

## Originalia

# Einfluss des Elutionsmittels auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen in Endoskop-Schlauchprüfkörpern

M. Wehrl

**Korrespondierender Autor:**

Dr. Markus Wehrl  
wfk - Cleaning Technology  
Institute e.V.  
Campus Fichtenhain 11  
47807 Krefeld

m.wehrl@wfk.de

**Interessenkonflikt:**

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) besteht.

**Zusammenfassung**

Im Rahmen der Leistungsqualifizierung von maschinellen Aufbereitungsprozessen für thermolabile flexible Endoskope sowie bei periodischen Routinekontrollen zur Qualitätssicherung der Aufbereitung dieser Medizinprodukte erfolgt die mikrobiologische Bewertung von aufbereiteten thermolabilen flexiblen Endoskopen nach realem Gebrauch (Realinstrumente) z.B. entsprechend Anlage 10 der Leitlinie von DGKH, DEGEA, DGSV, DGVS und AKI. Bei dieser Prüfung werden u. a. Spülproben aller Endoskopkanäle genommen und hinsichtlich der Gesamtzahl an Mikroorganismen und Anwesenheit von relevanten, potenziell pathogenen Infektionserregern ausgewertet. Die Elution der Endoskopkanäle erfolgt entsprechend der Leitlinie mit 0,9% Natriumchlorid (NaCl)-Lösung. Zur Untersuchung, ob die Zusammensetzung des Elutionsmittels einen Einfluss auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen hat, wurden vergleichende systematische Untersuchungen unter Verwendung

durchschnittlich um maximal 0,51%. Entsprechend den an Prüfkörpern ermittelten Ergebnissen hat die Zusammensetzung der in dieser Studie eingesetzten Elutionsmittel keinen Einfluss auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen.

**1 Einleitung**

Die Überprüfung der Wirksamkeit von maschinellen Aufbereitungsverfahren für thermolabile flexible Endoskope im Rahmen der Leistungsqualifizierung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für Endoskope (RDG-E) umfasst eine Bestimmung der Verfahrenswirksamkeit mittels Prüfkörpern sowie eine Überprüfung aufbereiteter Realinstrumente (nach dem durch klinischen Gebrauch angeschmutzter flexibler Endoskope). Die maschinelle Aufbereitung in RDG-E setzt sich i. d. R. aus den Prozessschritten Vorspülen, Reinigung, Zwischenspülung und der nachfolgenden chemo-thermischen Desinfektion vorwiegend mittels Glutaraldehyd- oder Peressigsäure-haltigen Desinfektionsmitteln sowie abschließenden Schlusspülschritten zur Entfernung des Desinfektionsmittels zusammen. Die Wirksamkeit der Desinfektion wird von i) Behandlungszeit, ii) Temperatur, iii) Konzentration des Desinfektionsmittels und iv) chemischer Natur des Desinfektionswirkstoffs bestimmt, vorausgesetzt die Desinfektionsmittellösung hat freien Zugang zu allen Oberflächen und es befinden sich organische oder anorganische Rückstände nur in einem solchen Maß auf der Oberfläche der Endoskope oder in der Desinfektionsmittellösung, dass es zu keiner Inaktivierung der Desinfektionskomponente (Neutralisation) kommt. Im Gegensatz zu thermischen Desinfektionsverfahren, bei denen die Wirksamkeit parametrisch über die Bestimmung der Temperatur und Behandlungszeit (Haltezeit) erfasst wird, wird bei chemo-thermischen Desinfektionsverfahren

**Schlüsselwörter**

- Thermolabile flexible Endoskope
- Anlage-9-Prüfkörper
- Prüforoganismen
- Elution
- Wiederfindungsrate

des Prüfkörpermodells nach Anlage 9 der Leitlinie (PTFE-Schlauch, angeschmutzt mit reaktiviertem, koaguliertem Schafblut und *Enterococcus faecium*) durchgeführt. Unter Verwendung von Natriumchlorid (NaCl)-, DNP-, FHM- und T+Thio-Lösungen wurden die Wiederfindungsraten in neun teilnehmenden Laboren bestimmt. Die Ergebnisse zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Elutionsmitteln, die Wiederfindungsraten unterschieden sich

**Zitierweise:**

Wehrl M. Einfluss des Elutionsmittels auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen in Endoskop-Schlauchprüfkörpern. Zentr Steril 2020; 28 (5): 240-245

**Manuskriptdaten:**

Eingereicht: 20.7.2020  
Angenommen: 28.8.2020

ren der Nachweis der Wirksamkeit mittels Prüfkörpern mit einem definierten Gehalt an Prüforganismen (Biomonitor) erbracht, welche als Prozesskontrollen eingesetzt werden.

Entsprechend Medizinproduktebetreiberverordnung, MPBetreibV [1], müssen alle Aufbereitungsprozesse für Medizinprodukte validiert sein. Für die Validierung maschineller Endoskopaufbereitungsprozesse in RDG-E, welche DIN EN ISO 15883 entsprechen, steht hierzu in Deutschland die „Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs- und Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope“ von DGKH, DEGEA, DGSV, DGVS und AKI zur Verfügung [2]. Die mikrobiologische Beprobung aufbereiteter Realinstrumente ist in der KRINKO-BfArM-Empfehlung [3] sowie in detaillierterer und präziserer Form in Anlage 10 [4] zur Leitlinie beschrieben und wird im Rahmen der Leistungsqualifizierung (LQ) sowie im Rahmen von Routinekontrollen durchgeführt. Die Prüfung nach Anlage 10 umfasst Abstrichproben von festzulegenden kritischen Endoskopstellen (distales Ende, ggf. Albaranhebelsche, besonders schwer zugängliche Stellen) mittels Abstrichtupfer sowie Flüssigkeits-/Durchspülproben, die von jedem durchspülbaren Kanal genommen werden. Dazu werden ca. 25 ml 0,9% Natriumchlorid-Lösung (NaCl-Lsg.) mittels steriler Einwegspritze in den entsprechenden Kanal injiziert und 20 ml des am distalen Ende austretenden Eluats aufgefangen. Können Rückstände des Desinfektionsmittels in den eluierten Kanälen nicht ausgeschlossen werden, muss ein geeignetes Neutralisationsmedium zum aufgefangenen Eluat hinzugegeben werden. Die Quantifizierung eluierter Mikroorganismen erfolgt durch Membranfiltration von einem Teilvolumen des Eluats, weitere Teilvolumina des Eluats werden für den selektiven Nachweis hygienerrelevanter Mikroorganismen(gruppen) (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* sp., Streptokokken, Fäkalstreptokokken, *Mycobacteria* sp., *Legionella* sp.) eingesetzt.

Die Elution verbliebener lebensfähiger Mikroorganismen aus den Kanälen und der nachfolgende Nachweis durch Kultivierung stellen gegenwärtig die einzige etablierte Möglichkeit zur hygienisch-mikrobiologischen Überprü-

fung von Endoskopkanälen dar. Eine möglichst hohe Wiederfindungsrate der durchgeführten Elution ist Voraussetzung für die quantitative Erfassung von Mikroorganismen. Methodisch bedingt liegen bei der praktischen Anwendung von Elutionsmethoden die Wiederfindungsraten immer unter 100%, da keine vollständige Rückgewinnung erfolgt. Liegen die Wiederfindungsraten deutlich unter 100% führt dies jedoch zu einer falsch-negativen Bewertung der Ergebnisse und zu einer Unterschätzung des tatsächlichen Mikroorganismengehalts (Bioburden).

In verschiedenen Arbeiten wird beschrieben, dass die Elution von aufbereiteten Realinstrumenten mit NaCl-Lsg. niedrigere Wiederfindungsraten als mit anderen Elutionsmitteln zeigte [5–9], andere Arbeiten beschrieben, dass die Zusammensetzung von Elutionsmitteln keinen Einfluss auf die Wiederfindungsrate hat [10–12]. Aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse bestand bislang kein Konsens zur Frage, ob die Zusammensetzung unterschiedlicher Elutionsmittel einen Einfluss auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen in Endoskopkanälen hat.

Zur systematischen Untersuchung der Eignung unterschiedlicher Elutionsmittel beauftragte die für die Leitlinie verantwortliche Gruppe aus Vertretern der beteiligten Fachgesellschaften („Leitliniengruppe“) die im Mai 2018 gebildete so genannte Methodengruppe 2.0 mit standardisierten Vergleichsuntersuchungen unter Beteiligung von neun Laboren.

Um vergleichbare Untersuchungen zur systematischen Bestimmung der Wiederfindungsraten von Mikroorganismen in Endoskopkanalgeometrien bei allen teilnehmenden Laboren zu gewährleisten, wurde das etablierte Endoskop-Schlauchprüfkörpermodell nach Anlage 9 der Leitlinie [13], welches auf DIN ISO/TS 15883-5:2004, Anhang I [14] basiert, eingesetzt. Diese Anlage-9-Prüfkörper bestehen aus einem 2 m langen Teflon (PTFE)-Schlauch mit einem Innendurchmesser von 2 mm und stellen ein etabliertes Surrogat für die Geometrie von Endoskopkanälen dar. Die Prüfan-schmutzung besteht aus einer für jeden eingesetzten Prüfkörper quantifizierten Menge von reaktiviertem, koagulationsfähig gemachtem Schafblut, welchem eine definierte Konzentration des

Prüforganismus *Enterococcus faecium* (*E. faecium*, DSM 2146) beigemischt ist, sodass die in jedem Prüfkörper enthaltene Anzahl an Prüforganismen bekannt ist. Unter Einsatz dieser Anlage-9-Prüfkörper wurden die Wiederfindungsraten für die enthaltenen Prüforganismen durch Elution unter Verwendung der vier unterschiedlichen Elutionsmittel i) NaCl-Lsg., ii) DNP-Lsg., iii) FHM-Lsg. und iv) T+Thio-Lsg. [5-8] vergleichend bestimmt.

Die Methodengruppe 2.0 wurde koordiniert von Dr. Birgit Kampf (delegiert von der Gruppe der Endoskophersteller), PD Dr. Holger Biering (delegiert von der Deutschen Gesellschaft für Endoskopie und bildgebende Verfahren e.V., DGE-BV) und Dr. Markus Wehrl (delegiert von der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene e.V., DGKH). Die Methodengruppe setzte sich aus folgenden Teilnehmern zusammen (alphabetische Reihenfolge): Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, vertreten durch Dipl.-Biol. Verona Schmidt; Hücker & Hücker GmbH, vertreten durch Dipl.-Biol. Maciej Dabrowski; HYBETA GmbH, vertreten durch Dirk Diedrich und Dr. Edyta Stec; HygCen Germany GmbH, vertreten durch Dr. Oliver Riebe; Lysoform Dr. Hans Rosemann GmbH, vertreten durch Dr. Thorsten Schwemmer-Cordes; SAL-GmbH, vertreten durch Pia Wehnes und Dr. Kerstin Kruse; Simicon GmbH, vertreten durch Toni Seis; SMP GmbH, vertreten durch Klaus Roth, Dr. habil. Ludger Schnieder und Beate Dölker; DGKH, vertreten durch Prof. Dr. Heike Martiny; Valitech GmbH & Co. KG, vertreten durch Dipl.-Ing. (FH) Daniel Geyer und M.Sc. Marc Plevschinski, Verbund für Angewandte Hygiene e.V. (VAH) und Universität Bonn, vertreten durch Dr. Jürgen Gebel und Dr. Stefanie Gemein; wfk – Cleaning Technology Institute e.V., vertreten durch Dr. Markus Wehrl.

Die bei der Ergebnisdarstellung verwendete Reihenfolge der Prüflabore entspricht nicht der alphabetischen Reihenfolge der teilnehmenden Prüflabore.

## ■ 2 Material und Methoden

### 2.1. Anlage-9-Prüfkörper

Material und Methoden zur Herstellung, Elution und Auswertung von Anlage-9-Prüfkörpern sind in Anlage 9 [13] zur Leitlinie [2] beschrieben.

## 2.2 Elutionsmittel

- NaCl-Lsg. bestehend aus 0,90% NaCl in  $H_2O_{dd}$ , entsprechend Anlage 9 [13].
- FHM-Lsg. bestehend aus 0,10% Caseinpepton; 0,10% Tween 80; 0,43% NaCl; 0,36%  $KH_2PO_4$ ; 0,72%  $Na_2HPO_4 \cdot 2 H_2O$  in  $H_2O_{dd}$ ; pH =  $7,0 \pm 0,2$ , entsprechend [5], mit Verweis auf [15, 16].
- DNP („Diluent Neutralizing Pharmacopoeia“-) Lsg. bestehend aus 0,10% Caseinpepton; 3,0% Tween 80; 0,30% Lecithin aus Hühnerrei; 0,10% L-Histidinhydrochlorid; 0,43% NaCl; 0,36%  $KH_2PO_4$  und 0,72%  $Na_2HPO_4 \cdot 2 H_2O$  in  $H_2O_{dd}$ ; pH =  $7,0 \pm 0,2$ , entsprechend [5], mit Verweis auf [16].
- T+Thio-Lsg. bestehend aus 3,0% Tween 80; 0,30% Lecithin aus Hühnerrei; 0,10% L-Histidinhydrochlorid und 0,50%  $Na_2S_2O_3$  in  $H_2O_{dd}$ ; entsprechend [5–8].

## 3 Ergebnisse

Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten unter Verwendung der vier unterschiedlichen Elutionsmittel NaCl-Lsg., FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. stellten 8 teilnehmende Labore (Labor A, B, C, D, F, G, H, I) jeweils  $n = 12$  Prüfkörper nach Anlage 9 her, Labor E setzte  $n = 42$  Prüfkörper ein. Die Konzentration der in den Prüfan-

schmutzungen enthaltenen Prüforga-nismen lag zwischen  $1,55 \times 10^9$  und  $7,35 \times 10^{10}/ml$ . Die Anzahl der in die einzelnen Prüfkörper hineingegebenen Prüforganismen wurde entsprechend Anlage 9 für jeden einzelnen Prüfkörper ermittelt und lag bei  $\geq 10^9$  Prüforganismen/Prüfkörper, lediglich in einem Labor (Labor C) wurde ein einziger Prüfkörper verwendet, der nur  $8,98 \times 10^8$  Prüforganismen/Prüfkörper enthielt. Eine Zusammenfassung zur Charakterisierung der verwendeten Prüfkörper ist in Tabelle 1 dargestellt.

Für die Elution mit jedem der vier Elutionsmittel wurden in 8 Laboren (Labor A, B, C, D, F, G, H, I) jeweils  $n = 3$  Prüfkörper eingesetzt. Labor E setzte für die Elutionsmittel FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. jeweils  $n = 9$  Prüfkörper und für NaCl-Lsg.  $n = 15$  Prüfkörper ein. Die Elution erfolgte durch Injektion von 50 ml des jeweiligen Elutionsmittels in einen Prüfkörper entsprechend der Beschreibung in Anlage 9. Die Eluate wurden aufgefangen, durch Schütteln unter Zugabe von 12 g dampfsterilisierten Glasperlen homogenisiert [13] und durch Ausplattieren einer dekadischen Verdünnungsreihe auf Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar (KAA-Agar) wurde die Anzahl eluierter Prüforganismen be-

stimmt. Die für die Elution mit NaCl-Lsg. ermittelten Wiederfindungsraten ( $WFR_p$ ) sind in Tab. 2 angegeben, sie lagen im Durchschnitt bei  $2,01 \pm 2,14\%$  ( $n = 39$ ).

Die von den Laboren ermittelten Wiederfindungsraten unter Verwendung der Elutionsmittel NaCl-Lsg., FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. sind in Abb. 1 dargestellt. Um einen systematischen Vergleich der Elutionswirkung der unterschiedlichen Elutionsmittel zu ermöglichen und zur Kompensation methodischer Unterschiede in den jeweiligen Laboren wurden die für die Elution mit NaCl-Lsg. bestimmten Wiederfindungsraten ( $WFR_p$ , s. Tab. 2) als relative Wiederfindungsraten ( $RWFR_p$ ) auf 100% gesetzt (Baseline). Die für die Elutionsmittel FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. aufgetragenen relativen Wiederfindungsraten ( $RWFR_p$ ) erlauben folglich eine einfache Ablesung, um wie viel Prozent sich die jeweiligen Wiederfindungsraten im Vergleich zur Elution mit NaCl-Lsg. im jeweiligen Labor unterschieden.

Bezogen auf das „Referenz-Elutionsmittel“ NaCl-Lsg. (Baseline) mit der durchschnittlichen relativen Wiederfindungsrate  $RWFR_p = 100\%$  (Minimum: 100%; Maximum: 100%;  $n = 39$ ) wur-

**Tab. 1: Charakterisierung der eingesetzten Prüfkörper hinsichtlich der Konzentration der in der Prüfanschmutzung enthaltenen Prüforganismen [Prüforganismen / ml Blut] und die jeweils in die Prüfkörper hineingegebene Anzahl an Prüforganismen, angegeben als arithmetische Mittel (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) sowie Minimum (MIN) und Maximum (MAX). n.a.: Keine Einzelwerte übermittelt.**

Labor	Prüfkörperanzahl [n]	Prüforganismen / ml Blut	Prüforganismen / Prüfkörper		
			MW $\pm$ SD	MIN	MAX
A	12	$2,95 \times 10^9$	$1,41 \pm 0,15 \times 10^9$	$1,18 \times 10^9$	$1,68 \times 10^9$
B	12	$2,25 \times 10^9$	$4,58 \pm n. a. \times 10^9$	n. a.	n. a.
C	12	$1,55 - 2,55 \times 10^9$	$1,70 \pm 0,57 \times 10^9$	$8,98 \times 10^8$	$2,77 \times 10^9$
D	12	$1,80 - 3,40 \times 10^9$	$1,85 \pm 0,60 \times 10^9$	$1,21 \times 10^9$	$3,14 \times 10^9$
E	42	$2,25 - 7,00 \times 10^9$	$4,24 \pm 1,62 \times 10^9$	$1,69 \times 10^9$	$8,00 \times 10^9$
F	12	$7,80 - 8,90 \times 10^9$	$5,71 \pm 0,61 \times 10^9$	$4,68 \times 10^9$	$6,72 \times 10^9$
G	12	$1,37 \times 10^{10}$	$9,26 \pm 1,46 \times 10^9$	$7,52 \times 10^9$	$1,24 \times 10^{10}$
H	12	$7,35 \times 10^{10}$	$4,06 \pm 0,12 \times 10^{10}$	$3,84 \times 10^{10}$	$4,23 \times 10^{10}$
I	12	$3,60 \times 10^9$	$2,48 \pm 0,45 \times 10^9$	$1,98 \times 10^9$	$3,31 \times 10^9$

den für die Elution mit FHM-Lsg. durchschnittliche relative Wiederfindungsraten von  $RWFR_B = 81,0\%$  (Minimum:  $21,3\%$ ; Maximum:  $177\%$ ;  $n = 33$ ), für DNP-Lsg. durchschnittlich von  $RWFR_B = 76,5\%$  (Minimum:  $15,8\%$ ; Maximum:  $181\%$ ;  $n = 33$ ) und für T+Thio-Lsg. durchschnittlich von  $RWFR_B = 112\%$  (Minimum:  $19,0\%$ ; Maximum:  $179\%$ ;  $n = 33$ ) ermittelt, s. Abb. 1.

Bezogen auf die durchschnittliche absolute Wiederfindungsrate von NaCl-Lsg. in Höhe von  $WFR_B = 2,01\%$  ( $n = 39$ ) lagen die durchschnittlichen absoluten Wiederfindungsraten für FHM-Lsg. bei  $WFR_B = 1,53\%$ , für DNP-Lsg. bei  $WFR_B = 1,62\%$  und für T+Thio-Lsg. bei  $WFR_B = 2,04\%$ .

Zur statistischen Auswertung wurden die von den einzelnen Laboren ermittelten Wiederfindungsraten ( $WFR_B$ ) für jedes Elutionsmittel ( $n = 3 - 15$ ) zusammengefasst und der arithmetische Mittelwert gebildet. Die Mittelwerte der 9 Labore für jedes der vier Elutionsmittel wurden als jeweils eine Datenpopulation zusammengefasst und die vier Datenpopulationen für die vier Elutionsmittel mittels Kruskal-Wallis-Test (IBM SPSS Statistics, Version 26) analysiert. Der  $\alpha$ -Fehler wurde festgelegt auf  $\alpha = 0,05$ . Die statistische Auswertung ergab, dass sich die vier Elutionsmedien hinsichtlich der Wiederfindungsrate nicht signifikant voneinander unterscheiden ( $H_{(3)} = 1,252, p = 0,741$ ).

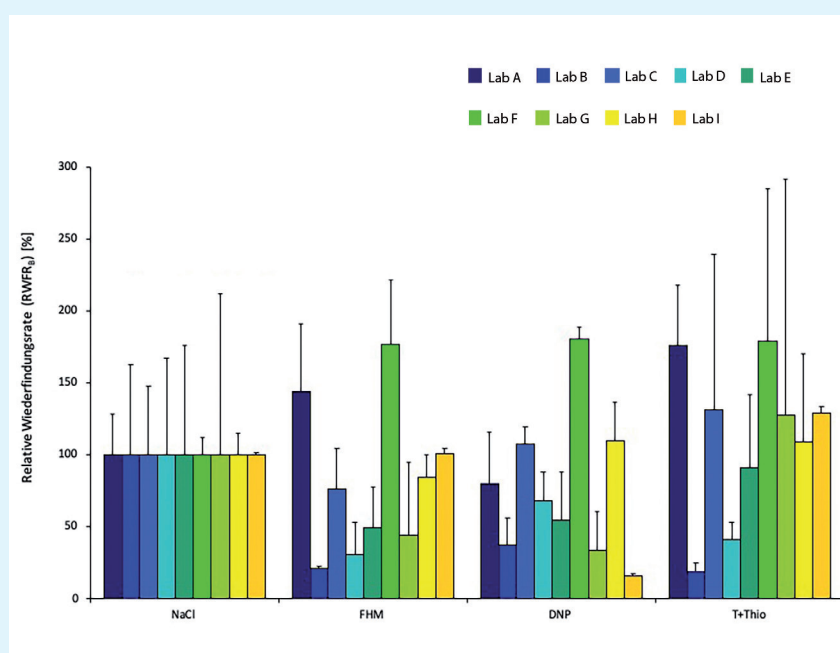
#### 4 Diskussion

Die Validierung von Aufbereitungsprozessen für thermolabile Endoskope in einem RDG-E umfasst in der Leistungsqualifizierung zunächst die Prüfung sowohl der Reinigungsleistung als auch der Gesamtprozessleistung – als Kombination der Reinigungs- und Desinfektionsleistung – durch den Einsatz von Prozesskontrollen nach Anlage 8 [17] und Anlage 9 [13] der Leitlinie. Diese Prozesskontrollen verfügen über eine qualitativ und quantitativ charakterisierte Prüfanschmutzung bzw. eine definierte Anzahl enthaltener Prüforganismen, wodurch die Reinigungsleistung bzw. Gesamtprozessleistung bestimmt werden kann.

Der Erfolg der Aufbereitung muss ferner durch Kontrollen an durch realen Gebrauch angeschmutzten Instrumenten (Realinstrumenten) überprüft

**Tab. 2: Wiederfindungsraten ( $WFR_B$  [%]) für Prüforganismen der einzelnen Labore und arithmetisches Mittel aller 9 Labore bei Elution der Prüfkörper mit 0,9 % NaCl-Lsg. entsprechend Anlage 9 [13], angegeben als arithmetisches Mittel (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD).**

Labor	Prüfkörperanzahl [n]	$WFR_B$ [%] für Elution mit NaCl-Lsg., MW $\pm$ SD
A	3	2,66 $\pm$ 0,77
B	3	5,87 $\pm$ 3,70
C	3	0,31 $\pm$ 0,15
D	3	1,79 $\pm$ 1,21
E	15	1,15 $\pm$ 0,88
F	3	1,53 $\pm$ 0,19
G	3	1,51 $\pm$ 1,69
H	3	6,15 $\pm$ 0,92
I	3	0,61 $\pm$ 0,01
<b>MITTEL</b>	<b>39</b>	<b>2,01 <math>\pm</math> 2,14</b>



**Abb. 1:** Relative Wiederfindungsraten ( $RWFR_B$ ) für die Elution von Anlage-9-Prüfkörpern in den 9 Laboren unter Verwendung der Elutionsmittel NaCl-Lsg., FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. Die Wiederfindungsraten ( $WFR_B$ ) für die Elution mit 0,9% NaCl-Lsg. (s. Tab. 2) wurden als „Referenzwert“ herangezogen und auf  $RWFR_B = 100\%$  gesetzt (Baseline). Die in jedem Labor für die Elution mit FHM-, DNP- und T+Thio-Lsg. ermittelten Wiederfindungsraten wurden hierauf bezogen und die Abweichung als relative Wiederfindungsrate ( $RWFR_B$ ) errechnet. In den Laboren A, B, C, D, F, G, H, I wurden mit jedem Elutionsmittel  $n = 3$  Prüfkörper eluiert, Labor E setzte für NaCl-Lsg.  $n = 15$  und für FHM-, DNP- und T+Thio-Lsg. jeweils  $n = 9$  Prüfkörper ein. Die Linien über den jeweiligen Balken geben die Standardabweichungen (SD) an.



werden (Endproduktkontrolle). Bei Realinstrumenten variieren die Menge und die Zusammensetzung der anhaftenden Anschmutzungen und Mikroorganismen in Abhängigkeit vom Patienten und von der Art und der Intensität des Instrumenteneinsatzes sehr stark. Der negative Nachweis von Mikroorganismen auf aufbereiteten Realinstrumenten gibt deshalb keine Information darüber, wie wirksam die Aufbereitungsprozesse sind. Der Nachweis eines einzelnen vermehrungsfähigen Infektionserregers auf oder in einem aufbereiteten Endoskop ist jedoch der Nachweis, dass die aufbereiteten Medizinprodukte die Anforderungen laut KRINKO-BfArM-Empfehlung [3] nicht erfüllen.

### ■ Hygienisch-mikrobiologische Kontrollen an Realinstrumenten

Bei der hygienisch-mikrobiologischen Prüfung aufbereiteter Endoskope erfolgt der Nachweis überlebender Mikroorganismen durch klassisch mikrobiologische Kultivierungsverfahren mittels Anzucht auf geeigneten Universalnährmedien sowie Selektivmedien. Das in Anlage 10 [4] zur Leitlinie beschriebene Verfahren sieht neben Abstrichproben von kritischen zugänglichen Endoskopoberflächen insbesondere auch die Beprobung des Kanalsystems vor. Hierzu müssen verbliebene überlebensfähige Mikroorganismen in den geometrisch komplexen Kanälen durch Elution mit geeigneten Elutionsmitteln ausgespült und auf Nährmedien kultiviert werden. Können bei der Elution Rückstände des Desinfektionsmittels in den Kanälen nicht ausgeschlossen werden, so müssen jeweils geeignete Neutralisationsmedien dem Eluat zugegeben werden, um wachstumshemmende Effekte der Desinfektionsmittelrückstände aufzuheben. Probleme hinsichtlich der hygienischen Bewertung der aufbereiteten Endoskope resultieren im Fall einer unzureichenden Elution, d.h. bei Wiederfindungsraten des Elutionsverfahrens von deutlich unter 100%, da nur die eluierbare Teilpopulation vorhandener Mikroorganismen quantitativ erfasst und bewertet werden kann. Die resultierende Bewertung der vorliegenden Mikroorganismenzahl auf Basis falsch-negativer Testergebnisse ist daher bei der derzeit empfohlenen Untersuchungsmethode als nicht sicher zu bezeichnen.

### ■ Wiederfindungsraten

Die Quantifizierung der Wiederfindungsrate von Mikroorganismen in Endoskopkanälen von Realinstrumenten ist Gegenstand aktueller Diskussionen und Untersuchungen. Gesicherte und reproduzierbare Ergebnisse zur Wiederfindungsrate von Mikroorganismen aus Kanalgeometrien liegen nur für die gut charakterisierten Endoskopprüfkörper mit definierter Prüfanschmutzung und bekannten Prüforganismen entsprechend Anlage 9 [13] vor. Eine Elution basierend auf der Injektion von 50 ml NaCl-Lsg. führt bei diesen Prüfkörpern zu Wiederfindungsraten zwischen 0,1 – 2 %, was durch zahlreiche Arbeiten und durch Vergleichsuntersuchungen der vorhergehenden Methodengruppe demonstriert wurde [11, 12, 18–20]. Diese Wiederfindungsrate ist als zu erfüllendes Kriterium bei der Spezifizierung bzw. Qualitätssicherung hergestellter Anlage-9-Prüfkörper einzuhalten [13], da hierüber belegt wird, dass diese Prüfkörper definiert hohe Anforderungen an einen Aufbereitungsprozess stellen.

Aumeran *et al.* zeigten unter Verwendung eines künstlichen in PTFE-Schläuchen angezüchteten *P. aeruginosa*-Biofilms, dass bei Verwendung des komplex zusammengesetzten Elutionsmittels Lethen Broth höhere Wiederfindungsraten im Vergleich zu NaCl-Lsg. oder Wasser erhalten wurden; eine Beprobung von aufbereiteten Realinstrumenten ergab bei Verwendung von Lethen Broth ebenfalls eine höhere Anzahl von wiedergewonnenen Mikroorganismen [9]. Richard *et al.* führten Untersuchungen an aufbereiteten Realinstrumenten durch. Hierbei wurde unter Anwendung einer repetitiven (zweimaligen) Beprobung entsprechend ISO 11737-1 [21] und einer nachfolgenden Berechnung eine Abschätzung der Wiederfindungsrate von aus den Kanälen eluierten Mikroorganismen vorgenommen. Für die Elution der Kanäle der Realinstrumente wurden die Elutionsmittel 0,9 % NaCl-Lsg., DNP-Lsg., FHM-Lsg. und T+Thio-Lsg. eingesetzt. Es wurden zwei aufeinander folgende Elutionen der Kanäle durchgeführt, die berechneten Wiederfindungsraten lagen für T+Thio-Lsg. bei ca. 92%, für DNP-Lsg. bei ca. 87%, für FHM-Lsg. bei ca. 77% und für NaCl-Lsg. bei ca. 2% [5–8]. Aufgrund der höchsten Wiederfindungsrate setzten Pineau *et al.* für nachfol-

gende Untersuchungen standardmäßig T+Thio-Lsg. ein. Cattoir *et al.* setzten für eine Studie PTFE-Schläuche ein, die entweder *K. pneumoniae* oder einen Biofilm aus *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* und *S. epidermidis* enthielten. Als Elutionsmittel wurden „Neutralizing Pharmacopoeia Diluent“ (NPD) oder physiologische Saline (NaCl-Lsg.) alleine oder in Kombination mit Einmal-Endoskopbürsten oder dem Pull Thru®-System (Fa. F.R. GALANTAI MANUFACTURING LTD., Neuseeland) eingesetzt. Für alle vier untersuchten Elutionsmethoden ergaben sich statistisch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Wiederfindungsrate [10].

Die hier dargestellten Ergebnisse der Methodengruppe 2.0 konnten unter Beteiligung von neun Laboren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Wiederfindungsrate unter Einsatz der vier verschiedenen Elutionsmittel NaCl-Lsg., DNP-Lsg., FHM-Lsg. und T+Thio-Lsg. unter Verwendung von Prüfkörpern nach Anlage 9 belegen. Die von der Methodengruppe 2.0 an Prüfkörpern erzielten Ergebnisse differieren zu den von Richard *et al.* [5–8] an aufbereiteten Realinstrumenten erzielten Ergebnissen. Die Ursache hierfür liegt darin, dass die Untersuchungen der Methodengruppe 2.0 an Prüfkörpern mit definiertem Prüforganismengehalt unter Verwendung einer definierten Prüfanschmutzung ohne einen Aufbereitungsprozess durchgeführt wurden. Im Gegensatz dazu wurden die Untersuchungen von Richard *et al.* an aufbereiteten unterschiedlichsten Realinstrumenten durchgeführt, die mutmaßlich unterschiedlichste Anschmutzungen und Mikroorganismengehalte aufwiesen. Da der tatsächlich nach der Aufbereitung vorhandene Mikroorganismengehalt (Bioburden) nicht bekannt war, musste die Wiederfindungsrate über eine wiederholte, zweimalige Elution und anschließende Berechnung bestimmt werden. Weiterhin können verbliebene Desinfektionsmittelrückstände in den aufbereiteten Endoskopen zu unterschiedlichen Ergebnissen im Vergleich zu den Prüfkörpern führen. Die Elutionsmittel FHM-Lsg., DNP-Lsg. und T+Thio-Lsg. enthalten Caseinpepton, Tween 80, Lecithin, Histidin bzw. Histidinhydrochlorid oder Natriumthiosulfat, die als Enthemer verbreitet zur Neutralisation von Desinfektionsmitteln eingesetzt

werden. Folglich ist beim Einsatz dieser drei Elutionsmittel bei aufbereiteten Realinstrumenten von einer wirkungsvollen Neutralisation enthaltener Desinfektionsmittelrückstände auszugehen. Im Gegensatz dazu hat NaCl-Lsg. keine Neutralisations-Eigenschaften, sodass entsprechend Anlage 10 [4] der Leitlinie die Zugabe von zusätzlichen Enthemmern zum aufgefangenen Eluat vorzunehmen ist.

Ein positiver Einfluss von organischen Substanzen wie Caseinpepton, Tween 80, Lecithin, Histidin oder Natriumthiosulfat auf die Suspendierbarkeit, d.h. Ablösung und Eluierung von Mikroorganismen aus dem geometrisch komplexen Lumen von Endoskopkanälen erscheint nicht plausibel, da davon auszugehen ist, dass Mikroorganismen auf der Kanaloberfläche eingebettet in Anschmutzungsrückstände vorliegen. Da die als Enthemmer bekannten Substanzen mit Ausnahme von Tween 80 über keine grenzflächenaktive Wirkung verfügen und auch die grenzflächenaktive Wirkung von Tween 80 nicht über die Wirkung der Tenside in Instrumentenreinigern hinausgeht, kann nicht von einem plausiblen ableitbaren Effekt hinsichtlich einer verbesserten Ablösung verbliebener Anschmutzungen und Mikroorganismen ausgegangen werden.

Die durchschnittlichen Wiederfindungsraten ( $WFR_B$ ) für alle vier untersuchten Elutionsmittel bei Einsatz von mit koaguliertem Schafblut und *Enterococcus faecium* kontaminierten Anlage-9-Prüfkörpern, differierten um 0,51% (Maximum: T+Thio-Lsg. mit  $WFR_B = 2,04 \pm 2,29\%$  [ $n=33$ ] und Minimum FHM-Lsg. mit  $WFR_B = 1,53 \pm 1,68\%$  [ $n=33$ ]). Auf Basis der erzielten Ergebnisse ist davon auszugehen, dass die Zusammensetzung von Elutionsmitteln bei Elution von Anlage-9-Prüfkörpern, ohne dass diese einem Aufbereitungsprozess unterzogen wurden, keinen Einfluss auf die Wiederfindungsrate von Mikroorganismen aus Kanalgeometrien hat.

## ■ Ausblick

Gegenwärtige und zukünftige Arbeiten der Methodengruppe 2.0 liegen auf der Erhöhung der Wiederfindungsrate bei der Elution von Mikroorganismen aus Kanalgeometrien unter Einsatz alternativer Spültechniken und der Implementierung einer stärkeren mechanischen Unterstützung [22, 23] im Sinne eines flush-brush-flush-Verfahrens.

## ■ Danksagung

Wir danken für technische Unterstützung und die Durchführung experimenteller Arbeiten bei Britta Kusch (Hücker & Hücker GmbH), Ulrike Orschel (HYBETA GmbH), Elena Imenova und Dörte Bünting (HygGen Germany GmbH), dem mikrobiologischen Labor der Fa. Lysoform Dr. Hans Rosemann GmbH, Janina Neidhardt (SAL-GmbH), Jasmin Felsl und Irmgard Gerlach (Simicon GmbH), Dr. Christin Uhlig (Valitech GmbH & Co. KG), Per Stalinsky (Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit der Universitätskliniken Bonn), Alexander Hammermeister (wfk – Cleaning Technology Institute e.V.).

## ■ Literatur

- 1 Medizinproduktebetriebsverordnung, MPBetreibV, [www.gesetze-im-internet.de/mpbetreibv/](http://www.gesetze-im-internet.de/mpbetreibv/)
- 2 DGKH, DEGEA, DGSV, DGVS und AKI: Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope. ZentralSteril, Supplement 3, 2011, mhp Verlag, Wiesbaden
- 3 Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM): Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Bundesgesundheitsbl 2012; 55: 1244–1310.
- 4 Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene, DGKH e.V.: Hygienisch-mikrobiologische Überprüfung von flexiblen Endoskopen nach ihrer Aufbereitung. HygMed 2010;35(3): 75–79.
- 5 Richard M., Luu Duc D., Pineau L.: Efficacy of recovery solutions for endoscopes sampling: a comparative study. SHEA 19<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting, San Diego, March 1<sup>st</sup> 2009
- 6 Pineau L.: Flexible Endoscopes Reprocessing – Retrospective analysis of 7818 endoscope samples. WFHSS Conference, November 23<sup>rd</sup> 2012, Osaka, Japan
- 7 Pineau L., De Philippe E.: Evaluation of endoscope cleanliness after reprocessing: a clinical-use study. CentralService 2013;21(1): 22–27.
- 8 Pineau L.: Endoscope Storage/Drying Cabinet: Importance of Qualification. WFHSS Conference, October 9<sup>th</sup> 2015, Lille, France
- 9 Aumeran C., Thibert E., Chapelle F.A., Hennequin C., Lesens O., Traore O.: Assessment on Experimental Bacterial Biofilms and in Clinical Practice of the Efficacy of Sampling Solutions for Microbiological Testing of Endoscopes. J. Clin. Microbiol. 2012;50(3): 938–942.
- 10 Cattoir L., Vanzielegem T., Florin L., Helleputte T., De Vos M., Verhasselt B., Boelens J., Leroux-Roels I.: Surveillance of Endoscopes: Comparison of Different Sampling Techniques. Inf. Control Hosp. Epidemiol. 2017;38(9): 1062–1069.
- 11 Schäfer, F.: Untersuchungen zur Standardisierung von Prüfmethode für Reini-

- gungs und Desinfektionsgeräte zur Aufbereitung flexibler Endoskope mit dem Prüforganismus *Enterococcus faecium*. Inaugural-Dissertation 2019, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- 12 Kumor, M. G.: Anwendung verschiedener Untersuchungsmethoden zur Rückgewinnung von *Pseudomonas aeruginosa* bei der Standardisierung einer Prüfmethode zur Aufbereitung von flexiblen Endoskopen nach DIN ISO/TS 15883-5. Inaugural-Dissertation 2013, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- 13 Kircheis U., Wehrl M.: Methode zur Überprüfung der Gesamtprozessleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. Zentr Steril 2012;20(4): 240–244.
- 14 DIN ISO/TS 15883-5:2006-02: Reinigungs-Desinfektionsgeräte – Teil 5: Prüfanschmutzungen und -verfahren zum Nachweis der Reinigungswirkung. Beuth-Verlag, Berlin
- 15 Ministère des Solidarités et de la Santé: DIRECTION GENERALE DE LA SANTE – DIRECTION DE L'HOSPITALISATION ET DE L'ORGANISATION DES SOINS – Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins Conseil supérieur d'hygiène publique de France: ELEMENTS D'ASSURANCE QUALITE EN HYGIENE RELATIFS AU CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE DES ENDOSCOPES ET À LA TRAÇABILITE EN ENDOSCOPIE. 14 avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP. <http://www.sante.gouv.fr>
- 16 European Pharmacopoeia, Fourth Edition 2002, Chapter 2 Methods of analysis – abstracts, page 10
- 17 Wehrl M., Kircheis U.: Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. ZentrSteril 2011;19(5): 352–356.
- 18 Zühlsdorf B., Martiny H.: Intralaboratory reproducibility of the German test method of prEN ISO 15883-1 for determination of the cleaning efficacy of washer-disinfectors for flexible endoscopes. J Hosp Infect 2005;59: 286–291.
- 19 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.
- 20 Wehrl M., Kircheis U.: Entwicklung und Etablierung von Prüfkörpermodellen für die Quantifizierung von Aufbereitungsprozessen für thermolabile flexible Endoskope. 46<sup>th</sup> International Detergency Conference. Düsseldorf, 11. April 2013
- 21 DIN EN ISO 11737-1: Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge - Mikrobiologische Verfahren – Teil 1: Bestimmung der Population von Mikroorganismen auf Produkten. Beuth-Verlag, Berlin
- 22 Dietze B., Kircheis U., Schwarz I., Martiny H.: Freely Accessible Endoscope Channels Improve Efficacy of Cleaning. Endoscopy 2001;33(6): 523–528.
- 23 Pietsch M., Kraft B., Kohnen W.: Wirksamkeit der Bürstenreinigung für die Keimelimination aus Endoskopkanälen. ZentrSteril 2016;24(1): 24–26.