

Vergleichende Bewertung der Wirkung von Prozessparametern sowie enzymatischen Reinigern bei der maschinellen Aufbereitung

Dr. Winfried Michels

Reinigungsmittel für die Aufbereitung in RDG

- Heute werden von den Anwendern Reinigungsmittel für die Instrumentenaufbereitung bevorzugt, welche möglichst universell, d.h. für die verschiedensten Arten von Instrumenten, zum Einsatz kommen können.
- Dieser Wunsch wird heute offensichtlich durch mildalkalische (pH ~10) , Enzyme und Tenside enthaltende Reiniger weitgehend erfüllt.
- Die Produktinformationen gehen nicht speziell auf die Enzymwirkung ein. Wenn diese teuren Ingredienzien einen wichtigen Beitrag zur Reinigung leisten, wären deutliche Vorgaben zum Konzentrations- und Temperaturbereich sowie der Wirkzeit zu erwarten.

Angaben zum Reinigungsmiteleinsatz

- Temperatur: Es gibt Produktinformationen, in denen nicht ein Hinweis auf die Dosier- und Einsatztemperatur zu finden ist. Es sind aber auch Angaben zu finden, wie z.B. 40 - 60° C, 10 min. Bekannte Aktivitäts-/Temperaturkurven lassen da doch Zweifel aufkommen, ob das so zielführend ist.
- Konzentration: Als Standardempfehlung wird oft 0,5% benannt, do je nach Verschmutzungsgrad der sehr weite Konzentrationsbereich von 0,3 bis 1,0% angegeben.
- Der pH-Wert von ~10 sowie die Wirkzeit von etwa 10 Minuten sind wohl der beispielhaften Anführung in der KRINKO/BfArm-Empfehlung geschuldet.

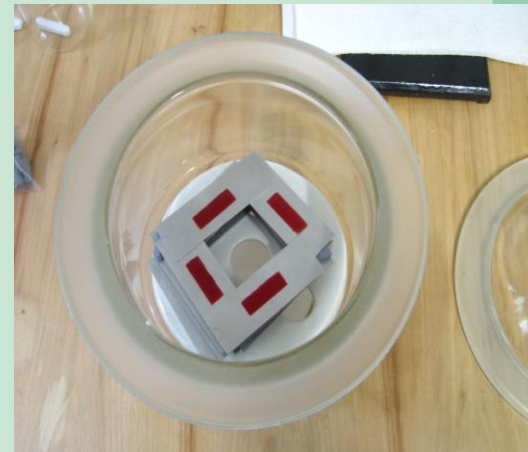
Ziel der Untersuchung

Aufgrund der vagen Produktinformationen sollten einmal die Temperatur- und Konzentrationsabhängigkeit von drei Reinigern untersucht werden.

- Reiniger A: mildalkalischer-enzymatischer Reiniger mit Tensiden (pH bei 0,5% ~10).
- Reiniger B: mildalkalischer Reiniger identisch mit A, jedoch ohne Enzyme (pH bei 0,5% 10).
- Reiniger C: Reiniger mit Alkalispendern, Enzymen und Tensiden (pH bei 55 °C ~10)

Prüfkörper

- Edelstahlplatten 1.4301 (Länge 75 mm, Breite 25 mm) grundgereinigt.
- Anschmutzung: heparinisiertes Schafsblut reaktiviert mit Protaminsulfat (Acila, Mörfelden), jeweils 50 µl mittels Schablone gemäß Brill et al. (Zentr Steril 2014; 22: 408-416)
- Konditionierung über 24 Stunden bei 30° C im Exsikkator über gesättigter Kaliumcarbonat-Lösung.



Testaufbau

- In Anlehnung an den Testaufbau der DIN-Ad-hoc-Gruppe (Zentr Steril 2009; 17:410-415)
- Magnetrührer (C-MAG HS7, Carl Roth) mit Temperaturregelung ($\pm 1^\circ\text{C}$) und 300 Upm
- Exposition der Prüfkörper 10 Minuten bei jeder Temperatur und Konzentration

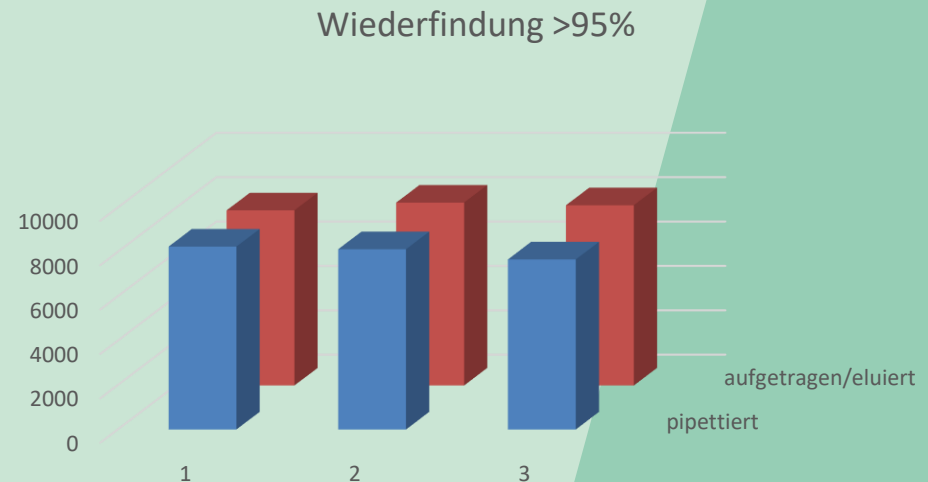


Probengewinnung

- Nach der Exposition der Prüfkörper wurden diese vorsichtig mit gereinigtem Wasser mittels Laborspritzflasche abgespült und zur Probengewinnung mit der mit Restschmutz behafteten Seite nach unten weisend auf den Boden eines 500 ml Becherglases gelegt.
- Die Elution des Restschmutzes erfolgte nach Zugabe von jeweils 5 ml 1% SDS pH 11 bei 45 °C mit Ultraschallunterstützung indem das Becherglas zwei Minuten etwa 5 cm tief in das Ultraschallbad gehalten und dabei leicht hin und her geschwenkt wurde.
- Die Benetzung der eluierten Prüfkörper mit essigsaurer Ponceau S-Lösung ergab keine Anfärbung von verbliebenem Restprotein.
- Ein Aliquot des Eluats wurde jeweils der Proteinquantifizierung mittels BCA-Methode Roti®-Quant universal (Carl Roth) zugeführt.

Wiederfindung

- Zur Ermittlung der Wiederfindung für diese Probengewinnung wurden in je drei Ansätzen 50 µl reakt. Blut in 10 ml 1% SDS-Lösung pipettiert bzw. je 50 µl reakt. Blut auf das Blech aufgetragen und nach der Konditionierung eluiert sowie der Proteinbestimmung zugeführt.
- Die Wiederfindung war stets >>90% und betrug im Mittel sogar 101%



Quantitative vergleichende Bewertung der Reinigungsergebnisse

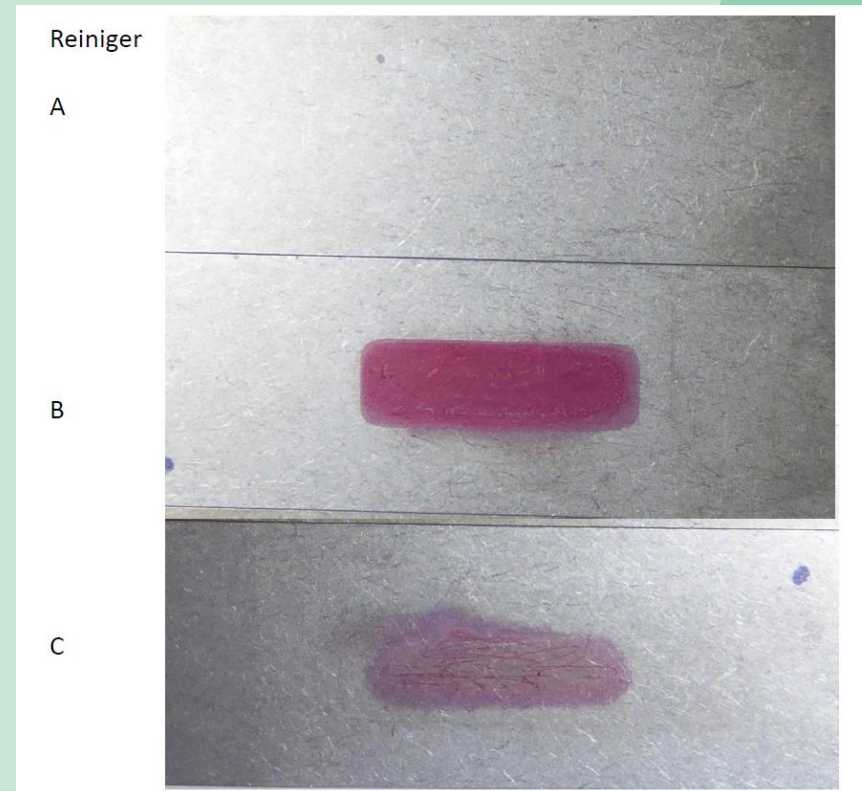
Reinigungsergebnisse nach 10 Minuten Wirkzeit in μg Protein pro Prüfkörper

Temperatur/ Konzentration	50°C /0,5%	55°C /0,5%	60°C /0,5%	55°C /0,4%	55°C /0,6%	55°C /1,0%
Reiniger A	22,5	< BG	< BG	33,0	< BG	< BG
Reiniger B	278,5	289,0	580,0	217,0	181,0	130,0
Reiniger C	61,0	90,0	303,5	160,0	102,5	21,0

BG = Bestimmungsgrenze

Ponceau S - Anfärbung

- Die Prüfkörper, welche bei 55° C mit einer Konzentration von 0,5% der Reiniger A, B und C über 10 Minuten behandelt wurden, sind hier mit Ponceau S angefärbt.
- A: < Bestimmungsgrenze
- B: 289 µg Protein
- C: 90 µg Protein



Fazit

- Bei den mildalkalischen Reinigern (pH ~10) tragen die Enzyme entscheidend mit zur Reinigung bei, insbesondere der Entfernung der letzten 2-3% der Verschmutzung in direktem Kontakt mit dem Grundmaterial, was letztlich zur Unterschreitung des Richtwertes tolerierbaren Restprotein führt.
- Die Temperaturoptima der Reiniger im Markt sind unterschiedlich und sollten von den Herstellern der Prozesschemie offengelegt werden.
- Eine einzuhaltende Temperaturspanne von $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ist für Enzyme viel zu groß, um optimale Bedingungen für die Reinigung bereitzustellen. In der Normenreihe ISO EN 15883 sollte die Spanne auf $\pm 3^{\circ}\text{C}$ beschränkt werden.
- Die Einflüsse von Lagerbedingungen sowie der Dauer auf die Enzymaktivität bedürften besonderer Beachtung.

Danke für Ihr Interesse!

Dr. Winfried Michels
Prüflabor DWM
Kasseler Tor 20
D-34414 Warburg

Prueflabor-dwm@gmx.de

