

Ulrike Kircheis¹, Markus Wehrl²

1 Charité – Universitätsmedizin Berlin, Technische Hygiene, Berlin, Deutschland
2 wfk – Cleaning Technology Institute e.V., Krefeld, Deutschland

Methode zur Überprüfung der Gesamtprozessleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope

Die im Folgenden beschriebene methodische Anleitung wird als Anlage 9 unter dem Titel „Methodenbeschreibung zur Prüfung des Gesamtprozesses unter Verwendung eines Schlauchmodells als Prüfkörper“ in der bereits publizierten „Leitlinie von DGKH, DGSV, DGVS, DEGEA und AKI für die Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope“ [1] enthalten sein.

In der Technischen Spezifikation DIN ISO/TS 15883 Teil 5: „Reinigungs-Desinfektionsgeräte; Prüfanschmutzungen und -verfahren zum Nachweis der Reinigungswirkung“ wird im Anhang I „Prüfanschmutzung und -verfahren für flexible Endoskope (Deutschland)“ ein Prüfverfahren beschrieben, mit dem unter Verwendung von reaktiviertem Schafblut und *Enterococcus faecium* die Reinigungs- und Desinfektionsleistung maschineller Prozesse geprüft werden kann [2].

Die Bestimmung der Reinigungsleistung anhand des Leitparameters Proteingehalt mittels modifizierter OPA-Methode wurde kürzlich als „Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope“ der oben erwähnten Leitlinie (Anlage 8) beschrieben [3, 4]. In der hier vorliegenden Anlage 9 wird eine detaillierte Methodenanleitung für die Bestimmung der Gesamtprozessleistung dargestellt. Die Erarbeitung der Methode erfolgte durch die Methodengruppe, die von der Leitlinien-gruppe initiiert wurde.

Die Koordinatoren und Koordinatorinnen der Methodengruppe waren: Priv.-Doz. Dr. Holger Biering für den Arbeitskreis Instrumentenaufbereitung (AKI), Dr. Birgit Kampf als Vertreterin der Endoskophersteller und Prof. Dr. Heike Martiny für die Deutsche Gesell-

schaft für Krankenhaushygiene e. V. (DGKH). Die Methodengruppe wurde unterstützt von Frau Verona Schmidt, Koordinatorin der Leitliniengruppe RDG-E für den AKI.

Die Mitglieder der Methodengruppe waren folgende Institutionen und Firmen: Biotec GmbH, vertreten durch Dr. Olaf Kaup; Charité – Universitätsmedizin Berlin, vertreten durch Dr. Ulrike Kircheis; HS System- und Prozesstechnik GmbH, vertreten durch Ingo Hannemann; Hybeta GmbH, vertreten durch Christiaan Meijer und Christoph Keller; HygCen Centrum für Hygiene und medizinische Produktsicherheit GmbH, vertreten durch Johanna Köhnlein; Simicon GmbH, vertreten durch Paul Gerhard Simon und Dr. Nicole Büchl; SMP GmbH, vertreten durch Klaus Roth und Dr. habil. Ludger Schnieder; Verbund für Angewandte Hygiene e.V. (VAH) und Universität Bonn, vertreten durch Dr. Jürgen Gebel; wfk - Cleaning Technology Institute e.V., vertreten durch Dr. Markus Wehrl.

1 Einleitung

Die Prozessleistung eines vollständigen Aufbereitungszyklus in einem Reinigungs-Desinfektionsgerät für flexible Endoskope (RDG-E) muss sowohl im Rahmen von Typprüfungen als auch bei der Leistungsqualifikation im Rahmen der Validierung überprüft werden.

Die im Anhang I der DIN ISO/TS 15883-5 aufgeführte Methode wird im Folgenden spezifiziert und im Detail beschrieben. Für die Herstellung der Prüfkörper werden PTFE-(Polytetrafluorethylen-) Schläuche von 200 cm Länge und einem Innendurchmesser von 2 mm verwendet. Die Prüfanschmutzung besteht aus reaktiviertem Schafblut und dem Prüforganismus *Enterococcus faecium*. Die Beurteilung der Prozess-



Deutsche Gesellschaft für
Krankenhaushygiene /
German Society of Hospital Hygiene

Verantwortlich:
Prof. Dr. med. Martin Exner
(Präsident)
Prof. Dr. med. Walter Popp
(Vizepräsident)

Joachimstaler Straße 10
10719 Berlin, Germany
Tel: +49 30 8855 1615
Fax: +49 30 8851 029
E-Mail: info@krankenhaushygiene.de
Internet:
www.krankenhaushygiene.de

Schlüsselwörter

Flexible Endoskope
Aufbereitung
Überprüfung
Gesamtprozess
Desinfektion
Anlage 9
Leitlinie

Korrespondierende Autoren

Dr. rer. nat. Ulrike Kircheis
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Technische Hygiene
Hindenburgdamm 27
12203 Berlin
E-Mail: ulrike.kircheis@charite.de

Dr. rer. nat. Markus Wehrl
wfk - Cleaning Technology Institute e.V.
Campus Fichtenhain 11
47807 Krefeld
E-Mail: m.wehrl@wfk.de

leistung erfolgt nach einer visuellen Kontrolle über die Bestimmung der Anzahl noch vorhandener und teilungsfähiger Prüforganismen nach Prozessende. Anders als in der Technischen Spezifikation beschrieben wird hier die Methode der Endpunktbestimmung angewendet, siehe Abbildung 1, bei der die Prüfkörper nach der Behandlung im RDG-E mit Selektiv-Agarmedium gefüllt werden und alle verbliebenen Prüforganismen erfasst werden.

Werden weitergehende Informationen benötigt, in welchem Umfang ein Prozess nicht erfolgreich war, können zusätzliche Untersuchungen zur Bestimmung der Anzahl überlebender Prüforganismen durchgeführt werden. Dazu werden die Prüforganismen mit einer neutralisationsmittelhaltigen Lösung zunächst aus den Prüfkörpern eluiert, siehe Abbildung 1. Das Eluat wird filtriert und der Membranfilter auf Agarmedium inkubiert. Beim Vorliegen sehr hoher Zellzahlen kann zusätzlich eine Quantifizierung über die Ausplattierung von Verdünnungsreihen aus dem Eluat vorgenommen werden. Nachfolgend werden die durchspülten Prüfkörper mit Selektiv-Agarmedium gefüllt, um nicht eluierbare Prüforganismen zu detektieren.

Für die Auswertung werden mit Bezug auf die initiale Ausgangszahl der in den Prüfkörpern vorliegenden Prüforganismen sowohl bei Anwendung der Endpunktbestimmung als auch bei Elution und nachfolgender Membranfiltrationsmethode Reduktionsfaktoren (RF-Werte) berechnet.

In der hier dargestellten und spezifizierten Methode werden die Herstellung der Bakteriensuspension und der Prüfanschmutzung, die Präparierung der Prüfkörper, die Endpunktbestimmung und die Elution sowie die Auswertung der Ergebnisse beschrieben. Eine Übersicht über die Prüfmethodik ist in Abbildung 1 dargestellt.

2 Material

2.1 Prüfanschmutzung

- Schafblut heparinisiert mit 10 IE Heparin ml⁻¹. Es sollte bevorzugt „gepooltes“ Blut, d. h. eine Mischung aus dem Blut mehrerer Tiere, verwendet werden (z. B. Acila GmbH, Fiebig Nährstofftechnik). Die Qualität des Blutes soll den in Anlage 8 geforderten Kriterien entsprechen [3, 4]
- Protaminhydrochlorid oder Protaminsulfat, zugegebene Menge 15 IE ml⁻¹ Blut (z. B. Protamin Valeant 1000 I.E. ml⁻¹ von Fa. Valeant Pharmaceuticals Germany GmbH)
- Prüforganismus: *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) (ATCC 6057, DSM 2146)

2.2 Prüfkörpermaterial

- PTFE-Schläuche, 200 cm Länge, 2 mm Innendurchmesser, 0,5 mm Wandstärke (z. B. VWR International GmbH, Best-Nr.: 228-4134). Eine Vorbehandlung der PTFE-Schläuche mit Reiniger hat sich als nicht notwendig herausgestellt. Die PTFE-Schläuche sind als Einmalprodukt

- zu verwenden
- Silikonschlauchstücke als Adapter ca. 2 cm lang, Innendurchmesser 2 mm (z. B. Fa. Carl Roth GmbH + CO. KG, Best.-Nr.: 9559.1); ggf. weitere Größen
- Ggf. rote Verschlusskonusen (z. B. Fa. Angiokard Medizinische Spritzguss & Entwicklungstechnik GmbH)

2.3 Geräte und Verbrauchsmaterial

- Zentrifuge
- Waage mit einer Auflösung von ≤ 1 mg, kalibriert
- Diverse einstellbare Mikroliterpipetten, kalibriert
- Wasserbad mit Temperaturbereich bis 60 °C
- Membranfiltrationsgeräte für die Aufnahme von Filtern mit 50 mm Ø
- Horizontalschüttler
- Reagenzglasschüttler/Vortex Schüttler
- Zentrifugenröhrchen 50 ml (z. B. Falcon™ tube)
- Glasperlen, Ø 3–4 mm
- Bechergläser, diverse
- 10 ml Einmalspritzen
- 20 ml Einmalspritzen
- 60 ml Einmalspritzen (Wund- und Blasen-spritze) oder 50 ml Perfusor-Spritze (z. B. Fa. B. Braun)
- Membranfilter, Porengröße 0,45 µm, Ø 50 mm
- Pipettenspitzen, diverse
- Drigalski-Spatel
- Kabelbinder
- Skalpell

2.4 Medien und Lösungen

- flüssiger Kanamycin-Aesculin-Azid-Agar (55–60 °C)
- Kanamycin-Aesculin-Azid-Agar (KAA-Agar)
- Reagenzglasröhrchen mit 10 ml Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung (CSL)
- Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar (CSA)
- 0,9 %ige physiologische Kochsalzlösung (NaCl-Lsg.)
- Ggf. Neutralisationsmittel

Alle Materialien und Gefäße, die mit den Prüforganismen in Kontakt kommen, müssen ebenso wie die verwendeten Lösungen und Nährmedien steril sein. Alle Nährmedien werden bis zum Versuchstag kühl gelagert.

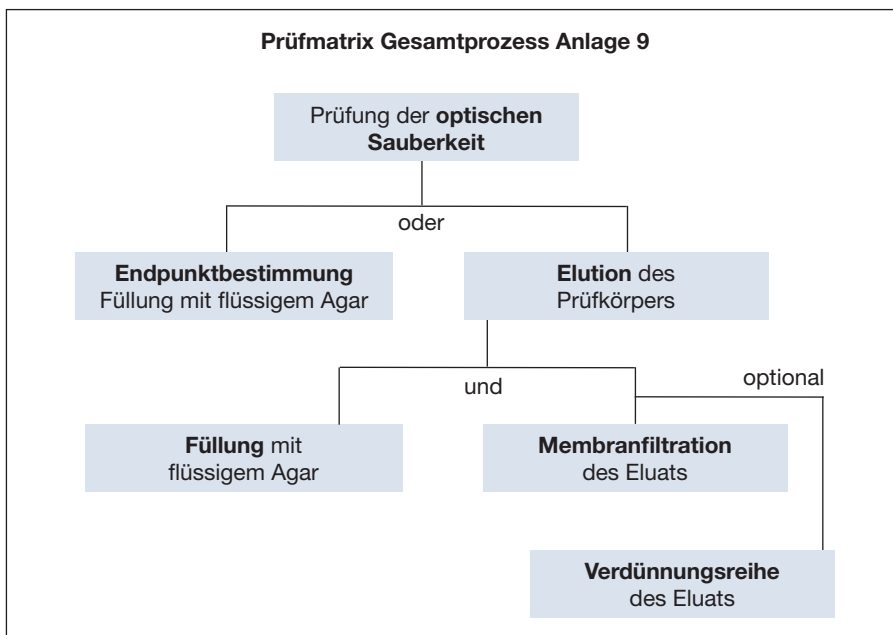


Abbildung 1: Prüfmatrix zur Beurteilung des Gesamtprozesses nach Anlage 9.

3 Methoden

3.1 Herstellung der Bakteriensuspension

Am Tag 1 wird mit einer Impföse Zellmaterial von einem dichtbewachsenen *E. faecium*-Ausstrich (maximal 2. Passage auf einem Agarnährmedium) abgenommen und damit ein Reagenzglasröhrchen mit CSL beimpft. Nach einer Inkubation von 24 Stunden bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ wird das Reagenzglasröhrchen aufgeschüttelt (Tag 2). Es werden 100 μl in ein neues Röhrchen mit CSL überführt. Zwei aufeinander folgende Anzuchtpassagen ergeben erfahrungsgemäß ein besseres Wachstum von *E. faecium*. Nach einer Inkubation von 24 h bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ (Tag 3) werden CSA-Platten mit jeweils 100 μl der Bakteriensuspension beimpft. Für die Anschmutzung von einem Prüfkörper werden etwa 10–15 Rasenplatten benötigt. Die Bebrütung erfolgt bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ für 72 Stunden (bis Tag 6).

Am sechsten Tag werden die Prüforganismen mit je 5 ml NaCl-Lösung pro Platte mit Hilfe eines Drigalski-Spatels abgeschwemmt. Die so gewonnene Bakteriensuspension wird in einem geeigneten Becherglas aufgefangen, dessen Boden vollständig mit Gaspelnen bedeckt ist. Die Suspension wird auf einem Schüttler für 10 min bei 250 U min^{-1} homogenisiert, nachfolgend in Zentrifugenröhrchen überführt und bei 3000 g für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert und verworfen, das Zellpellet wird in NaCl-Lsg. aufgenommen. Zur Homogenisierung der Zellsuspension werden Gaspelnen in das Zentrifugenröhrchen gegeben (etwa ein Viertel des Suspensionsvolumens) und die Suspension auf einem Vortex Schüttler für etwa 1 min bei ca. 500 U min^{-1} homogenisiert. Es wird ein Aliquot von mindestens 100 μl zur Bestimmung der Koloniezahl (KBE_5) entnommen (siehe 3.7).

3.2 Herstellung der Prüfanschmutzung

Das heparinisierte Schafblut, die Protaminlösung und die vorbereitete Bakteriensuspension werden auf Raumtemperatur gebracht und gut gemischt. Für die Anschmutzung von einem Prüfkörper werden folgende Mengen verwendet:

- 11,4 ml Blut
- 0,42 ml Bakteriensuspension
- 0,18 ml Protamin mit 180 IE

Alle Bestandteile werden nacheinander in ein Becherglas pipettiert und gründlich, jedoch vorsichtig gemischt, um Blasenbildung und Scherkräfte zu vermeiden. Nach Zugabe des Protamins wird zur Bestimmung der Koagulationszeit sofort eine Stoppuhr gestartet. Nach Durchmischung wird ein Aliquot von 1 ml der Prüfanschmutzung entnommen und in 9 ml NaCl-Lsg. verdünnt, um nachfolgend die Koloniezahl in der Prüfanschmutzung (KBE_p) zu bestimmen (siehe 3.7).

3.3 Präparierung der Prüfkörper

Die PTFE-Schläuche werden zunächst an einem Ende markiert (z. B. mittels Kabelbinder) und mit Silikonschlauch-Adaptoren versehen, um die Injektion der Prüfanschmutzung mit einer Spritze zu ermöglichen. Das Gewicht der so vorbereiteten PTFE-Schläuche wird auf einer Waage bestimmt.

Die Anschmutzung der PTFE-Schläuche erfolgt in horizontaler Position. 10 ml der Prüfanschmutzung werden mit einer 10 ml Einmalspritze aufgezogen und in jeweils einen PTFE-Schlauch injiziert. Nach 30 Sekunden Inkubation werden mit der Spritze zwei Mal hintereinander je 10 ml Luft aufgezogen und in den PTFE-Schlauch injiziert, um überschüssige Prüfanschmutzung auszublasen, die in einem Becherglas aufgefangen wird.

Zur Bestimmung der Koagulationszeit wird das Becherglas mit der Prüfanschmutzung leicht geschwenkt. Die einsetzende Koagulation wird durch eine gelartig verfestigte Oberfläche angezeigt. Die Zeit bis zum Einsetzen der Koagulation wird zusammen mit der Raumtemperatur dokumentiert. Die vollständige Koagulation muss in weniger als 30 Minuten eintreten und zeigt sich durch eine feste und nicht mehr gallertartige Konsistenz. Andernfalls sind die Prüfanschmutzung und die Blutcharge zu verwerfen.

Die Prüfkörper werden nach der Anschmutzung eine Stunde bei Raumtemperatur waagrecht inkubiert, um eine vollständige Koagulation der Prüfanschmutzung sicher zu stellen. Anschließend wird in Abweichung zu DIN ISO/TS 15883-5, Anhang I, eine Durchgängigkeitsprüfung vorgenommen. Hierzu werden 20 ml Luft in einer Spritze dieses Fassungsvermögens aufgezogen und langsam in die Prüfkörper injiziert. Blockierte Prüfkörper sind zu verwerfen. Nachfolgend wird das Gewicht der angeschmutzten Prüfkörper durch Wiegen ermittelt, um die Menge der enthaltenen Prüfanschmutzung zu bestimmen.

3.4 Anwendung der Prüfkörper im RDG-E

Zur Bestimmung der Gesamtprozessleistung werden die Prüfkörper im RDG-E an die jeweiligen Anschlüsse flüssigkeitsdicht und drucksicher konnektiert. Dabei muss der Anschluss so erfolgen, dass die Prüfkörper in gleicher Richtung wie bei der Anschmutzung durchströmt werden.

Nach der Behandlung im RDG-E werden die Prüfkörper entnommen. Mit einem sterilen Skalpell werden die ersten ca. 2 cm, die im RDG-E konnektiert waren, abgetrennt und verworfen. An diese Prüfkörperenden werden neue sterile Silikonschlauchadapter aufgesteckt. Unbehandelte Positivkontrollen können ohne Abtrennung des Anfangsstücks untersucht werden.

3.5 Endpunktbestimmung

Nach der Entnahme der Prüfkörper aus dem RDG-E werden diese optisch in Augenschein genommen und die Sauberkeit dokumentiert. Durch die Endpunktbestimmung wird ein quantitativer Nachweis über die in den Prüfkörpern verbliebenen teilungsfähigen Prüforganismen erbracht. Hierbei muss sichergestellt sein, dass keine Desinfektionsmittelreste in den Prüfkörpern vorliegen.

Die Prüfkörper werden mit Hilfe einer 10 ml Einmalspritze mit $55\text{--}60^\circ\text{C}$ warmem flüssigen KAA-Agar blasenfrei und vollständig gefüllt, dabei wird das Austreten von Agar vermieden. Die Prüfkörperenden werden ringförmig mittels Silikonschlauch-Adapter zusammengesteckt oder an jeder Seite mit Verschlussknoten verschlossen und bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert. Das Wachstum überlebender Prüforganismen in den Prüfkörpern zeigt sich durch die Bildung eines schwarzen Farbstoffs. Nach 24 Stunden Inkubation erfolgt die Auszählung als KBE_E und Dokumentation der Ergebnisse, nach 48 Stunden erfolgt eine Nachkontrolle.

3.6 Elution der Prüforganismen

Es wird eine Elution der Prüfkörper vorgenommen, um erstens Verfahren mit geringer Prozessleistung zu analysieren, zweitens den Einfluss etwaiger Desinfektionsmittelrückstände auszuschließen und drittens die Wiederfindungsrate bei Positivkontrollen zu bestimmen.

Aufbereitete Prüfkörper werden zuerst mit einem geeigneten Neutralisationsmittel eluiert und anschließend mit flüssigem KAA-Agar befüllt. Hierdurch werden sowohl im Prüfkörper als auch im Eluat alle

Tabelle 1: Empfohlene Verdünnungsstufen der einzelnen Proben und Soll-Anzahl der Prüforganismen.

Probe (aus Kapitel)		Empfohlene Verdünnungsstufen	Soll-Anzahl KBE ml ⁻¹
Bakteriensuspension (3.1)	KBE _s	10 ⁻⁷ bis 10 ⁻¹⁰	≥ 1,0 × 10 ¹¹
Prüfanschmutzung (3.2)	KBE _p	10 ⁻⁵ bis 10 ⁻⁸	≥ 3,5 × 10 ⁹
Eluat behandelter Prüfkörper (3.6)	KBE _v	10 ⁰ bis 10 ⁻²	–
Eluat Positivkontrolle (3.6)	KBE _k	10 ⁻¹ bis 10 ⁻⁶	–

Prüforganismen erfasst. Die Auswahl geeigneter Neutralisationsmittel erfolgt nach Angaben des Desinfektionsmittelherstellers oder nach den Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren [5].

Zur Elution der Prüforganismen werden 50 ml Neutralisationsmittel mit einer Spritze aufgezogen und in den jeweiligen Prüfkörper injiziert. Die Injektion erfolgt in der selben Richtung wie die Anschmutzung der Prüfkörper und die Durchströmung im RDG-E-Prozess. Nachfolgend werden zwei Mal hintereinander 50 ml Luft injiziert, um Reste der Elutionslösung auszublenden. Das Eluat wird in einem geeigneten, sterilen Becherglas (z. B. 200 ml Volumen), dessen Boden mit Glasperlen vollständig bedeckt ist, aufgefangen und auf einem Schüttler 3 Minuten bei 250 U min⁻¹ homogenisiert. Der Prüfkörper wird anschließend mit flüssigem KAA-Agar gefüllt (siehe 3.5).

Das Eluat wird durch einen Membranfilter filtriert. In das Becherglas mit den zurück gebliebenen Glasperlen werden zur quantitativen Überführung der Prüforganismen 150 ml NaCl-Lsg. gegeben, kurz geschüttelt und ebenfalls durch den Membranfilter filtriert. Der Filter wird auf KAA-Agar aufgelegt und bei 36 ± 1 °C für 24 Stunden inkubiert, danach erfolgt die Auszählung der Koloniezahl als KBE_M; nach 48 Stunden wird eine Nachkontrolle vorgenommen.

Bei der Auswertung unbehandelter Positivkontrollen (KBE_k) oder bei der Optimierung von Verfahren mit geringen RF-Werten (KBE_v) ist es notwendig, auch hohe Zahlen von Prüforganismen quantitativ erfassen zu können. Hierzu wird vom Eluat ein Aliquot von 1 ml entnommen und die Koloniezahl (KBE_p) über eine Verdünnungsreihe mit nachfolgender Ausplattierung auf KAA-Agar bestimmt (siehe 3.7).

3.7 Quantifizierung der Prüforganismen

Die Quantifizierung durch Ausplattierung erfolgt als Doppelbestimmung. Zur Bestimmung der KBE-Zahl werden Verdünnungsreihen – wie in Tabelle 1 beschrieben – angelegt und jeweils 100 µl Suspension auf KAA-Agar ausplattiert. Die Inkubation erfolgt bei 36 ± 1 °C, bei Wachstum der Prüforganismen tritt eine schwarze Färbung des Mediums auf.

Die Auszählung der Koloniezahlen erfolgt nach 24 Stunden, nach 48 Stunden wird eine Nachkontrolle vorgenommen; die Ergebnisse werden dokumentiert.

4 Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle von Prüfkörpern wird hinsichtlich des verwendeten PTFE-Schlauchmaterials auf Anlage 8 der „Leitlinie von DGKH, DGSV, DGVS, DEGEA und AKI für die Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope“ verwiesen [3, 4]. Für jede Prüfkörpercharge ist die Anzahl der Prüforganismen in der Bakteriensuspension (KBE_s) und in der Prüfanschmutzung (KBE_p) zu bestimmen; die zu erzielenden Soll-Werte sind in Tabelle 1 angegeben.

Darüber hinaus ist für jede einzelne Prüfkörpercharge, die zur Untersuchung eines RDG-E-Prozesses verwendet wird, mindestens eine Positivkontrolle (Prüfkörper, der keinem RDG-E-Prozess unterzogen wurde) zu analysieren. Hierbei wird die bakterielle Wiederfindungsrate (WFR_B) bestimmt, die ausschließlich der internen Qualitätssicherung der Prüfanschmutzung dient. Zur Bestimmung wird eine Elution der Prüfanschmutzung mit anschließender Quantifizierung der Prüforganismen durch Ausplattierung einer dekadischen Verdünnungsreihe (KBE_k) vorgenommen (siehe 3.6, 3.7).

Die bakterielle Wiederfindungsrate (WFR_B) ergibt sich nach folgender Beziehung:

$$WFR_B = 100 * \frac{KBE_k}{PAM * KBE_p}$$

KBE_k: Anzahl der eluierten und in Verdünnungsreihen ausplattierten Prüforganismen Prüfkörper⁻¹. Die Zellzahlen der in die Auswertung einbezogenen Verdünnungsstufen werden für die Verdünnung und das Gesamtvolumen des Eluats korrigiert.

PAM: gravimetrisch ermittelte Prüfanschmutzungsmenge im Prüfkörper in [g], entspricht in Annäherung dem Volumen in [ml] bei einer angenommenen Dichte von 1,0 g ml⁻¹

KBE_p: Anzahl der Prüforganismen in der Prüfanschmutzung ml⁻¹

Die Wiederfindungsrate muss erfahrungsgemäß deutlich über 0,1 % und unter 2 % liegen. Die Publikation von entsprechenden Ergebnissen aus Ringversuchen ist in Vorbereitung.

Bei der Präparierung der Prüfkörper sind alle Informationen zu dokumentieren (z. B. Hersteller, Lieferant, Lieferdatum, Produktnummer, Chargennummer, insbesondere des Schafbluts und auch der PTFE-Schläuche). Während der Präparierung der Prüfkörper sind folgende weitere Daten zu dokumentieren:

- Raumtemperatur bei der Herstellung
- Zeit bis zum Einsetzen der Koagulation der Prüfanschmutzung
- Menge der Prüfanschmutzung in den Prüfkörpern nach Durchgängigkeitsprüfung
- Berechnete Prüforganismenzahl Prüfkörper⁻¹

5 Auswertung der Prüfkörper

Prüfkörper, die für die Überprüfung der Gesamtprozessleistung von RDG-E eingesetzt werden, müssen einen Prüforganismengehalt von ≥ 1 × 10⁹ KBE Prüfkörper⁻¹ aufweisen. Die initiale Anzahl der Prüforganismen in den Prüfkörpern (KBE_{PK}) ergibt sich aus folgender Beziehung:

$$KBE_{PK} = PAM * KBE_p$$

PAM: gravimetrisch ermittelte Prüfanschmutzungsmenge im Prüfkörper in [g], entspricht in Annäherung dem Volumen in [ml] bei einer angenommenen Dichte von 1,0 g ml⁻¹

KBE_p: Anzahl der Prüforganismen in der Prüfanschmutzung ml⁻¹

Prüfkörper, die diese Anforderung nicht erfüllen, sind von der Auswertung auszuschließen.

Nachfolgend wird für jeden Prüfkörper der mikrobielle Reduktionsfaktor (RF-Wert) errechnet. Beim RF-Wert handelt es sich um das logarithmische Maß des Quotienten der durch den Prozess reduzierten Zahl teilungsfähiger Prüforganismen mit Bezug auf die initiale Prüforganismenzahl.

Die Bestimmung der Anzahl verbliebener teilungsfähiger Prüforganismen in behandelten Prüfkörpern kann entsprechend der Prüfmatrix (Abbildung 1) mit unterschiedlichen Methoden erfolgen, es werden jeweils erhalten:

KBE_E :

Anzahl der Prüforganismen Prüfkörper⁻¹ aus der Endpunktbestimmung (3.5) oder aus der Füllung der Schläuche nach vorhergehender Elution (3.6). Für die Auswertung werden zwischen 10 und 100 KBE Prüfkörper⁻¹ berücksichtigt. Zellzahlen zwischen 0 und 10 KBE Prüfkörper⁻¹ werden für die Berechnung als 1 gewertet. Zahlen oberhalb des Zählbereichs werden als 100 angegeben und der errechnete RF-Wert wird mit einem „<“ ausgedrückt.

KBE_M :

Anzahl der eluierten und auf Membranfilter aufgetragenen Prüforganismen Filter⁻¹ (3.6). Für die Auswertung werden zwischen 6 und 150 KBE Filter⁻¹ berücksichtigt. Zellzahlen zwischen 0 und 6 KBE Filter⁻¹ werden für die Berechnung als 1 gewertet. Zahlen oberhalb des Zählbereichs werden als 150 angegeben und der errechnete RF-Wert wird mit einem „<“ ausgedrückt.

KBE_V :

Anzahl der eluierten und aus Verdünnungsreihen quantifizierten Prüforganismen Prüfkörper⁻¹. Die Zellzahlen der in die Auswertung einbezogenen Verdünnungsstufen werden für die Verdünnung und das Gesamtvolumen des Eluats korrigiert.

5.1 Endpunktbestimmung (3.5)

Der RF-Wert ergibt sich nach folgender Formel:

$$RF = \log \left(\frac{KBE_{PK}}{KBE_E} \right)$$

5.2 Elution und Membranfiltration (3.6)

Der RF-Wert ergibt sich nach folgender Formel:

$$RF = \log \left(\frac{KBE_{PK}}{KBE_E + KBE_M} \right)$$

5.3 Elution und Membranfiltration und Verdünnungsreihe (3.6)

Der RF-Wert ergibt sich nach folgender Formel:

$$RF = \log \left(\frac{KBE_{PK}}{KBE_E + KBE_M + KBE_V} \right)$$

5.4 Dokumentation

Bei der Auswertung und Berechnung der RF-Werte sind neben den Informationen zur Qualitätssicherung (siehe 4) für jeden einzelnen Prüfkörper individuell zu dokumentieren:

- die Menge der enthaltenen Prüfanschmutzung
- die berechnete Anzahl Prüforganismen (KBE_{PK})
- der Reduktionsfaktor (RF-Wert)
- die für die Auswertung angewendete Methodik

6 Anwendung der Methode

6.1 Optische Sauberkeit

Die Überprüfung der optischen Sauberkeit des Prüfkörpers erfolgt nach der Entnahme aus dem RDG-E. Sollte eine optische Sauberkeit nicht gegeben sein, kommt die hier beschriebene Methode nicht zur Anwendung, da der zu überprüfende Prozess nicht die erforderliche Leistung erbracht hat.

6.2 Beurteilung der Reinigungsleistung

Die hier beschriebene Methode kann hinsichtlich der Entfernung von Mikroorganismen bei der Reinigung herangezogen werden. Die Beurteilung der mikrobiologischen Reduktion durch den Reinigungsschritt ersetzt jedoch nicht die Beurteilung der Reinigung anhand des Leitparameters Proteinentfernung nach Anlage 8.

6.3 Lagerung und Transport

Das hier beschriebene Verfahren bezieht sich auf Prüfkörper, die direkt vor Ort präpariert, in RDG-E-Prozessen eingesetzt und nach der oben beschriebenen Prüfmatrix (Abbildung 1) weiterbehandelt und ausgewertet werden. Sollten Prüfkörper nach der Präparation über einen Zeitraum von länger als 1 Stunde gelagert oder z. B. transportiert werden, muss durch Vergleichsuntersuchungen gezeigt werden, dass getroffene Maßnahmen hinreichend sind, um

eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse sicher zu stellen. Entsprechendes gilt für die Lagerung und den Transport von aufbereiteten Prüfkörpern.

6.4 Gleichwertigkeit der Methode

Grundsätzlich sind Abweichungen von der hier beschriebenen Methode nur dann zulässig, wenn durch vergleichende Untersuchungen belegt wird, dass sie zu demselben Ergebnis führen wie bei Anwendung der hier genannte Methode.

6.5 Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Methode wurde bereits untersucht und bestätigt [6, 7].

6.6 Gleichzeitige Aufbereitung

Es muss sichergestellt sein, dass während der Prüfung keine gleichzeitige Aufbereitung von Realinstrumenten erfolgt.

6.7 Anforderungen an den Prüforganismus

Hinsichtlich den Anforderungen an die Hitzebeständigkeit des Prüforganismus *Enterococcus faecium* (ATCC 6057, DSM 2146) wird auf die Beschreibung in DIN ISO/TS 15883-5, Anhang I, Kapitel I.7.4 verwiesen.

7 Literatur

1. DGKH, DGSV, DGVS, DEGEA, AKI: Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope. ZentralSteril 2011;Suppl. 3.
2. DIN ISO/TS 15883-5. Reinigungs-Desinfektionsgeräte – Teil 5: Prüfanschmutzungen und -verfahren zum Nachweis der Reinigungswirkung (ISO/TS 15883-5); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 15883-5:2005. Berlin: Beuth Verlag, 2006.
3. Wehrl M, Kircheis U. Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. HygMed 2011;36:402–406.
4. Wehrl M, Kircheis U. Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. ZentralSteril 2011;5:352–356.
5. Gebel J, Werner HP, Kirsch-Altana A, Bansemir K. Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren. mhp Verlag GmbH, Wiesbaden, 2002.
6. Zühlsdorf B, Martiny H. Intralaboratory reproducibility of the German test method of prEN ISO 15883-5 for determination of the cleaning efficacy of washer-disinfectors for flexible endoscopes. J Hosp Infect 2005;59:286–291.
7. Zühlsdorf B, Kampf G, Floss H., Martiny H. Suitability of the German test method for cleaning efficacy in washer-disinfectors for flexible endoscopes according to prEN ISO 15883. J Hosp Infect 2005;61:46–52.