unter besonderer Berücksichtigung der Risikominimierung einer iatrogenen Übertragung durch Medizinprodukte, insbesondere chirurgische Instrumente – A. Bundesgesundheitsblatt. 4/2002; 45: 376-394.
37. KRINKO beim RKI. Anforderungen der Hygiene an die baulich-funktionelle Gestaltung und apparative Ausstattung von Endoskopieeinheiten. Bundesgesundheitsblatt. 2002; 45: 412–414.
38. Pietsch M, Kraft B, Kohnen W. Wirksamkeit der Bürstenreinigung für die Keimelimination aus Endoskopkanälen. Zentralsterilisation. 2016; 1: 24-26.
39. European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE); European Society of Gastroenterology Nurses and Associates (ESGENA). Reprocessing of flexible

endoscopes and endoscopic accessories: Position Statement. *Endoscopy*. 2018; 50: 1205–1234.

40. Kempe L. Endoskop-Hygiene auf dem Prüfstand. *Deutsches Ärzteblatt Praxis*. 2/2015: 15-17.
41. Osborne S, Reynolds S, George N, Lindemayer F, Gill A, Chalmer M. Challenging endoscopy reprocessing guidelines: a prospective study investigating the safe shelf life of flexible endoscopes in a tertiary gastroenterology unit. *Endoscopy*. 2007; 39(09): 825-830.
42. Pietsch M. Safe storage of endoscopes: change in our guidelines? *Endoscopy*. 2007; 39(9): 831-832.
43. Epstein L, Hunter J, al. MAe. New Delhi metallo- β -lactamase-producing carbapenem-resistant *Escherichia coli* associated with exposure to duodenoscopes. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*. 10/2014;312(14): 1447-55.
44. Wendorf K, Kay M, al. CBe. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography-associated AmpC *Escherichia coli* outbreak. *Infection control and hospital epidemiology*. 6/2015; 36(6): 634-42.
45. Aumeran C, Poincloux L, al. BSe. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Endoscopy*. 11/2010; 42(11): 895-9.
46. Gastmeier P, Vonberg R. *Klebsiella* spp. in endoscopy-associated infections: we may only be seeing the tip of the iceberg. *Infection*. 2/2014; 42(1): 15-21.
47. Roberts C. The role of biofilms in reprocessing medical devices. *American Journal of Infection control*. 5/2013; 41(5 Suppl): S77-80.
48. Jung M, Beilenhoff U. Multiresistente Darmkeime und kontaminierte Endoskope. *Zeitschrift für Gastroenterologie*. 2016; 54(02): 173-176.
49. US Food and Drug Administration (FDA). Design of Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (ERCP) Duodenoscopes May Impede Effective Cleaning: FDA Safety Communication. 2015 Mar.
50. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM). Hinweis des BfArM und des RKI zu komplex aufgebauten Endoskopen (Duodenoskopen), deren Aufbereitung und damit verbundenen Infektionsrisiken. 17.07.2015.
51. Rutala W, Weber D. Gastrointestinal endoscopes: a need to shift from disinfection to sterilization? *JAMA*. 10/2014; 312(14): 1405-6.
52. DGKH, DGSV, AKI, DGVS. Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope. Zentralsterilisation. 2011: 3-72.

53. Bundesgesundheitsamt. Prüfung von thermischen Desinfektionsverfahren in Reinigungsautomaten. Bundesgesundheitsblatt. 1980; 23: 364-67.
54. RKI. Mitteilung des Robert Koch-Instituts zur Aufnahme von Reinigungs- und Desinfektionsgeräten in die Liste der geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren gemäß §18 IfSG. Bundesgesundheitsblatt. 2007; 50: 128-129.
55. DGKH. Hygienisch-mikrobiologische Überprüfung von flexiblen Endoskopen nach ihrer Aufbereitung. Hygiene & Medizin. 2010; 35 [3]: 75-79.
56. DIN ISO/TS 15883-5. Reinigungs-Desinfektionsgeräte - Teil 5: Prüfanschmutzungen und -verfahren zum Nachweis der Reinigungswirkung. Berlin: Beuth; 2006-02.
57. Th. Fengler HPSBWM. Sind aufbereitete chirurgische Instrumente proteinfrei?: Ergebnisse der klinischen Multicenter-Restkontaminationsstudie Aufbereitung (MRSA). Zentralsterilisation. 01/2001; 9: 20-32.
58. McCormick P, Kaiser J, Schoene M, DL.Shlatz , Norton S. A designed experiment for evaluation of the OPA method for cleaning studies of medical devices. Biomedical instrumentation & technology. 2007; 41 (4): 324-331.
59. Wehrl M, Kircheis U. Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. Hygiene & Medizin. 2011; 36-10: p. 402-406.
60. W. Michels HF. Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis: Teil 4. Aseptica. 2006; 12: 12-13.
61. J. Köhnlein SW. Quantitative Analyse praxisrelevanter Anschmutzung in Endoskopen zur Charakterisierung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten. Hygiene & Medizin. 2010; 35 (9): 315-319.
62. Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS). Anlage zur Akkreditierungsurkunde D-PL-13258-03-00 nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005. 09.11.2018. Urkundeninhaber: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention.
63. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) §23 Abs. 3 BGBI..
64. Frister H, Michels W. Probengewinnung und analytische Verfahren zur Reinigungskontrolle bei zu sterilisierenden Medizinprodukten. FORUM 2002, Aufbereitung von Medizinprodukten. 2002 Februar: 13.
65. Frister H. Die modifizierte OPA-Methode als Schlüssel zum quantitativen Protein-Monitoring. FORUM 99: Instrumenten-Aufbereitung. 1999 November: 10.

66. ESGE Guidelines Committee. ESGE-ESGENA guideline for quality assurance in reprocessing: microbiological surveillance testing in endoscopy. *Endoscopy*. 2/2007; 39(2): p. 175-181.
67. Jung M, Beilenhoff U. Hygiene: The Looming Achilles Heel in Endoscopy. *Visceral Medicine*. 2016; 32: 21–28.
68. Rösch T. Duodenoskope mit Problemkeimen – nur in den USA ? [Online]. [cited 2020 11 03. Available from: <https://www.endoscopy-campus.com/literatur/duodenoskope-mit-problemkeimen-nur-in-den-usa/>.

Lebenslauf

Name	Charlotte Carstens
------	--------------------

Ausbildung

04.11.2021	3. Staatsexamen
11/2020 - 03/2021	Medizinstudium Johannes-Gutenberg Universität Mainz
08.10.2020	2. Staatsexamen
21.09.2017	1. Staatsexamen
10/2015 - 10/2020	Medizinstudium Universität Regensburg
30.03.2014	Abitur (Note: 1,5)
2005 - 2014	Gymnasium Mainz-Gonsenheim
2001 - 2005	Maler-Becker Grundschule Mainz-Gonsenheim

Praktika

11/2020 – 11/2021	Praktisches Jahr am Mutterhaus der Borromäerinnen Trier (Bereiche Innere Medizin, Allgemeinmedizin, Chirurgie)
03/2020	Famulatur Innere Medizin, TTM Hospital Apia, Samoa
02 - 03/2019	Famulatur im Trauma Department, Royal Adelaide Hospital, Australien
08/2018	Famulatur in der Anästhesie, Spital Grabs, Schweiz
02 - 03/2018	Famulatur in einer Allgemeinmedizinischen Praxis, Mainz
04 - 06/2015	Pflegepraktikum im Katholischen Krankenhaus Mainz