

# ZENTRAL STERILISATION

D 2596 F

4/2005 Juli/August 13. Jahrgang

Internationale Zeitschrift für Sterilgutversorgung

International Journal of Sterile Supply

# 4

## Pack Integrity

Foto: Wipak

**Standardisation/Normen:  
Software and Safety**  
*Software und Sicherheit*

**Effective Cleaning  
Processes and "Efficacy  
against Prions"**

*Effiziente Reinigungsprozesse  
und „Prionen-Wirksamkeit“*

**Pack Integrity Test**

*Prüfung der Packungsintegrität*

**Quality Task Group/  
AK Qualität:**

**Storage Period for Sterile  
Medical Devices**

*Lagerdauer für sterile Medizin-  
produkte*

**DGSV**  
Deutsche Gesellschaft für  
Sterilgutversorgung e.V.

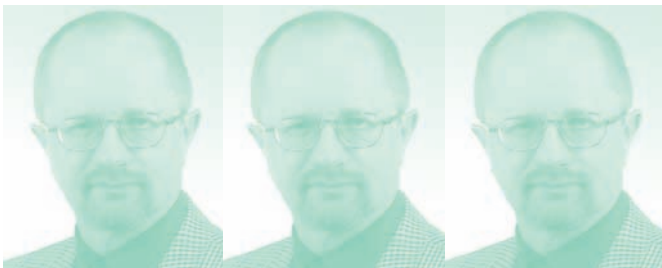
**mhp**  
Verlag GmbH

**W**ir leben in einem Zeitalter des immer schnelleren und umfassenderen Informationsaustausches. Die Wahrnehmungs- und Speicherfähigkeit des menschlichen Gehirns scheint sich indessen nicht mit der gleichen Dynamik weiter zu entwickeln, weshalb wir angesichts der täglichen Informationsflut zum einen nach Neuigkeitswert selektieren, zum anderen unseren begrenzten „Speicherplatz“ ständig wieder für Neues frei machen müssen. So kommt es, dass Dinge, die heute die Welt bewegen, morgen in Vergessenheit geraten sind oder nur noch wenige Spezialisten sich mit diesen Themen beschäftigen. Es gibt dafür zahllose Beispiele, eines davon sind die Ereignisse, die vor kurzem noch als BSE-Krise die Gemüter erregten. Heute ist dieses Thema und seine langfristigen Auswirkungen bei vielen in fast in Vergessenheit geraten. Die Arbeit von Rosenberg greift es im Zusammenhang mit der Reinigung von Medizinprodukten wieder auf. Dies sollte uns unter Anderem auch daran erinnern, dass Ursache und Wirkung nicht unbedingt in einem zeitlich leicht überschaubaren Zusammenhang stehen müssen, gerade deshalb aber nicht weniger Risiko bergen und wir auf der Hut sein

sollten – auch in Zeiten, in denen das Thema BSE und CJK aus den Schlagzeilen verschwunden ist.

Fragen der Sterilisation haben in den letzten Jahren in der Fachwelt, verglichen mit der Problematik der Reinigung, weniger Interesse erfahren. Umso erfreulicher ist es, dass mit der Arbeit von Overthrow und White wieder ein Thema aus dem Bereich der Sterilisation präsentiert wird. Sie haben sich mit der Lagerdauer – hier definiert als Integrität der Verpackung – beschäftigt, und mit Hilfe eines einfachen Testaufbaus die Barrierewirkung verschiedener Sterilisationsverpackungen untersucht.

Sommerzeit steht für viele von uns für Urlaub, Erholung, Zeit für Familie und Freunde. Auch wenn der Sommer in Deutschland in diesem Jahr viele Erwartungen offen lässt, so wünschen Ihnen, liebe Leserinnen und Leser, Verlag, Schriftleitung und Redaktion, dennoch Zeit und Muße zum Ausruhen, Seele baumeln lassen und Kraft schöpfen. Denken Sie daran: Infektionserreger machen keinen Urlaub und fordern immer wieder unsere Aufmerksamkeit und unseren vollen Einsatz. ◀



**W**e are living in an age where information is exchanged at an increasingly faster pace and in greater volumes. But it appears that the capacity of the human brain to process and store information is not developing at the same rate, which explains why faced with a daily avalanche of information we have to, first, adopt a selective approach to new data and, second, constantly ensure that we keep some of our limited “storage capacity” free for this new information. This in turn means that issues that are of global interest one day are forgotten the next day or that only a few specialists will now deal with these topics. There are numerous examples of such cases, one being the findings relating to the BSE crisis which recently elicited widespread interest. Today, this topic and its long-term implications are practically forgotten by most people. Rosenberg’s paper addresses this problem once again with respect to the cleaning of medical devices. This should bring to mind that, among other things, cause and effect need not necessarily be assignable to the same short pe-

riod of time and that, precisely for that reason, the risk posed is no less and that, as such, we must remain vigilant – even in times when the topic of BSE and CJD is no longer in the headlines.

In recent years, sterilisation issues have generated less interest in specialist circles than have the problems relating to cleaning. It is thus all the more opportune that the paper presented by Overthrow and White now deals with the subject of sterilisation. Here the authors focus on the storage duration – defined in this paper as the pack integrity – and, using a simple test design, they have investigated the barrier effect of various forms of sterilisation packaging.

For many of us, summer time means holidays, relaxation, time for family and friends. Even if the weather has proved somewhat disappointing this summer in Germany, the editors and editorial staff wish you, dear readers, a relaxing time to replenish body and soul. Don’t forget: infectious organisms take no holidays and always call for vigilance and complete preparedness. ◀

**Schlüsselwörter**

- Reinigungs- und Desinfektionsgeräte (RDG)
- Alkalische Reinigung
- Enzymatische Reinigung
- 2-Komponenten-Reinigungssysteme
- Reinigungsleistung
- Radionuklidmethode
- Prionen
- Western Blot

# Effiziente Reinigungsprozesse und „Prionen-Wirksamkeit“

U. Rosenberg

**I**n vorliegender Arbeit wird mit unterschiedlichen experimentellen Ansätzen gezeigt, dass es für alkalische Reinigungsmittel kein Leistungsoptimum bei 55 °C gibt, sondern dass die besten Resultate bei Temperaturen von 70 °C aufwärts erzielt werden. Eine alkalische Reinigung bei 90 °C ist mindestens ebenso effektiv wie das sogenannte OxiVario-Verfahren. Mit zwei neu entwickelten 2-Komponenten-Reinigungssystemen mit enzymatischer Komponente – das eine im alkalischen, das andere im neutralen Bereich – wird schon bei 55 °C eine Reinigungsleistung erzielt, die mit jener eines alkalischen Prozesses bei hoher Temperatur vergleichbar ist. Bei Reinigungsversuchen, ob im Reinigungs- und Desinfektionsgerät (RDG) oder im Tauchversuch, ist auf eine praxisnahe Durchführung zu achten, ansonsten die Resultate zu falschen Schlüssen, ja in die Irre führen können. Die Erkenntnis bezüglich des Temperatureinflusses auf das Resultat alkalischer Reinigungsprozesse kann auf die Destabilisierung infektiöser Prionproteine ausgedehnt werden. Die Effektivität dieser Destabilisierung, für die eine Alkalität mit einem pH > 11 notwendig ist, nimmt ebenfalls mit steigender Temperatur zu.

## Einleitung

Die Instrumentenaufbereitung in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) wird schon seit vielen Jahren betrieben. In Deutschland und in angrenzenden Ländern war lange Zeit das „Seuchen“- oder „BGA-Programm“ des Bundesgesundheitsamts (heute Robert-Koch-In-

stitut (RKI)) das Standard-Reinigungsverfahren. Für dieses Verfahren wurden stark alkalische Reiniger verwendet. Dabei wurde ohne eine vorgeschaltete Wasserspülung die Reinigungslösung auf 93 °C aufgeheizt und die Reinigung bei dieser Temperatur während 10 Minuten fortgesetzt. Sofern nicht durch Verseifung Schaum im RDG produziert wurde, war das Reinigungsergebnis ausgezeichnet. Weil aber zunehmend empfindliche Instrumente, vor allem solche der minimal invasiven Chirurgie (MIC) eingesetzt wurden, gab es immer häufiger Materialverträglichkeitsprobleme. Dem Bedürfnis nach milderem Prozess wurde mit der Einführung des sogenannten Vario Programms gefolgt von der Einführung neutraler und neutral-enzymatischer Reinigungsmittel Rechnung getragen. Das Materialverträglichkeitsproblem war damit gelöst, dafür war jetzt das Reinigungsergebnis des öftern nicht zufrieden stellend und es traten auch Verfärbungen von Instrumenten und RDG's auf. Die häufigere Notwendigkeit der manuellen Vor- und Nachreinigung war die Folge.

Zwei Dinge haben in der näheren Vergangenheit den Teil Reinigung des Aufbereitungsprozesses in den Brennpunkt des Interesses gerückt, nämlich erstens die Arbeit an der Norm prEN ISO 15883, die sich mit den Anforderungen an RDG's und den darin ablaufenden Prozessen befasst und zweitens das Auftauchen der Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) in der Folge von BSE (Rinderwahnsinn) mit dem ursächlichen Agens, dem infektiösen Prionprotein, welches mit den üblichen Sterilisationsmethoden nicht zu zerstören ist. Wegen letzterem ist es

definitiv unmöglich geworden, sich mit dem Argument zu entschuldigen: „Macht nichts wenn das Instrument nicht 100% sauber ist, es wird ja sowieso sterilisiert“.

Als Folge der Prionen-Problematik hat die alkalische Reinigung durch eine Mitteilung des RKI eine offizielle Wiedergeburt erlebt (1). Durch verschiedene Arbeiten, die sich mit der Wirkung von alkalischen Reinigungsmitteln auf Prionen befasst haben (2, 3, 4, 5, 6, 7), wissen wir heute, dass die Forderung des RKI prinzipiell richtig war. Dass in der besagten Mitteilung des RKI eine untere pH-Wert-Grenze, nämlich pH 10, angegeben wurde, war aber eher unglücklich. In Leserbriefen wurde denn auch auf diesen Umstand hingewiesen (8, 9). Können Reinigungsleistung und „Prionen-Wirksamkeit“ über den pH-Wert definiert werden? Gibt es andere wichtige Faktoren, die eine Rolle spielen? Ist es überhaupt möglich, mit einem Reinigungsprozess im neutralen pH-Bereich ein wirklich gutes Resultat zu erzielen? Solche Fragen waren Anstoß für die vorliegende Arbeit. Die sich aus den genannten allgemeinen Fragen ergebende konkrete Fragestellung kann in drei Themen unterteilt werden:

- Welcher Verfahrensablauf bei der alkalischen Reinigung ergibt die besten Reinigungsergebnisse?

\* Dr. Urs B. Rosenberg, Scientific Affairs, Borer Chemie AG, Gewerbestr. 13, CH-4528 Zuchwil  
E-mail: urs.rosenberg@borer.ch

- Wie kann man die Effektivität neutraler oder „milder“ Reinigungsprozesse erhöhen?
- Ist es möglich, unter Prozessbedingungen der Routine eine „Prionen-Wirksamkeit“ zu erreichen? Bedeutet eine gute Reinigungsleistung auch eine gute „Prionen-Wirksamkeit“?

In Bezug auf die erste Frage gibt es in der Literatur unterschiedliche Meinungen. Einerseits wurde mit verschiedenen Experimenten gezeigt, dass mit alkalischen Reinigern am besten bei 55 °C gearbeitet wird (10, 11, 12). Die Versuche von Dogs und Pfeifer (13) sowie eigene Erfahrungen sagen uns andererseits, dass die alkalische Reinigung bei hohen Temperaturen (70–90 °C) die besten Resultate liefert. Auch die Erfahrungen mit dem BGA-Programm (siehe oben) zeigten früher schon in dieser Richtung. Die vorliegende Arbeit sollte endgültig Klarheit schaffen.

Die in der zweiten Frage angesprochenen neutralen Reinigungsmittel basieren zu einem guten Teil auf Tensiden. Mit Enzymen, insbesondere den Proteasen, kann man die Leistungsfähigkeit neutraler Reiniger gegenüber proteinhaltigem Schmutz, wie man ihn bei der Instrumentenaufbereitung vorfindet, zumindest theoretisch, stark steigern. Man muss jedoch wissen, dass ein Reinigungsmittel neben seiner Reiniger-Funktion auch andere Funktionen ausüben muss. Solche anderen Funktionen sind z. B. das Binden der Wasserhärte und das Verhindern der Ablagerung von Silikaten und anderen unerwünschten Verbindungen auf dem Spülgut und auf den Kammerwänden des RDG. Alle gewünschten bzw. notwendigen Funktionen als Bausteine in einem einzigen, lagerfähigen Produktkonzentrat derart unterzubringen, dass sie alle später im Einsatz ihre maximale Leistung entfalten können, ist praktisch ein Ding der Unmöglichkeit. Beispielsweise wird die Stabilität von Enzymen und dadurch auch ihre Wirkung durch die Härte-bindenden Komplexbildner stark reduziert, um ein bedeutendes Problem zu nennen. Dieses Formulierungsproblem herkömmlicher Reiniger kann durch eine physische Trennung sich gegenseitig störender Bausteine in

zwei separate Komponenten gelöst werden. Diese zwei Komponenten, die als Konzentrate hergestellt, transportiert und gelagert werden, werden dabei erst im Moment ihrer Verwendung im Reinigungs- und Desinfektionsgerät (RDG) vereint, d. h. in ein und dieselbe Waschflotte dosiert. Zwei nach diesem Prinzip formulierte 2-Komponenten-Reinigungssysteme, eines im pH-neutralen und eines im alkalischen Bereich, wurden in vorliegender Arbeit auf ihre Leistungsfähigkeit hin untersucht.

Von den Prionen, dem Thema der dritten Frage, weiß man, dass sie im hochalkalischen Milieu (pH 14) zu zerstören sind. Eine Zusammenfassung der entsprechenden Literatur findet sich z. B. bei Taylor (14). In der neuesten Literatur ist gezeigt worden, dass alkalische Reinigungsmittel mit pH-Werten deutlich unter 14 sowohl zu einer Destabilisierung des Prionproteins, gemessen am Verschwinden der Proteinase K-Resistenz (3, 4, 5), als auch zur Reduktion oder zum Verschwinden der Infektiosität im Tierversuch (2, 4, 5, 6) führen. In vorliegender Arbeit sollte die Frage nach den Bedingungen der „Prionen-Wirksamkeit“ eines Prozesses beantwortet sowie die Verbindung zur Reinigungsleistung hergestellt werden.

## Material und Methoden

### Eingesetzte Reinigungsmittel

Es kamen drei Reinigungsmittel zum Einsatz:

- deconex 28 ALKA ONE, ein alkalischer Reiniger auf Basis von Kaliummetasilikat (ohne KOH), nachfolgend „28AO“ genannt
- deconex TWIN BASIC, ein schwach alkalischer Reiniger auf Phosphat-Basis, nachfolgend „TB“ genannt
- deconex TWIN ZYME, ein Konzentrat mit Proteasen, Amylase und Tensiden, nachfolgend „TZ“ genannt

28AO kam sowohl alleine als auch in Kombination mit TZ zum Einsatz. TB wurde immer zusammen mit TZ eingesetzt. Die verwendeten Konzentrationen sowie die resultierenden pH-Werte sind im Ergebnisteil dokumentiert.

### Prüfkörper und Prüfanschmutzungen

Für die Tauchversuche wurden TOSI Prüfkörper der Firma PEREG GmbH ohne die Acrylglasabdeckung verwendet. Die Vorbereitung und Beladung der Edelstahl-Sinterkörper für die Versuche im Reinigungs- und Desinfektionsgerät mit der darauf folgenden gravimetrischen Auswertung erfolgte wie beschrieben (15), mit dem Unterschied, dass die präparierten Prüfkörper vor der Verwendung zusätzlich einer Behandlung (Denaturierung) mit 30% Ethanol während 15 Minuten unterzogen und danach nochmals bei 50 °C getrocknet wurden. Andere Edelstahl- sowie zusätzliche Borosilikatglas-Sinterkörper (16) wurden mit je 100 µl reaktiviertem, koagulierendem Schafblut, das mit radioaktivem Technetium (Tc 90) markiert war, kontaminiert. Die Trocknung dieser Prüfkörper erfolgte bei 45 °C während 30 min. Die Anschmutzung von Crile-Klemmen mit je 100 µl koagulierendem, mit Technetium markiertem Schafblut erfolgte wie beschrieben (17).

### Verfahren zur Überprüfung der Reinigungsleistung

Die maschinellen Prozesse erfolgten in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) der Firmen Miele (Miele G 7735) und Hamo (Hamo LS-850). Beide RDG's werden elektrisch beheizt. Die Heizrate des Miele-Geräts betrug ca. 6 °C/min, jene des Hamo-Geräts ca. 5 °C/min. Alle Versuche unter Verwendung der Radionuklid-Methode wurden im Auftrag von Borer Chemie AG bei der Firma SMP GmbH in Tübingen durchgeführt, wo das Miele-Gerät zur Verfügung stand. Alle anderen Reinigungsversuche erfolgten in den Laboren der Firma Borer Chemie AG. Die Temperaturoaufzeichnung der Prozesse erfolgte mit Loggern der Firma ebro Electronic GmbH. Die Details der maschinellen Verfahren sind im Ergebnis-Teil beschrieben.

Bei den Tauchversuchen wurden die TOSI Prüfkörper stehend und ohne jegliche Mechanik (Rühren) in einem 50 ml Becherglas inkubiert. Das Becherglas wurde seinerseits in ein Wasserbad (Jul-

abo Paratherm II) gestellt, dessen Heizleistung (gemessen im Becherglas, in unmittelbarer Nähe des TOSI) mit Hilfe eines zusätzlichen Tauchsieders auf ca. 5,5 °C/min erhöht wurde. Dieser Wert entspricht also ungefähr der Heizleistung eines RDG. Der Temperaturverlauf wurde gemessen und aufgezeichnet mit einem Sonden-Messgerät vom Typ ECOLOG TN4-L der Firma Elpro-Buchs AG.

Der Ablauf der Versuche im Einzelnen war wie folgt:

- Das Wasserbad wurde mit 3,5 Liter frischem VE-Wasser gefüllt.
- Ein 50 ml Becherglas wurde, gefüllt mit 50 ml VE-Wasser, in das Wasserbad gestellt
- TOSI und Temperatursonde wurden in das Becherglas abgesenkt und die Zeitmessung wurde gestartet
- Nach 2,5 Minuten (Simulation der Vorspülung) wurden beide Heizungen eingeschaltet
- Bei Erreichen von 30 °C wurde das Reinigungsmittel zudosiert (deconex 28 ALKA ONE und deconex TWIN BASIC: 150 µl; deconex TWIN ZYME: 100 µl)
- Nach Ablauf von 16:20 min (Versuch 1); 12:48 min (Versuch 2); 10:36 min (Versuch 3); 9:23 min (Versuch 4); 8:37 min (Versuch 5); 7:44 min (Versuch 6); 7:57 min (Versuche 7a und 7b) wurden beide Heizungen ausgeschaltet
- Nach Ablauf von 17:20 min wurde der Prüfkörper aus der Lösung herausgenommen und zweimal kurz, senkrecht in ein Becherglas mit VE-Wasser getaucht und dann zum Trocknen aufgestellt
- Ein frischer TOSI Prüfkörper wurde für 5 Minuten in die heiße Lösung gestellt, danach herausgenommen, zweimal in VE-Wasser getaucht und zum Trocknen aufgestellt

#### **Experimente zu Destabilisierung/ Abbau des infektiösen Prionproteins**

Die Experimente wurden im Auftrag von Borer Chemie AG durch die Firma SMP GmbH am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), früher Bundesforschungsan-

stalt für Viruskrankheiten der Tiere (BFAV) in Tübingen, durchgeführt. Als infektiöses Basismaterial wurde ein 10%-iger Hirnextrakt von Scrapie 263K-infizierten Hamstern verwendet (6). Das Versuchsprotokoll der in vitro Versuche (Western Blot Versuche) war wie folgt:

- Der 10%-ige Hirnextrakt wurde mit Phosphatpuffer (PBS) 1:1 verdünnt
- Die Reinigungsmittel wurden in Stadtwasser auf die doppelte Einsatzkonzentration verdünnt (auf die 4-fache Konzentration im Falle des Einsatzes zweier Komponenten)
- 50 µl des verdünnten Hirnextrakts (5%) wurden zu 50 µl verdünntem Reinigungsmittel(gemisch) hinzu pipettiert
- Das Reagenzgefäß mit der Mischung wurde im auf Zieltemperatur vorgeheizten Wasserbad während 10 Minuten inkubiert
- Danach wurde die Lösung durch Zugabe von 50 µl 100 mM Tris-HCl, pH 7,5 neutralisiert und gut gemischt
- Je 30 µl dieser neutralisierten Mischung wurden in zwei frische Reagenzgefäße pipettiert
- In eines der beiden Gefäße wurden 3 µl einer verdünnten Lösung Proteinase K (1:40 Verdünnung einer Stocklösung (Qiagen) von 20 mg/ml) pipettiert
- Beide Reagenzgefäße wurden während 60 min bei 37 °C inkubiert
- Danach wurden je 10 µl 4-fach konz. Gelladepuffer dazu pipettiert gefolgt von einer Inkubation bei 70 °C während 10 min
- Nach der anschließenden, 5 min dauernden Abkühlung auf Eis erfolgte Elektrophorese und Western Blot auf einem NuPAGE Gel System von Invitrogen.
- Prionprotein-Banden wurden mit Hilfe des WesternBreeze Chemiluminescent Kit von Invitrogen unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers 3F4 (DAKO, Verdünnung 1:2000) sichtbar gemacht.

Die im Ergebnis-Teil aufgeführten pH-Werte wurden ermittelt, indem die Rei-

nigungsmittel-Verdünnungen anstatt mit Hirnextrakt mit Phosphatpuffer gemischt wurden und zwar in einem Volumen, das die Messung mit einer pH-Elektrode ermöglichte.

## **Ergebnisse**

### **Versuche im Reinigungs- und Desinfektionsgerät**

#### ***Crile-Klemmen angeschmutzt mit koagulierendem Schafblut – Reinigungsnachweis mit Hilfe der Radionuklid-Methode***

Versuche mit anderen Reinigungsmitteln/-systemen, insbesondere mit dem OxiVario-System, unter Verwendung dieses Reinigungsmodells sind kürzlich publiziert worden (17). Die in vorliegender Arbeit beschriebenen Experimente sind von den gleichen Experimentatoren am gleichen Ort und im gleichen RDG durchgeführt worden. Die Resultate können also sehr gut miteinander verglichen werden. In Abbildung 1 wurden deshalb auch die Resultate zweier Versuche aus der Publikation von Draghici et al. (17) integriert.

Bei unseren Versuchen ging es einerseits um die Ermittlung der Reinigungsleistung der neuen 2-Komponenten-Reinigungssysteme und andererseits um die Frage nach dem Einfluss der Reinigungstemperatur auf die alkalische Reinigung. Um die zweite Frage richtig beantworten zu können, wurden die Plateau-Zeiten (Haltezeiten) unter Anpassung an die Heizleistung des RDG so gewählt, dass bei den drei gewählten Temperaturen von 55, 70 und 90 °C die Gesamtreinigungszeit ungefähr gleich lang war. Die entsprechenden Temperaturkurven sind in Abbildung 1a dargestellt. Abbildung 1b zeigt die radioaktive Restkontamination pro Sieb (beladen mit 20 Crile-Klemmen) nach der Reinigung. Wie schon in der Arbeit von Draghici et al. (17) ersichtlich, reinigt das verwendete RDG auf der oberen Etage schlechter als auf der unteren. In der Abbildung 1c sind pro Versuch jene Klemmen im Balkendiagramm aufgeführt, welche bei der Einzelmessung mehr als 5 Counts/s aufwiesen. Dieser Grenzwert, der auch in der oben zitierten Arbeit verwendet wurde, ist von Heeg et al. (18) und

Roth et al. (19) auf Basis einer früheren Arbeit (20) definiert worden.

Die vorliegenden Resultate zeigen folgendes:

- Der alkalische Reiniger zeigt bei 55 °C die schlechteste Leistung, bei 90 °C die beste.
- Mit beiden 2-Komponenten-Reinigungssystemen – dem alkalischen wie dem neutralen – kann eine ähnlich gute Leistung erzielt werden wie mit dem alkalischen Reiniger bei hoher Temperatur.
- Mit dem alkalischen Reiniger kann bei 90 °C eine mindestens ebenso gute Leistung erbracht werden wie mit dem sogenannten OxiVario-Verfahren, welches von Michels und Pieper eingeführt wurde (21).

**Edelstahl-Sinterkörper und Borosilikatglas-Sinterkörper angeschmutzt mit koagulierendem Schafblut – Reinigungsnachweis mit Hilfe der Radionuklidmethode**

Die Verwendung von Borosilikatglas-Sinterkörpern als Reinigungsmodell für RDG-Prozesse wurde erstmals von Frister und Michels (16) beschrieben. Darnals wurden die Prüfkörper mit nativem Humanblut oder mit Citrat-Rinderblut beladen. Die Messung der Reinigungsleistung erfolgte durch Bestimmung des Proteinrückstands nach der Reinigung via Zermörsern der Sinterkörper, SDS-Extraktion der Proteine und Nachweis mit Hilfe der OPA-Methode, also ein sehr aufwändiges Prüfverfahren.

Das Reinigungsmodell basierend auf Edelstahl-Sinterkörpern, beladen mit künstlichem Blut wurde von Rosenberg (15) beschrieben. In diesem Fall erfolgte die Messung der Reinigungsleistung gravimetrisch auf der Analysenwaage.

In vorliegender Arbeit wurden nun beide Prüfkörper-Typen in Kombination mit der Radionuklidmethode verwendet, um die Reinigungsleistung der neuen 2-Komponenten-Reinigungssysteme aufzuzeigen. Für die Reinigung wurde dabei die kürzere Plateau-Zeit von 5 Minuten und die niedrigere Konzentration von 1 ml/l deconex TWIN ZYME gewählt. Zum Vergleich wurde ein Prozess mit dem alkalischen Reiniger

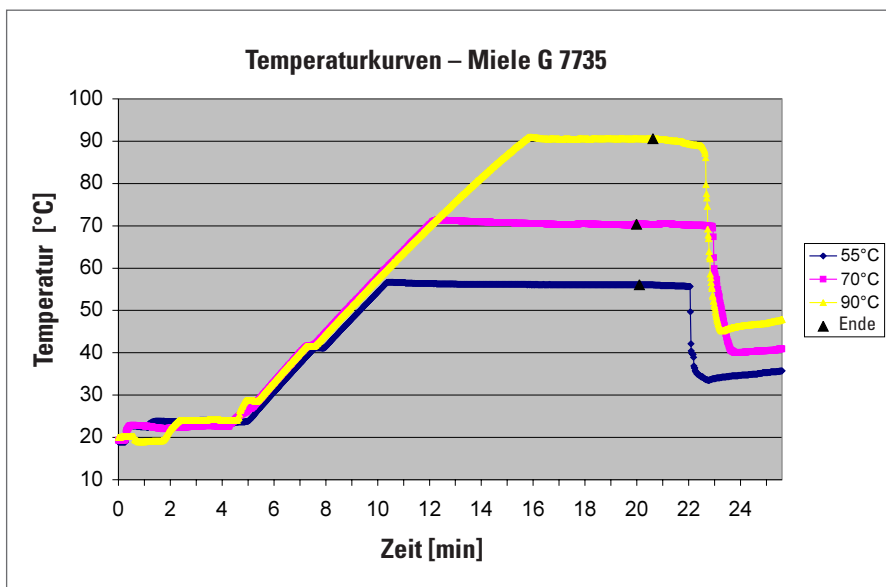


Abb. 1a–c: Reinigung von Crile-Klemmen in einem RDG vom Typ Miele G 7735. Die Prüfkörper wurden mit reaktiviertem (koagulierendem) Schafblut beaufschlagt, das radioaktiv markiert war.

Abb. 1a: Temperaturverläufe bei den Versuchen A, F und G (55 °C/10 min), beim Versuch B (70 °C/8 min) und beim Versuch C (90 °C/5 min). Die Plateau-Zeit bei den Versuchen D und E war um 5 Minuten kürzer als bei der gezeigten 55 °C-Kurve.

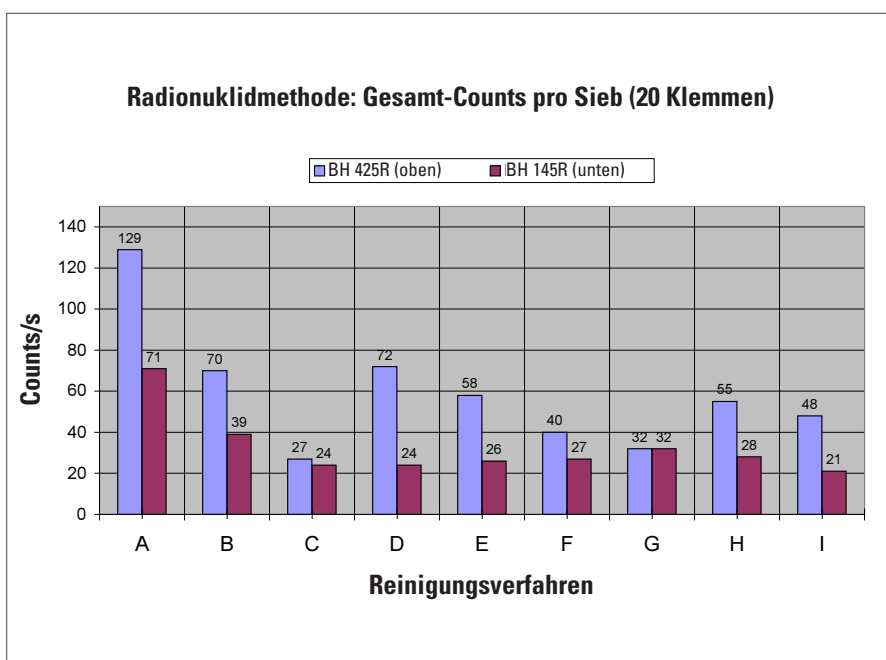
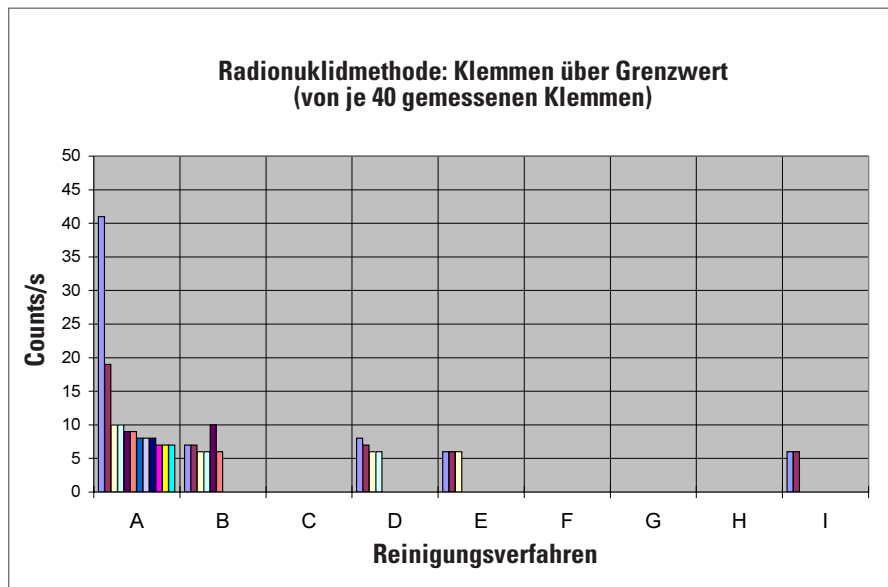


Abb. 1b: Dargestellt ist der Blutrückstand nach der Reinigung in radioaktiven Counts/s pro Sieb oben (linker Balken) und unten (rechter Balken).



**Abb. 1c** Dargestellt sind diejenigen Klemmen aus dem oberen und unteren Sieb, welche nach der Reinigung mehr als 5 Counts/s aufwiesen.

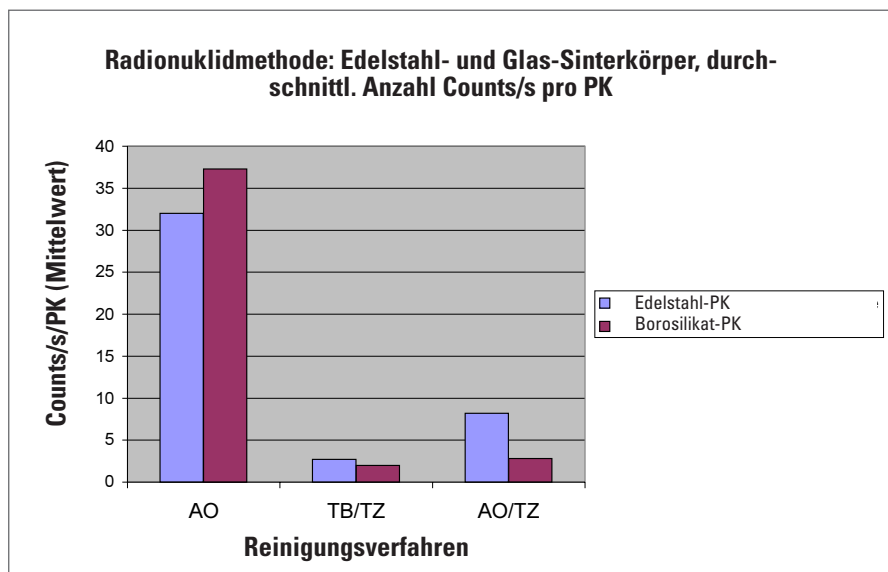
Die folgenden Verfahren wurden geprüft:

- |   |  |
|---|--|
| A. 28AO (0.3%, 55 °C, 10 min), pH 11,1        | B. 28AO (0.3%, 70 °C, 8 min), pH 11,1      |
| C. 28AO (0.3%, 90 °C, 5 min), pH 11,1         | D. TB/TZ (0.3/0.1%, 55 °C, 5 min), pH 7,9  |
| E. 28AO/TZ (0.3/0.1%, 55 °C, 5 min), pH 11,0  | F. TB/TZ (0.3/0.2%, 55 °C, 10 min), pH 7,9 |
| G. 28AO/TZ (0.3/0.2%, 55 °C, 10 min), pH 11,0 | H. OxiVario-Verfahren mit dem Reiniger C*  |
| I. OxiVario-Verfahren mit dem Reiniger A*     |  |

\*) Die Resultate H und I (wie auch die Bezeichnungen „A“ und „C“ der Reiniger) sind der Publikation von Draghici et al. (17) entnommen und zum Vergleich hier aufgeführt.

Der Programmablauf im RDG war jeweils wie folgt:

- 4 min Vorspülen mit Stadtwasser kalt
- Reinigen mit Stadtwasser unter Verwendung oben beschriebener Parameter
- 5 min Nachspülen mit VE-Wasser



**Abb. 2a-b:** Reinigung von Edelstahl- und Borosilikat-Sinterkörpern in einem Miele G 7735 RDG. Die Prüfkörper wurden mit reaktiviertem (koagulierendem) Schafblut beaufschlagt, welches radioaktiv markiert war.

**Abb. 2a:** Dargestellt ist der durchschnittliche Blutrückstand in radioaktiven Counts/s pro Prüfkörper nach der Reinigung (je 6 Prüfkörper (PK)).  
Linker Balken: Edelstahl-PK; rechter Balken: Borosilikat-PK).

(5ml/l) bei 55 °C gefahren. In Abbildung 2a sind die Resultate als durchschnittliche Counts/s pro Prüfkörper dargestellt. In der Balkengrafik der Abbildung 2b sind die einzelnen Prüfkörper dargestellt, welche nach der Reinigung mehr als 5 Counts/s aufwiesen.

Die Resultate zeigen folgendes:

- Borosilikatglas- und Edelstahl-Sinterkörper ergeben sehr ähnliche Resultate.
- Die Leistung der 2-Komponenten-Reinigungssysteme ist wiederum wesentlich besser als jene des alkalischen Reinigers bei niedriger Temperatur.
- Das neutrale 2-Komponenten-System erscheint geringfügig besser als das alkalische.

#### **Edelstahl-Sinterkörper angeschmutzt mit koagulierendem, künstlichem Blut – gravimetrischer Reinigungsnachweis**

Bei diesen Versuchen ging es um die Frage der Vergleichbarkeit zweier Methoden, die eine, bereits oben beschriebene, mit realen Instrumenten (Crile-Klemmen) als Prüfkörper und die andere mit Modellprüfkörpern (Edelstahl-Sinterkörper). Die Testanschmutzung – künstliches Blut – wurde für diese Experimente zusätzlich mit Ethanol denaturiert (siehe Methoden-Teil), um Leistungsunterschiede zwischen den einzelnen Prozessen besser aufzeigen zu können. Es wurden die gleichen Reinigungsverfahren mit den gleichen Parametern angewandt wie bei den Versuchen mit den kontaminierten Crile-Klemmen. Da das dabei zum Einsatz kommende RDG (Hamo LS-850) eine etwas geringere Heizleistung aufweist als das im Falle der Klemmen verwendete Miele-RDG, waren die Gesamtreinigungszeiten bei den Plateau-Temperaturen von 55, 70 und 90 °C nicht mehr ganz gleich (Abbildung 3a). Auch die pH-Werte der Reinigungslösungen unterschieden sich von jenen, die bei den Experimenten in Tübingen gemessen wurden (vergleiche Legenden zu Abbildungen 1 und 3). Dies ist darauf zurück zu führen, dass das Stadtwasser in Zuchwil eine größere Pufferkapazität /Härte aufweist als das Stadtwasser in Tübingen. Die Resultate der gravimetri-

schon Auswertung der Versuche mit den Edelstahl-Sinterkörpern sind in Abbildung 3b dargestellt. Es handelt sich dabei jeweils um Mittelwerte (Rückstand in % der Ausgangsanschmutzung) von 6 Prüfkörpern. Angegeben ist auch die Standardabweichung. In Abbildung 4 sind diese Resultate in Kombination mit den Resultaten aus den Versuchen mit den Crile-Klemmen (Counts/s/Klemme) dargestellt.

Die Resultate zeigen folgendes:

- Der alkalische Reiniger zeigt bei 55 °C die schlechteste Leistung, bei 90 °C die beste.
- Mit beiden 2-Komponenten-Reinigungssystemen – dem alkalischen wie dem neutralen – kann bei einer Einsatztemperatur von 55 °C eine gleich gute oder bessere Leistung erzielt werden wie mit dem alkalischen Reiniger bei hoher Temperatur.
- Die beiden unterschiedlichen Prüfmethoden führen trotz einzeln vorhandener Parameter-Abweichungen (Gesamt-Reinigungszeit, pH-Werte) zu gut vergleichbaren Resultaten.

### Tauchversuche ohne mechanische Komponente

Es ist wiederholt von den gleichen Autoren (10, 11, 12) die Meinung vertreten worden, dass eine Abreinigung von Blut am besten mit einem alkalischen Reiniger bei einer Temperatur von 55 °C zu bewerkstelligen sei. Die zum Beweis angeführten Experimente – sowohl Tauchversuche als auch Reinigung im RDG – wurden jedes Mal bei konstanter Temperatur und ohne Vorspülung durchgeführt, also auf eine Weise, die mit der Realität eines RDG-Prozesses nichts zu tun hat, wie dies denn auch in einem Leserbrief angemerkt wurde (22).

In den hier beschriebenen Tauchversuchen, unter Verwendung von TOSI Prüfkörpern, sollten deshalb die realen Bedingungen eines RDG-Prozesses so gut wie möglich nachgestellt werden. Wie im Methoden-Teil beschrieben, wurde dies durch eine simulierte Vorspülung kombiniert mit einem Temperaturverlauf der Reinigung, ähnlich demjenigen im RDG, realisiert. Wie bei den von Michels und Pieper (11) beschriebenen

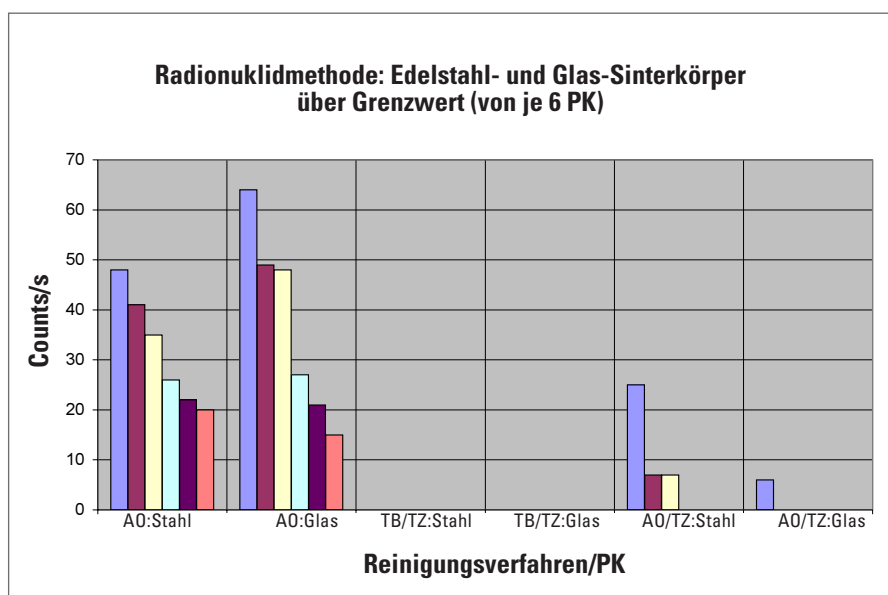


Abb. 2b Dargestellt sind diejenigen Prüfkörper, welche nach der Reinigung mehr als 5 Counts/s aufwiesen.

Die folgenden Verfahren wurden geprüft:  
 AO: 28AO (0,5%, 55 °C, 5 min), pH 11,4  
 TB/TZ: TB/TZ (0,3/0,1%, 55 °C, 5 min), pH 7,9  
 AO/TZ: 28AO/TZ (0,3/0,1%, 55 °C, 5 min), pH 11,0

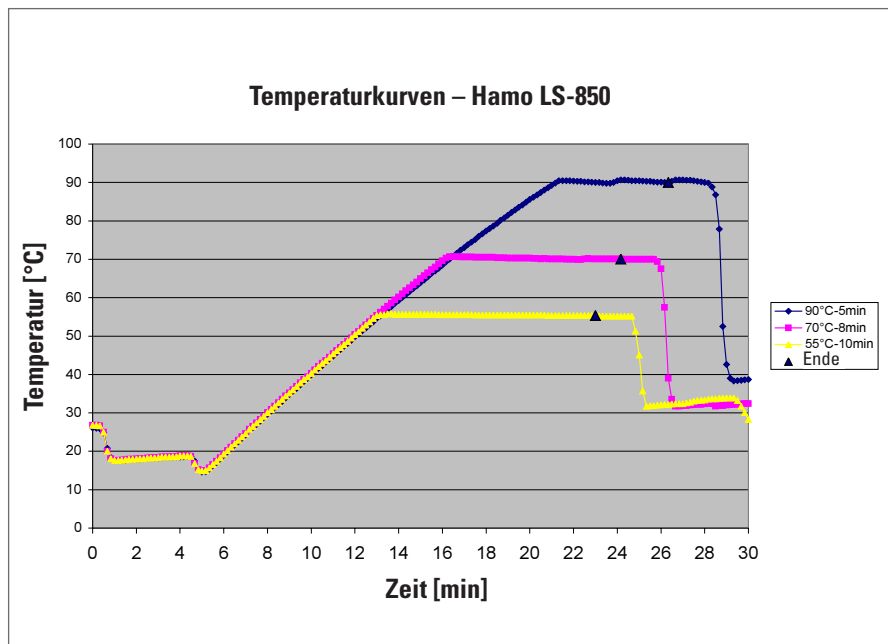
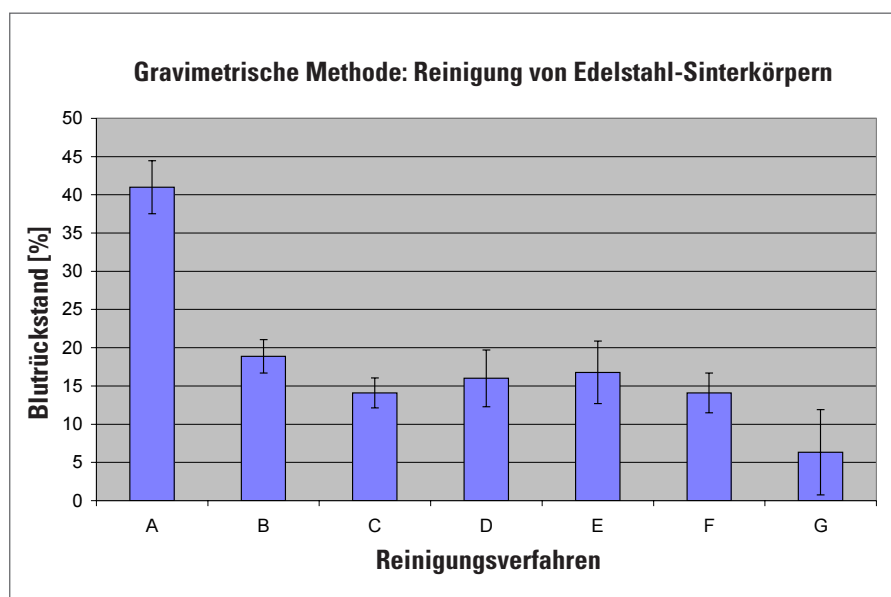


Abb. 3a–b: Reinigung von Edelstahl-Sinterkörpern in einem RDG vom Typ Hamo LS-850. Die Prüfkörper wurden mit künstlichem Blut beaufschlagt, dieses wurde durch eine Behandlung mit Ethanol denaturiert.

Abb. 3a: Temperaturverläufe bei den Versuchen A, F und G (55 °C/10 min), beim Versuch B (70 °C/8 min) und beim Versuch C (90 °C/5 min). Die Plateau-Zeit bei den Versuchen D und E war um 5 Minuten kürzer als bei der gezeigten 55 °C-Kurve.





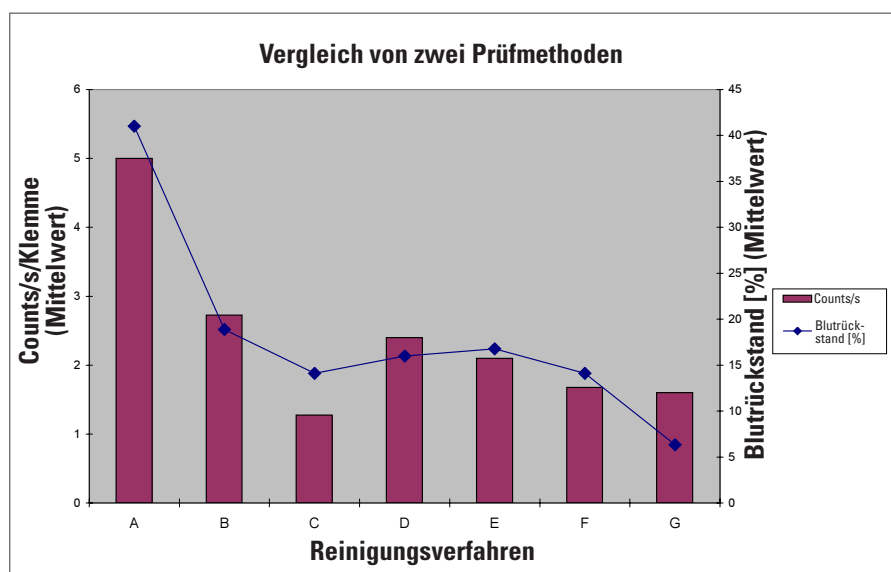
**Abb. 3b** Dargestellt ist der Blutrückstand nach der Reinigung in % der Ausgangsanschmutzung (Mittelwert von je 6 Prüfkörpern).

Die folgenden Verfahren wurden geprüft:

- |   |  |
|---|--|
| A. 28AO (0,3%, 55 °C, 10 min), pH 10,6        | B. 28AO (0,3%, 70 °C, 8 min), pH 10,6      |
| C. 28AO (0,3%, 90 °C, 5 min), pH 10,6         | D. TB/TZ (0,3/0,1%, 55 °C, 5 min), pH 8,0  |
| E. 28AO/TZ (0,3/0,1%, 55 °C, 5 min), pH 10,5  | F. TB/TZ (0,3/0,2%, 55 °C, 10 min), pH 8,0 |
| G. 28AO/TZ (0,3/0,2%, 55 °C, 10 min), pH 10,5 |  |

Der Programmablauf im RDG war jeweils wie folgt:

- 2 min Vorspülen mit Stadtwasser kalt
- Reinigen mit Stadtwasser unter Verwendung oben beschriebener Parameter
- 2 min Nachspülen mit Stadtwasser
- 2 min Nachspülen mit VE-Wasser



**Abb. 4** Zwei Prüfmethode im Vergleich. Reinigung von Crile-Klemmen im Miele RDG: zurück bleibende durchschnittliche Radioaktivität pro Klemme (Balken). Reinigung von Edelstahl-Sinterkörpern im Hamo RDG: zurück bleibende Blutanschmutzung in % der Ausgangsmenge. Reinigungsversuche A–G wie vorgängig beschrieben.

nen Tauchversuchen wurde der hier verwendete alkalische Reiniger in einer Konzentration von 0,3 % in VE-Wasser eingesetzt. Der resultierende pH-Wert war 11,6 im Vergleich zu 11,7 bei Michels und Pieper (11). Neben den Versuchen mit dem alkalischen Reiniger mit Zieltemperaturen zwischen 55 und 80 °C kamen zum Vergleich auch wiederum die 2-Komponenten-Reinigungssysteme bei einer Zieltemperatur von 55 °C zum Einsatz. Die Gesamtreinigungsdauer war bei allen Versuchen identisch, d. h. die Plateuzeiten waren entsprechend kürzer bei höheren Temperaturen (1 min bei 80 °C) bzw. länger bei niedrigeren Temperaturen (ca. 7 min bei 55 °C).

In Abbildung 5a sind die Temperaturverläufe aller Versuche aufgeführt. Abbildung 5b zeigt die Resultate. Die in Reihe A abgebildeten Prüfkörper waren den Verfahren mit den in Abbildung 5a gezeigten Temperaturverläufen ausgesetzt. Die in Reihe B abgebildeten Prüfkörper waren nach Entnahme der ersten Prüfkörper für 5 Minuten in die jeweiligen, heißen Lösungen getaucht worden. Letzteres entspricht in etwa dem Vorgehen von Michels und Pieper bei ihren Experimenten mit den mit Blut beladenen Papierfiltern (11).

Die Resultate zeigen folgendes:

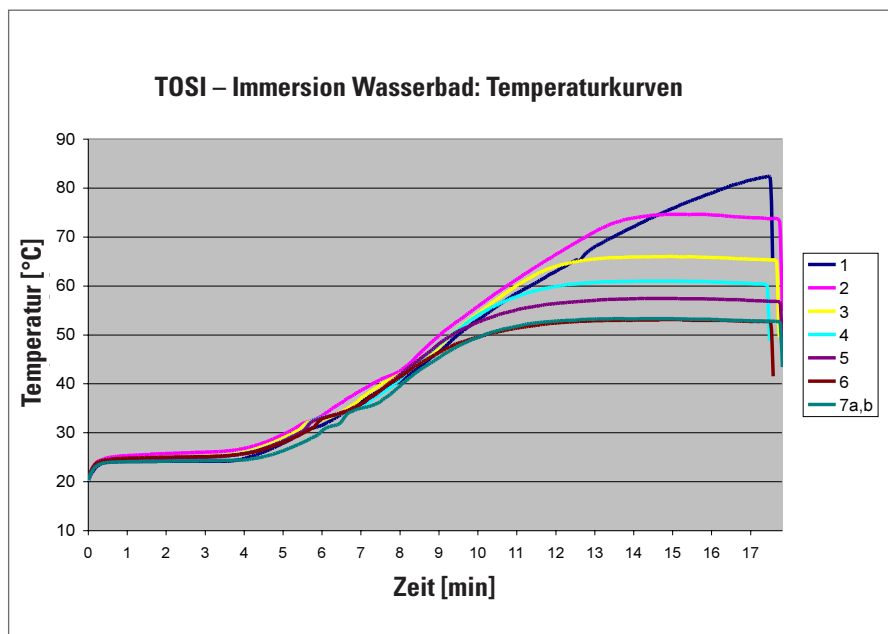
- Das beste Reinigungsergebnis im praxisnahen Versuch mit dem alkalischen Reiniger wurde nicht bei Zieltemperatur 55 °C sondern bei Zieltemperatur 80 °C erreicht.
- Sogar im praxisfernen Versuch war das Resultat mit dem alkalischen Reiniger bei der höchsten Temperatur am besten.
- Bei Zieltemperatur 70 °C war der Prüfkörper am Ende des praxisnahen Versuchs nahezu komplett sauber, beim praxisfernen Versuch war jedoch eine deutliche Fixierung festzustellen.
- Bei der tiefsten Temperatur schnitten im praxisnahen Versuch die 2-Komponenten-Reinigungssysteme am besten ab (komplett saubere Prüfkörper).
- Die praxisnahen Tauchversuche ergaben Resultate, die mit jenen der

oben gezeigten Versuche im RDG übereinstimmen.

**In vitro Versuche zu Destabilisierung bzw. zum Abbau des infektiösen Prionproteins (PrP<sup>Sc</sup>)**

In einer Mitteilung des Robert-Koch-Instituts wird zur Risikominimierung einer iatrogenen Übertragung von vCJK empfohlen, bei der Instrumentenaufbereitung möglichst immer einen alkalischen Reiniger mit einem pH-Wert > 10 zu verwenden (1). Weiter wird darin gefordert, dass eine destabilisierende Wirkung solcher Reinigungsmittel auf PrP<sup>Sc</sup> in geeigneten Prüfungen nachgewiesen werden soll. Diese destabilisierende Wirkung wird in einer anderen Arbeit, die ebenfalls aus dem Robert-Koch-Institut stammt, definiert als Effekt, welcher das Proteinase K-resistente infektiöse Prionprotein Proteinase K-empfindlich macht (3). In der gleichen Arbeit wird auf die experimentell etablierte enge Korrelation zwischen Infektiosität und Proteinase K-Resistenz des PrP<sup>Sc</sup> hingewiesen. Das Testen der Proteinase K-Resistenz bzw. -Sensitivität sei eine geeignete und schnelle Screening-Methode für die Identifikation potentieller Dekontaminationsmittel. Genau dieses war denn auch Gegenstand der nachfolgend beschriebenen Experimente mit den gleichen Reinigungsmitteln, deren Reinigungsleistung in vorliegender Arbeit untersucht wurde.

Die Wirkung von deconex 28 ALKA ONE alleine oder in Kombination mit deconex TWIN ZYME auf das Proteinase K-resistente Prionprotein wurde unter verschiedenen Bedingungen im Suspensionsversuch getestet. Das experimentelle Vorgehen ist im Methoden-Teil beschrieben. Die Resultate sind in der Form eines qualitativen Western Blots in Abbildung 6 dargestellt. Eine schwarze Bande auf der Spur ohne Proteinase K-Behandlung (-) bedeutet vorhandenes Prionprotein. Wenn diese schwarze Bande auf der rechten Nachbarspur durch die Proteinase K-Behandlung (+) verschwunden ist, bedeutet dies, dass das infektiöse Prionprotein durch das angewandte Mittel Proteinase K-sensitiv geworden, d. h. destabilisiert worden ist und dadurch enzymatisch



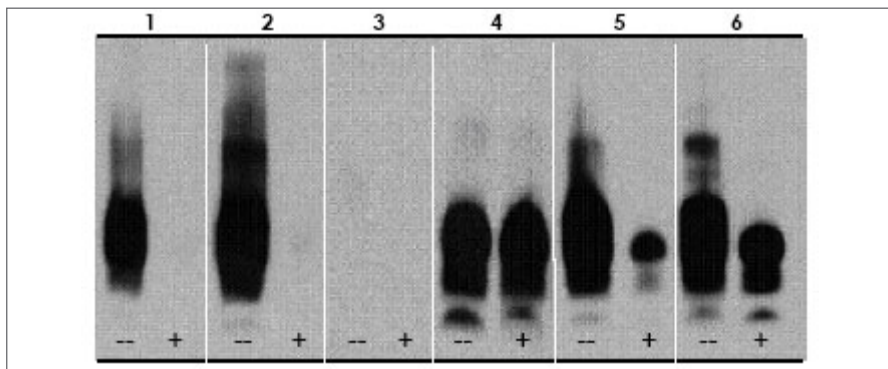
**Abb. 5a–b:** Tauchversuch mit TOSI Prüfkörpern (zu prüfende Reiniger im Becherglas, Becherglas im Wasserbad).

**Abb. 5a:** Temperaturverläufe (gemessen im Becherglas unmittelbar neben TOSI) der einzelnen Versuche, deren Resultate in Abbildung 5b, Reihe A dargestellt sind.



**Abb. 5b** Fotografien der TOSI Prüfkörper am Ende des Versuchs. Reihe A: Diese Prüfkörper wurden zum Zeitpunkt 0 in ein Becherglas mit VE-Wasser gestellt. Die Dosierung der Reiniger erfolgte jeweils bei Erreichen von 30 °C. Reihe B: Prüfkörper, die am Ende der Inkubation der oberen Prüfkörper bei ausgeschalteter Heizung während 5 Minuten in die heisse Lösung getaucht wurden (vergleichbar mit dem Vorgehen von Michels und Pieper bei ihren Tauchversuchen mit dem blutbelasteten Filterpapier (11)).

Die Konzentrationen der Reiniger und die pH-Werte der Lösungen waren wie folgt:  
 Versuch 1–6: 0,3% 28AO in VE-Wasser: pH = 11,62  
 Versuch 7a: 0,3% TB / 0,2% TZ in VE-Wasser: pH = 10,19  
 Versuch 7b: 0,3% 28AO / 0,2% TZ in VE-Wasser: pH = 11,60



**Abb. 6** In vitro Behandlung von Hamster-Hirnextrakten mit infektiösem Prionprotein PrP<sup>Sc</sup>.

- |  |         |
|--|---------|
| 1. 28AO (0,5%, 70 °C, 10 min),           | pH 11,1 |
| 2. 28AO (1,0%, 55 °C, 10 min),           | pH 11,5 |
| 3. 28AO/TZ (1,0/0,3%, 55 °C, 10 min),    | pH 11,5 |
| 4. 28AO/TZ (0,5/0,15%, 55 °C, 10 min),   | pH 11,1 |
| 5. KOH (0,056%, 70 °C, 10 min),          | pH 12,0 |
| 6. Phosphatpuffer (PBS) (70 °C, 10 min), | pH 7,4  |

Die so behandelten Extrakte wurden ohne weitere Behandlung (--) und nach zusätzlicher Behandlung mit Proteinase K (+) auf einem Acrylamid-Gel aufgetrennt. Danach erfolgte ein Western Blot mit immunologischem Nachweis des Prionproteins (schwarze „Banden“).

gespalten (abgebaut) werden kann. Bleibt auch nach Proteinase K-Behandlung eine Bande übrig, bedeutet dies keine oder lediglich eine beschränkte destabilisierende Wirkung des angewandten Mittels. Verschwindet die Bande dagegen bereits in der (--) Spur, heißt dies, dass das angewandte Mittel das PrP<sup>Sc</sup> nicht nur destabilisiert sondern auch abgebaut hat.

Die Resultate zeigen folgendes:

- Die Behandlung des Hirnextrakts mit Phosphatpuffer (negative Kontrolle) zeigte wie erwartet keine destabilisierende Wirkung.
- Die Behandlung mit Kalilauge mit pH 12 bei 70 °C zeigte nur eine begrenzte Wirkung.
- Eine klare destabilisierende Wirkung zeigte die Behandlung mit 0,5% 28AO bei 70 °C sowie auch die Behandlung mit 1,0% 28AO bei 55 °C.
- Die Behandlung mit 28AO bei gleichzeitig niedriger Konzentration und niedriger Temperatur (in Anwesenheit von 0,15% TZ) reichte nicht, um das Prionprotein zu destabilisieren.
- Die Kombination von 1,0% 28AO/0,3% TZ bei 55 °C führte nicht nur zur Destabilisierung des Prionproteins sondern zu dessen Abbau.

- Die destabilisierende Wirkung des alkalischen Reinigers nimmt bei steigender Temperatur zu.

## Diskussion

Die folgende Diskussion der vorliegenden Arbeit soll entsprechend den in der Einleitung aufgeworfenen Fragen in drei Themen unterteilt werden.

### Welcher Verfahrensablauf bei der alkalischen Reinigung ergibt die besten Reinigungsergebnisse?

Blut auf Textilien entfernt man am besten mit kaltem Wasser. Das weiß jede Hausfrau. Ebenso sollte heute jede(r) ZSVA-Mitarbeiter(in) wissen, dass ein Reinigungsprozess im RDG immer mit einer Kaltwasserspülung anfangen sollte. Auf keinen Fall darf direkt mit heißer Reinigungslösung auf die schmutzigen Instrumente losgegangen werden. Weil dem so ist, erscheint es auch nicht sinnvoll, die optimalen Parameter in Experimenten zu suchen, die nicht viel mit einem realen Reinigungsprozess zu tun haben. Solche Experimente wurden von Michels und Pieper (11) beschrieben. Dabei wurde Blut auf Filterpapierstücke appliziert und diese Filter wurden dann bei Temperaturen von 40, 50,

60, 70 und 80 °C während fünf Minuten in eine vorgeheizte Reinigerlösung mit pH 11,7 getaucht. Anschließend wurden die Restproteine auf den Filtern und die in Lösung gegangenen Proteine gemessen. Es wurde festgestellt, dass bereits bei 60 °C die Blutablösung schlechter wird. In einer früheren Arbeit sind neben Filterpapier-Versuchen auch Reinigungsversuche in einem RDG beschrieben worden, bei denen mit Blut beladene Borosilikatglas-Sinterkörper einer isothermen Reinigung (also mit vorgeheizter Reinigerflotte) bei verschiedenen Temperaturen, ohne Vorspülung unterzogen wurden (10). Der Autor folgerte aus diesen Experimenten: „Da alkalische Reinigungsmittel das thermische Denaturierungsverhalten nicht ändern (im Vergleich zu Wasser), sollten sie nicht oberhalb 60 °C zum Einsatz gebracht werden.“

In Abbildung 5b, Reihe B vorliegender Arbeit sieht man das Resultat eines ähnlichen Experiments (bezüglich Konzentration des Reinigers, pH-Wert, Temperaturen) wie jenes von Michels und Pieper (11). Die TOSI Prüfkörper wurden dabei während fünf Minuten bei Temperaturen zwischen 50 und 80 °C in die heiße Reinigerlösung getaucht. Das Resultat ist aussagekräftig genug, auch ohne quantitative Analyse. Es ist nicht unähnlich jenem aus dem Filterpapier-Experiment, mit dem Unterschied, dass es der Reiniger bei 80 °C sogar geschafft hat, trotz praxisfernen Bedingungen, fast das gesamte Blut auf- und vom Prüfkörper abzulösen (Prüfkörper ganz links in Reihe B).

Die praxisnahen Tauchversuche, deren Resultate in Abbildung 5b, Reihe A dargestellt sind, zeigen deutlich, dass die beiden Prozesse mit den höchsten Temperaturen die beste Reinigung ergeben haben (Prüfkörper 1 und 2). Eine partielle Verdunkelung des Rückstands auf den beiden TOSI's, die bei einer Endtemperatur von ca. 60 bzw. 65 °C behandelt worden sind, deutet auf eine Denaturierung hin (Prüfkörper 3 und 4).

Dass die alkalische Reinigung bei 70 und 90 °C besser funktioniert als bei 55 °C konnte auch mit Hilfe der zwei anderen hier angewandten Reinigungsmodelle gezeigt werden (Abbildungen 1 und 3). Das Modell mit der größten Pra-

xisnähe, nämlich die mit reaktiviertem Schafblut kontaminierten Crile-Klemmen, wurde in der Deutschen Leitlinie (23), die sich mit der Umsetzung der Norm (pr)EN ISO 15883 befasst, zur Verwendung für die Prozessvalidierung vorgeschlagen. Allerdings kann dann die Reinigungsleistung bzw. der Blutrückstand nicht mit der hier verwendeten, hochsensitiven Radionuklidmethode gemessen werden. Es werden die Proteinnachweismethoden aus Annex C von Teil 1 der Norm zur Anwendung kommen oder der Peroxidase-Test aus Annex J von Teil 5 der Norm.

In vorliegender Arbeit konnte mit drei völlig unterschiedlichen, jedoch so praxisnah wie möglich konzipierten Reinigungsmodellen nachgewiesen werden, dass eine alkalische Reinigung nicht bei 55 °C am besten funktioniert sondern bei Temperaturen von 70 °C aufwärts. Dogs und Pfeifer (13) fanden ähnliches. Mit zwei alkalischen Reinigern konnten sie bei 90 °C im RDG sowohl TOSI als auch „TOSI Gold“ Prüfkörper sowie Arterienklemmen rückstandsfrei reinigen, währenddem dies bei 55 °C nicht gelang. Die Klemmen wurden in diesem Fall mit Hilfe der Peroxidase-Reaktion auf Restblut untersucht. „TOSI Gold“ Prüfkörper mit einer Anschmutzung bestehend aus hitzedenaturiertem Albumin sind wesentlich schwieriger zu reinigen als die TOSI's mit nativem, künstlichem Blut als Anschmutzung.

Da die beschriebenen Versuche mit den Crile-Klemmen bezüglich Design, RDG, Experimentatoren und Ort identisch waren mit jenen, deren Resultate kürzlich von Draghici et al. (17) publiziert wurden, war es möglich und erschien es sinnvoll, die Resultate zweier sogenannter OxiVario-Prozesse aus dieser Veröffentlichung in die Abbildungen 1b und 1c zum Vergleich zu integrieren (Reinigungsverfahren H und I). Damit konnte festgestellt werden, dass mit einer alkalischen Reinigung bei 90 °C ein mindestens ebenso gutes oder besseres Reinigungsergebnis erzielt werden kann wie mit dem OxiVario-Verfahren bei vergleichbarer Prozessdauer. Die Dosierung des Reinigers im 90 °C-Prozess war dabei mit 0,3% erst noch niedriger als die Dosierung der Reiniger im OxiVario-Prozess (0,5%).

Es soll an dieser Stelle schließlich auch noch auf die Bedeutung der Maschinenteknik hingewiesen werden. Die für diese Arbeit zum Einsatz gekommenen RDG's werden beide mit einer elektrischen Heizung betrieben. Es gibt aber auch Maschinen mit schnellerer Dampfheizung sowie Mehrkammeranlagen, die mit vorgeheizten Waschlotten arbeiten. Um einem möglichen Denaturierungsproblem vorzubeugen, kann in diesen Fällen im Reinigungsschritt ein Plateau bei tieferer Temperatur (45–55 °C) dazwischen geschaltet werden.

#### **Wie kann man die Effektivität neutraler oder „milder“ Reinigungsprozesse erhöhen?**

Die Reinigung von Medizinprodukten unter vergleichsweise milden Bedingungen ist und bleibt ein Thema. Es gibt nach wie vor Instrumente und Utensilien, die einer alkalischen Reinigung bei hoher Temperatur materialtechnisch nicht standhalten. Man hat versucht, diesem Problem beizukommen, indem man, dem Beispiel der Waschmittelhersteller folgend, Enzyme, insbesondere proteinabbauende (Proteasen) in Tensid-basierte pH-neutrale Formulierungen einbaute. Der Vergleich mit Waschmitteln hinkt allerdings, da jene hauptsächlich als Pulver formuliert werden, sodass eine Kompartimentierung, d. h. eine physische Trennung gewisser, sich gegenseitig störender Bestandteile möglich ist. Diese Kompartimentierung ist bei flüssigen Produkten, wie sie wegen der verlangten automatischen, validierbaren Dosierung für die RDG's benötigt werden, nicht möglich. Untersuchungen der Leistung solcher neutral-enzymatischer Reinigungsmittel haben denn auch gezeigt, dass es nur wenige Produkte gibt, die ein akzeptables Resultat liefern (24, 25). In einer Studie zur Reinigungsleistung und Enzymstabilität von enzymatischen Reinigungsmitteln für die manuelle Instrumentenaufbereitung haben Cheetham und Berentsveig (26) festgestellt, dass bei fast allen Produkten nach künstlicher Alterung bei 40 °C über 14 Tage, die Enzyme überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden konnten oder nur noch ein Bruchteil der Ausgangsmenge vorhanden war. Wenn die Erreichung einer genü-

genden Enzymstabilität bei manuellen Produkten schon schwierig ist, ist dies erst recht bei maschinellen Produkten der Fall, welche noch mehr Funktionen gleichzeitig in sich vereinen sollten (siehe Einleitung).

Eigentlich liegt die Idee ja nahe, gewünschte, sich aber gegenseitig störende Formulierungsbestandteile in zwei separaten Komponenten unterzubringen und diese erst bei Gebrauch zu vereinen. Im Gegensatz zu einem möglichen manuellen System aus zwei Komponenten, bietet die Anwendung eines 2-Komponenten-Reinigungssystems im RDG keine besonderen Schwierigkeiten, beide Komponenten können automatisch dosiert werden. Die beiden in vorliegender Arbeit untersuchten Systeme basieren auf einer gemeinsamen enzymatischen Komponente, deconex TWIN ZYME (TZ), die im Alterungsversuch nach 4 Monaten bei 25 °C gefolgt von einem Monat bei 40 °C immer noch 100% aktiv war. Diese enzymatische Komponente wird wahlweise mit dem alkalischen Reiniger deconex 28 ALKA ONE (28AO) oder dem mildalkalischen Reiniger deconex TWIN BASIC (TB) kombiniert. Das zweite System wird als „neutral“ bezeichnet, da auch in VE-Wasser bei einem pH-Wert um 10 die Veträglichkeit mit eloxiertem Aluminium gegeben ist. Beim Einsatz in Stadtwasser kann bei diesem System der pH-Wert bis auf ca. 8 sinken.

Bei allen in dieser Arbeit beschriebenen Reinigungs-Testreihen waren auch Versuche mit den 2-Komponenten-Systemen dabei, deren Resultate somit mit jenen der alkalischen Prozesse direkt verglichen werden konnten. Sowohl das alkalische System 28AO/TZ als auch das neutrale System TB/TZ konnten bei einer Dosierung von 2 ml/l TZ und gleicher Gesamtreinigungsdauer mit dem besten alkalischen Prozess in allen Versuchen mithalten (Abbildungen 1b, 1c, 3b und 4, jeweils Verfahren F und G; Abbildung 5b, Reihe A, Verfahren 7a und 7b). Es wurde in diesen Versuchsreihen kein herkömmlicher neutraler, neutral-enzymatischer oder mildalkalischer Reiniger zum Vergleich herangezogen. Welches Bild ein solcher Vergleich etwa liefern könnte, lässt sich jedoch anhand eines Resultats aus der Arbeit

von Draghici et al. (17) erahnen. Beim dort eingesetzten Reiniger E handelt es sich um einen mildalkalischen Reiniger, der 0,5%-ig im Tübinger Stadtwasser eingesetzt einen pH-Wert von 9,8 aufwies (vermutlich läge der pH-Wert in VE-Wasser bei > 10). Das Reinigungsergebnis, dargestellt in den Abbildungen 6 und 7 jener Arbeit war schlicht katastrophal. Auch die Kombination dieses Reinigers mit Wasserstoffperoxid in der zweiten Phase brachte das Resultat nicht annähernd in den Bereich der 2-Komponenten-Reinigungssysteme.

Die Resultate vorliegender Arbeit zeigen deutlich, dass eine ausgezeichnete Reinigungsleistung mit milden Verfahren nicht eine Illusion ist, sondern mit Hilfe von 2-Komponenten-Reinigungssystemen Realität werden kann.

**Ist es möglich, unter Routine-Prozessbedingungen eine „Prionen-Wirksamkeit“ zu erreichen?  
Bedeutet eine gute Reinigungsleistung auch eine gute „Prionen-Wirksamkeit“?**

Die „klassischen“ Prionen-Inaktivierungsmethoden wie hohe Konzentrationen von Natronlauge oder Natriumhypochlorit kombiniert mit langen Einwirkzeiten (14) sind für medizinische Instrumente in der Regel „tödlich“. Schon seit ein paar Jahren wird deshalb nach weniger zerstörerischen, ja möglichst routinefähigen Methoden gesucht, um potentiell mit Prionen kontaminierte Medizinprodukte zu dekontaminieren und sicher für deren Wiederverwendung zu machen.

Käsermann und Kempf (7) haben mit *in vitro* Experimenten gezeigt, dass die Destabilisierung des Prionproteins mit Natronlauge effizienter ist als bislang angenommen. Ihre Studie zeigte, dass eine Behandlung mit 25 mM NaOH (pH 12,4, gerechnet) bei Raumtemperatur den Titer des Proteinase K (PK)-resistenten Prionproteins innerhalb von 15 Minuten um beinahe 4 log-Stufen reduzieren konnte. Allerdings war die Konzentration des im Suspensionsversuch verwendeten Hirnextrakts mit 0,125% (10% Originalextrakt in Tris-NaCl (TBS) verdünnt mit Wasser) niedriger als bei anderen Experimentatoren. Wurde Eisenpulver mit adsorbier-

tem Hirnextrakt während 15 Minuten einer 0,1 N NaOH-Lösung (pH 13, gerechnet) ausgesetzt, konnte via Western Blot eine Reduktion > 4 log-Stufen nachgewiesen werden.

Baier et al. (5) publizierten eine Studie, in der sowohl die Wirkung von Natronlauge als auch eines kommerziellen alkalischen Reinigers im Suspensionsversuch mit anschließendem PK-Western Blot Assay bzw. *in vivo* im Hamstermodell untersucht wurde. Im *in vitro* Versuch wurden 0,5 N (pH, keine Angabe) bzw. 0,1 N (pH 12,3) NaOH und 1,0% (pH 12,3) bzw. 0,5% (pH 12) Reiniger bei 55 °C und Einwirkzeiten von 10 und 30 Minuten geprüft. Alle Behandlungen führten zur Destabilisierung des Prionproteins, sodass nach PK-Verdau auf dem qualitativen Western Blot kein Prionprotein mehr nachzuweisen war. Die Behandlung mit der 0,5 N NaOH führte zum Verschwinden des Prionproteins auch ohne PK-Behandlung, was mit alkalischer Hydrolyse erklärt wurde. Im Tierexperiment wurden jene Hirnextrakte auf ihre Infektiosität geprüft, die entweder mit 0,1 N NaOH oder mit 1,0% Reiniger während 30 min bei 55 °C behandelt worden waren. 526 Tage nach der Injektion der neutralisierten Suspension in das Gehirn gesunder Versuchstiere zeigte keines der Tiere Zeichen einer Infektion. Wurde die gleiche Behandlung bei 20 °C anstatt bei 55 °C durchgeführt, konnten nach 260 Tagen Inkubationszeit ebenfalls keine Krankheitszeichen bei den Tieren festgestellt werden. Die Resultate dieser Versuche sind allerdings mit einem Frazezeichen zu versehen, da der verwendete Hirnextrakt bereits mit Hilfe von Tensiden (5% Originalextrakt in 0,5% Triton X-100, 0,05% SDS) hergestellt wurde, die möglicherweise ebenfalls eine Wirkung auf die Stabilität des PrP<sup>Sc</sup> haben. Die Konzentration des Hirnextrakts in der Behandlungssuspension war 2,5%.

Eine weitere Arbeit von Fichet et al. (4) befasste sich unter anderem ebenfalls mit der Wirkung eines alkalischen Reinigers auf das infektiöse Prionprotein. Wiederum wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* Experimente durchgeführt. In beiden Fällen waren es diesmal jedoch Carrier-Versuche. Für die *in vitro*

Versuche wurden Glasplättchen mit Hirnextrakt kontaminiert, für die *in vivo* Versuche waren es Edelstahldrähte, welche nach Kontamination und Dekontamination in das Hirn gesunder Hamster implantiert wurden. Verwendet wurde ein Hirnextrakt von 10% in Phosphatpuffer-NaCl (PBS). Im *in vitro* Experiment konnte das Prionprotein durch eine Behandlung mit 0,16% Reiniger bei 43 °C während 15 Minuten destabilisiert werden, während das gleiche bei 25 °C nicht gelang. Die Alkalität des Reinigers habe dabei derjenigen von 0,006 N NaOH entsprochen, was einen pH-Wert von 11,8 ergibt. Für den *in vivo* Versuch wurden die kontaminierten Drähte mit 1,6% Reiniger (pH 12,8) während 15 Minuten bei 43 °C behandelt (getaucht), bevor sie in die Hirne gesunder Hamster implantiert wurden. Keiner der Hamster zeigte nach 365 Tagen Krankheitszeichen. Anhand einer *in vivo* Versuchsreihe, in der Drähte mit seriell verdünnten Extrakten kontaminiert und in gesunde Tiere implantiert wurden, wurde die Effektivität der beschriebenen Reiniger-Behandlung als > 6 log-Stufen bestimmt.

In einer aufwändigen Arbeit haben Lemmer et al. (3) *in vitro* Carrier-Versuche durchgeführt, in denen Edelstahl-drähte mit Hirnextrakt (10% in TBS) kontaminiert und anschließend mit verschiedenen Mitteln, u. a. einem alkalischen Reiniger, behandelt wurden. Im Anschluss wurde sowohl die Drahtoberfläche als auch die Behandlungsmittellösung auf das Vorhandensein von Prionprotein mit Hilfe des PK-Western Blot Assay untersucht. Der alkalische Reiniger (derselbe, der in der Arbeit von Baier et al. (5) zum Einsatz kam) wurde in einer Konzentration von 1,0% (pH 12,2) und 0,5% (pH 11,9) eingesetzt. Die Behandlung erfolgte jeweils bei 55 °C während 5 bzw. 10 Minuten und bei 23 °C während einer Stunde. Ohne PK-Verdau konnte ohne Unterschied auf allen Drähten das Prionprotein nur noch schwach nachgewiesen werden, nach PK-Verdau war der Befund negativ. In den Reinigerlösungen wurde ohne PK-Verdau hingegen viel Prionprotein gefunden, nach PK-Verdau aber wiederum nichts mehr. Die Autoren schließen aus diesen Befunden, dass der

Reiniger das Prionprotein zum größten Teil von der Drahtoberfläche abgelöst und gleichzeitig destabilisiert hat. Praktisch die gleichen Resultate wurden unter den gleichen Versuchsbedingungen mit 0,1 N NaOH (pH 13) erreicht. Wurde aber 0,5 N NaOH (pH 13,4) verwendet, so war nach einer Behandlung von 10 min bei 55 °C auch ohne PK-Verdau kein Prionprotein mehr nachzuweisen (vergleichbar mit dem Resultat des entsprechenden Suspensionsversuchs bei Baier et al. (5)). Wurde hingegen die Temperatur auf 23 °C gesenkt und gleichzeitig die Behandlungszeit auf 30 bzw. 60 Minuten verlängert, war in der Reinigerlösung ohne PK-Verdau wiederum Prionprotein feststellbar. Bei der höheren Temperatur wurde das Prionprotein trotz kürzerer Behandlungszeit also nicht nur destabilisiert sondern auch abgebaut, d. h. in seine Bausteine, die Aminosäuren zerlegt, schließen die Autoren.

Die *in vitro* Suspensionsversuche vorliegender Arbeit wurden mit PBS-Hirnextrakt durchgeführt. Die Konzentration des Hirnextrakts in der Behandlungssuspension war 2,5%, also gleich wie in der Arbeit von Baier et al. (5). Da es sich bei den geprüften Produkten um Reiniger zur Verwendung im Reinigungs- und Desinfektionsgerät handelt, in dem üblicherweise bei erhöhten Temperaturen gearbeitet wird, wurde auf Versuche bei Raumtemperatur verzichtet. Die Resultate mit dem alkalischen Reiniger 28AO zeigen seine „Prionen-Wirksamkeit“ aber auch die Grenzen derselben auf. Verfahren 4 in Abbildung 6 (die Anwesenheit von 0,15% TZ ist in diesem Fall nicht zu beachten) mit der Dosierung von 0,5% 28AO (pH 11,1) und einer Inkubationstemperatur von 55 °C ist nicht wirksam. Eine Temperaturerhöhung auf 70 °C bei gleicher Konzentration und gleichem pH-Wert resultiert jedoch in einem wirksamen Prozess (Verfahren 1). Umgekehrt kann bei 55 °C eine Wirksamkeit erreicht werden, wenn die Konzentration des Reinigers und damit auch der pH-Wert erhöht wird. Ähnliche Abhängigkeiten der „Prionen-Wirksamkeit“ von Temperatur und Alkalität haben auch Fichet et al. (4) und Lemmer et al. (3) gezeigt. Bei jedem in der Lite-

ratur beschriebenen Versuch mit einem alkalischen Reiniger, mit dem entweder eine Wirksamkeit *in vitro* oder eine solche *in vivo* gezeigt wurde, hatte das Behandlungsmilieu einen pH-Wert > 11. Folgende wirksame pH-Wert-/Temperatur-/Zeit-Kombinationen sind zu finden:

pH 12,0/55 °C/10 min (*in vitro*, (5))

pH 12,3/20 °C/30 min (*in vivo*, (5))

pH 11,8/43 °C/15 min (*in vitro*, (4))

pH 12,8/43 °C/15 min (*in vivo*, (4))

pH 11,9/55 °C/5 min (*in vitro*, (3))

pH 11,9/23 °C/60 min (*in vitro*, (3))

pH 11,5/55 °C/10 min (*in vitro*, vorliegende Arbeit)

pH 11,1/70 °C/10 min (*in vitro*, vorliegende Arbeit)

In einem Vortrag (2) am Decontamination Sciences Congress im April 2005 in London zeigte K. Roth aus Tübingen Resultate von *in vitro* Versuchen zur Wirksamkeit von Kalilauge (KOH) auf das Prionprotein. Während KOH mit pH 13 bei einer Behandlung von 70 °C/10 min wirksam war, war es KOH mit pH 12 erst bei 90 °C/10 min. Bei all diesen Betrachtungen lässt sich nun ohne weiteres auch die Verbindung zur weiter oben diskutierten Reinigungsleistung herstellen. Man stellt dabei fest, dass beim Einsatz eines (echten) alkalischen Reinigers, sowohl hier wie dort eine Temperaturerhöhung immer mit der Beschleunigung des Prozesses bzw. mit der Erhöhung der Effektivität einher geht. Das bedeutet, was für die alkalische Reinigung gut ist, fördert auch die „Prionen-Wirksamkeit“ und umgekehrt.

In Abbildung 6 ist zu sehen, dass KOH, obwohl bei pH 12 eingesetzt, ein schlechteres Resultat liefert als der Reiniger bei pH 11,1 und zwar unter sonst identischen Versuchsbedingungen. Diese schlechtere Wirksamkeit reiner Lauge im Vergleich zu formulierten Reinigern wurde auch von Fichet et al. (4) festgestellt und ist nicht erstaunlich, kennt man doch solche Unterschiede seit jeher von der Reinigungsleistung. Und doch scheint es auch den umgekehrten Fall zu geben. Bei den *in vitro* Versuchen von Baier et al. (5), bei denen sowohl der alkalische Reiniger als auch NaOH bei pH 12,3 eingesetzt wurden, ist zwar nach PK-Verdau in beiden

Fällen auf dem Western Blot das Prionprotein komplett verschwunden (Fig. 1b und 1d). Das Bild ohne PK-Verdau zeigt jedoch bei 0,1 N NaOH deutlich schwächere Signale als beim 1%-ig eingesetzten Reiniger (Fig. 1a und 1c), was auf einen zusätzlichen Teilabbau des Prionproteins durch die NaOH-Behandlung – nebst seiner Destabilisierung – hinweist.

In vorliegender Arbeit wurden auch die 2-Komponenten-Reinigungssysteme auf ihre „Prionen-Wirksamkeit“ hin untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, dass die enzymatische Komponente TZ keine Wirkung hatte, sofern die Alkalität nicht genügend hoch war (Abbildung 6, Verfahren 4). Auch wenn bei gleicher Konzentration von 0,5% 28AO die TZ-Konzentration auf 0,3 oder 0,6% erhöht wurde, konnte kein Effekt gefunden werden (nicht gezeigt). Wurde jedoch die Alkalität durch die Dosierung von 1,0% 28AO erhöht, verschwand das Prionprotein auf dem Western Blot auch ohne PK-Verdau (Abbildung 6, Verfahren 3). Analog der Feststellung von Lemmer et al. (3) in Bezug auf die Wirkung von 0,5 N NaOH bei 55 °C, muss hier also das Prionprotein durch die kombinierte Behandlung nicht nur destabilisiert, sondern auch abgebaut worden sein. Die Logik dieses Resultats ist eigentlich evident: die Alkalität destabilisiert, die proteolytischen Enzyme bauen ab – letztere machen einfach das gleiche wie die Proteinase K im Assay. Neu ist allerdings, dass mit 28AO/TZ dies nicht nacheinander sondern in einem einzigen Arbeitsgang geschieht und dass es sich bei TZ nicht um ein Labor-Enzym handelt, sondern um die Komponente eines kommerziellen Reinigungssystems. McLeod et al. (27) haben auf der Suche nach Proteasen, die das Prionprotein abbauen können, tatsächlich auch welche gefunden. Funktioniert hat dieser Abbau allerdings auch nur dann, wenn die Proteasen bei pH 12 eingesetzt wurden. Die Autoren schließen daraus, dass die  $\beta$ -Faltblatt-Struktur des Prionproteins durch die Alkalität teilweise oder komplett destabilisiert wird und als Folge davon die Proteasen ihre Wirkung auf das Protein entfalten können. Weiter meinen sie: „Da ja in der Praxis der In-

strumentenaufbereitung bereits Reinerformulierungen mit pH-Werten um 12 verwendet werden, bräuchte man nur noch Proteasen hinein zu formulieren, die unter diesen alkalischen Bedingungen funktionieren...“. Einen anderen Ansatz zur Destabilisierung des Prionproteins als Vorbereitung für den proteolytischen Abbau wählten Langeveld et al. (28). Die Autoren erhitzen Extrakte in Anwesenheit von Tensiden auf 115 °C (im Dampfkochtopf) bevor diese Extrakte dann mit Proteasen verdaut wurden. Niedrigere Temperaturen und die Abwesenheit von Tensiden bei der Hitzebehandlung führten zu einer Reduktion der Wirksamkeit der Proteasen. Wiederum wurde die Denaturierung der  $\beta$ -Faltblatt-Struktur, diesmal durch die Hitzebehandlung, als Grund für die erlangte Protease-Sensitivität des Prionproteins angegeben. Jackson et al. (29) berichten, dass ihnen die Prionen-Inaktivierung alleine durch proteolytische Behandlung im neutralen pH-Bereich gelungen ist. Allerdings wurden bei diesen Experimenten unrealistisch hohe Enzym- und Tensid-Konzentrationen eingesetzt. Eine Anwendungslösung beinhaltend 20% eines Protease-Konzentrats und 4% SDS ist nämlich weit jenseits eines marktfähigen Reinigungsmittels.

Die in vorliegender Arbeit gezeigte „Prionen-Wirksamkeit“ des alkalischen Reinigers 28AO sowie der Kombination von 28AO mit der enzymatischen Komponente TZ basiert auf *in vitro* Versuchen. Es ist allgemein anerkannt, dass für den Beweis einer „Prionen-Wirksamkeit“ auch *in vivo* Versuche notwendig sind. K. Roth (2) zeigte Resultate von *in vivo* Carrier-Versuchen, in denen kontaminierte Drähte in einem speziell gebauten Sprühsystem, welches ein Reinigungs- und Desinfektionsgerät simuliert, behandelt wurden. Als Behandlungsmittel wurde unter anderem auch der Reiniger 28AO eingesetzt, bei einer Konzentration von 1,0%, einer Temperatur von 55 °C und einer Einwirkzeit von 10 Minuten. Alle Hamster, außer zweien, die durch Kannibalismus verloren gingen und zweien, die für eine histologische, sog. PET-Blot Analyse nach 210 Tagen geopfert wurden, waren 447 Tage nach der Implantation des

mit 28AO behandelten Drahtes immer noch symptomfrei. Die PET-Blot Analyse war negativ, d. h. im Hirngewebe war kein Prionprotein nachzuweisen. In zwei weiteren, ebenfalls noch laufenden, unveröffentlichten *in vivo* Carrier-Versuchen derselben Art wurden kontaminierte Drähte mit 0,5% 28AO bei 70 °C während 10 Minuten bzw. mit 1,0% 28AO/0,3% TZ bei 55 °C während 10 Minuten behandelt. 277 Tagen nach Implantation dieser Drähte waren die Hamster noch gesund. Die PET-Blot Analyse, die in diesem Fall nach 214 Tagen durchgeführt wurde, war ebenfalls negativ. Aufgrund dieser bisher vorliegenden Resultate bezüglich Überlebenszeit nach Implantation kombiniert mit den Resultaten von Fichet et al. (4) bezüglich Infektiosität von Drähten, die mit seriellen Hirnextrakt-Verdünnungen kontaminiert waren, kann davon ausgegangen werden, dass die Reinigungsprozesse mit 28 AO bzw. mit der Kombination 28AO/TZ eine Reduktion des Prionproteins auf der Drahtoberfläche um > 6 log-Stufen bewirken. Aufgrund der hier gezeigten *in vitro* Experimente sowie der Arbeit von Lemmer et al. (3) muss angenommen werden, dass die Wirkung auf eine Destabilisierung des Prionproteins mit gleichzeitiger Ablösung von der Drahtoberfläche zurück zu führen ist. Beim 2-Komponenten-Reinigungssystem 28AO/TZ kann des weiteren von einem zusätzlichen Abbau des Prionproteins ausgegangen werden.

### Schlussfolgerungen für die Praxis der Instrumentenaufbereitung

Die Eingangs des letzten Diskussionsabschnittes gestellte Frage: „Ist es möglich, unter Prozessbedingungen der Routine eine „Prionen-Wirksamkeit“ zu erreichen?“ kann ohne weiteres mit ja beantwortet werden. Ein Prozess mit 0,5% 28AO und 10 min Reinigung bei 70 °C ist routinemässig einsetzbar. Neben seiner „Prionen-Wirksamkeit“ gibt er auch gute Reinigungsergebnisse (sogar etwas besser als der weiter oben beschriebene Prozess mit 0,3% 28AO und 8 min Haltezeit bei 70 °C). Die Reinigungsleistung des Prozesses wäre durch eine Erhöhung der Reinigungstemperatur auf 90 °C (5 min Haltezeit) weiter zu

verbessern, wie in dieser Arbeit gezeigt wurde. Dies würde, wie wir jetzt wissen, auch die „Prionen-Wirksamkeit“ weiter fördern. Sowohl 70 °C- als auch 90 °C-Reinigungsprozesse sind in vielen Krankenhäusern bereits erfolgreiche Realität.

Die zweite Frage: „Bedeutet eine gute Reinigungsleistung auch eine gute „Prionen-Wirksamkeit“?“ kann nur bedingt mit ja beantwortet werden. Wie in vorliegender Arbeit gezeigt wurde, ist es mit 2-Komponenten-Reinigungssystemen im neutralen pH-Bereich möglich, eine hervorragende Reinigungsleistung zu erzielen. Eine „Prionen-Wirksamkeit“ eines praxistauglichen Reinigungsprozesses bei neutralem oder mildalkalischem pH konnte allerdings noch in keiner Arbeit gezeigt werden. Von einem alkalischen Prozess hingegen, mit einem formulierten Reiniger, bei hohem pH-Wert (> 11) und bei hoher Temperatur (> 70 °C) eingesetzt, würde man in der Regel eine „Prionen-Wirksamkeit“ erwarten. \*

### Literatur

1. Mitteilung des Robert-Koch-Institut (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 – Abschlussbericht der Task Force vCJK zu diesem Thema. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2002; 45: 376–394.
2. Yan Z, Roth K, Heeg P, Stütz L: The effectiveness of different reprocessing procedures to infective prion material PrP<sup>Sc</sup>. Vortrag Decontamination Science Congress, London, 30.03.2005 .
3. Lemmer K, Mielke M, Pauli G, Beekes M: Decontamination of surgical instruments from prion proteins: *in vitro* studies on the detachment, destabilization and degradation of PrP<sup>Sc</sup> bound to steel surfaces. J Gen Virol 2004; 85: 3805–3816.
4. Fichet G, Comoy E, Duval C, Antloga K, Dehen C, Charbonnier A, McDonnell G, Brown P, Lasmézas CI, Deslys JP: Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices. Lancet 2004; 364: 521–526.
5. Baier M, Schwarz M, Mielke M: Activity of an alkaline „cleaner“ in the inactivation of the scrapie agent. J Hosp Infect 2004; 57: 80–84.

6. Yan Z, Stitz L, Heeg P, Pfaff E, Roth K: Infectivity of prion bound to stainless steel wires: a model for testing decontamination procedures for transmissible spongiform encephalopathies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25 (4): 280–283.
7. Käsermann F, Kempf C: Sodium hydroxide renders the prion protein PrP<sup>Sc</sup> sensitive to proteinase K. *J Gen Virol* 2003; 84: 3173–3176.
8. Rosenberg U: Memorandum from the RKI relating to vCJD – A few critical remarks. *Zentr Steril* 2002; 10 (3): 186–187.
9. Pfeifer M: Instrument cleaning if prions are suspected: Implementing the RKI recommendations – is alkaline to be equated with alkaline? *Zentr Steril* 2002; 10 (3): 188.
10. Michels W: Blutdenaturierung durch Temperatur und deren Einfluss auf die Reinigung maschineller Aufbereitungsverfahren. *Krh Hyg Inf Verh* 2000; 22 (4): 115–117.
11. Michels W, Pieper M: Characteristics of blood and their influence on cleaning processes. *Zentr Steril* 2004; 12 (5): 324–330.
12. Michels W, Pieper M: Process parameters for optimal automated instrument reprocessing. *Zentr Steril* 2004; 12 (6): 384–391.
13. Dogs K, Pfeifer M: Vergleich der Leistung bei der maschinellen alkalischen Instrumentenaufbereitung. Vortrag DGSV-Kongress, Potsdam, 02.10.2004.
14. Taylor DM: Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review. *Vet J* 2000; 159 (1): 3–4.
15. Rosenberg U: Assessing the performance of detergents used in washer-disinfectors for instrument processing. *Zentr Steril* 2001; 9 (6): 413–424.
16. Frister H, Michels W: Comparative assessment and optimisation of the cleaning performance of automated decontamination processes. *Hyg Med* 1994; 19: 673–688.
17. Draghici A, Gauer J, Michels W, Roth K: Investigation of cleaning performance following the standard prEN/ISO 15883-1. *Zentr Steril* 2005; 13 (1): 34–44.
18. Heeg P, Roth K, Reichl R, Cogdill CP, Bond WW: Decontaminated single-use devices: An oxymoron that may be placing patients at risk for cross-contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22 (9): 542–549.
19. Roth K, Heeg P, Reichl R: Specific issues relating to reprocessing and reuse of single-use devices for laparoscopic surgery. *Surgical Endoscopy* 2002; 16: 1091–1097.
20. Schrimm H, Sieber JP, Heeg P, Roth K, Müller-Schauenburg W, Keller KD, Buess G: A new method for validating and verifying the cleaning of tubular instruments. *Zentr Steril* 1994; 2: 313–324.
21. Michels W, Pieper M: Optimierte maschinelle Reinigung mit oxidativer Verfahrensstufe. *Aseptica* 2003; 9 (4): 6–7.
22. Pfeifer M: Influence of blood on cleaning processes – Remarks on: W. Michels, M. Pieper: Characteristics of blood and their influence on cleaning processes. *Zentr Steril* 2004; 12 (6): 402–404.
23. DGKH, DGSV, AKI: Guideline for validation and routine monitoring of automated cleaning and disinfection processes for heat-resistant medical devices as well as advice on selecting washer-disinfectors. *Zentr Steril* 2005; 13 (Suppl 1): 1–28.
24. Zühlsdorf B, Emmrich M, Floss H, Martiny H: Cleaning efficacy of nine different cleaners in a washer-disinfector designed for flexible endoscopes. *J Hosp Infect* 2002; 52: 206–211.
25. Zühlsdorf B, Floss H, Martiny H: Efficacy of 10 different cleaning processes in a washer-disinfector for flexible endoscopes. *J Hosp Infect* 2004; 56: 305–311.
26. Cheetham NWH, Berentsveig V: Relative efficacy and activity of medical instrument cleaning agents. *Australian Infection Control* 2002; 7 (3): 105–112.
27. McLeod AH, Murdoch H, Dickinson J, Dennis MJ, Hall GA, Buswell CM, Carr J, Taylor DM, Sutton JM, Raven NDH: Proteolytic inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 1165–1170.
28. Langeveld JPM, Wang JJ, Van de Wiel DFM, Shih GC, Garssen GJ, Bossers A, Shih JCH: Enzymatic degradation of prion protein in brain stem from infected cattle and sheep. *JID* 2003; 188: 1782–1789.
29. Jackson GS, McKintosh E, Flechsig E, Prodromidou K, Hirsch P, Linehan J, Brandner S, Clarke AR, Weissman C, Collinge J: An enzyme-detergent method for effective prion decontamination of surgical steel. *J Gen Virol* 2005; 86: 869–878.

## Danksagung

Mein Dank gilt Sacha Ruch für die Durchführung der Reinigungsversuche mit den Edelstahl-Sinterkörpern sowie Dr. Alireza Bozorgtar, Klaus Roth, Dr. Zheng-Xin Yan und Prof. Dr. Lothar Stitz für wertvolle Gespräche.