

W. MICHELS

DIN 58341 mit neuen Anforderungen an die Leistungsprüfung der Reinigung

Die neue DIN 58341 beschreibt die Anforderungen an die Validierung von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren. Dabei werden die Anforderungen präzisiert, die sich direkt oder indirekt aus der Leitlinie von DGKH, DGSV und AKI für die Validierung und Routineüberwachung maschineller Reinigungs- und thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte, der Leitlinie von DGKH, DGSV, DGVS und AKI zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope und der Leitlinie von DGKH, DGSV, AKI und in Kooperation mit dem VAH zur Validierung der manuellen Reinigung und manuellen chemischen Desinfektion von Medizinprodukten ergeben bzw. ableiten lassen [1, 2, 3].

Die DIN 58341 fordert in Abschnitt 5.7, dass bei der Durchführung (Probenahme und Analytik) zur Methodvalidierung analytische Parameter berücksichtigt und in die Bewertung einbezogen werden müssen, z.B.:

- Negativkontrollen
- Positivkontrollen
- Wiederfindung unter Verwendung einer praxisrelevanten Kontamination bei vergleichbaren Medizinprodukten
- Bestimmungsgrenze
- Messunsicherheit des Verfahrens

Bei der Validierung bzw. Leistungsprüfung geht es um die ernsthafte Wahrheitsfindung, ob die erzeugten Produkte wirklich den Spezifikationen entsprechen. Dieses muss in den Validier- bzw. Prüfberichten nachvollziehbar dokumentiert sein. Das ist derzeit oft nicht gegeben und da kann die Anforderung zu einer deutlichen Verbesserung führen. Zu den gelisteten Punkten im Einzelnen (siehe auch [5]):

Negativ- und Positivkontrollen

Diese Kontrollen werden gemacht, um die prinzipielle Funktionsfähigkeit der angewendeten Methode darzustellen und Störfaktoren, die zu falsch positiven Ergebnissen führen, möglichst auszuschließen. Positivkontrollen werden im Grunde mit der Bestimmung der Wiederfindung sowie auch mit der Kalibrierung der analytischen Bestimmungsmethode gemacht.

Für die Negativkontrolle muss mindestens ein Instrument im zu beurteilenden Prozess mitgeführt werden, welches frei vom zu bestimmenden Analyten, z.B. Protein, ist (Nullprobe). Ein positiver Befund deutet auf

Störeinflüsse hin, z.B. durch Prozesschemikalien [4]. Aber auch geringste Trübung, feinste Metallpartikel usw. können falsch positiven Ergebnissen führen.

Wiederfindung

Die Probengewinnung für die Beurteilung der Sauberkeit von Medizinprodukten erfolgt durch Elution bzw. Extraktion mit einem definierten und geringen Volumen 1% Natriumdodecylsulfat (SDS)-Lösung, welche in der Regel auf pH 11 eingestellt ist. Es sollen die konstruktiv am schwierigsten zu reinigenden Bereiche der Medizinprodukte beprobt werden. Es ist für die Beurteilung der Ergebnisse von entscheidender Bedeutung, in welchem Ausmaß mit der Beprobung die tatsächlich vorhandene Verschmutzung erfasst wird. Um die Qualität der Probengewinnung durch den Validierer bewerten zu können, sollen diese ihre Wiederfindung unter Verwendung einer praxisrelevanten Kontamination bei vergleichbaren Medizinprodukten angeben.

Die Ermittlung der Wiederfindung erfolgt im Labor und das Vorgehen wird hier am Beispiel eines Wundspreizers dargestellt, der in einem Beutel eluiert werden soll. Mittels einer Hämilton-Spritze für 10 μl Gesamtvolumen (Carl Roth GmbH, Bestell-Nr. X036.1) oder einer IKA Pette vario 0,5–10 μl (IKA Werke, Material-Nr. 0020011211) werden 5 μl 10% verdünntes und reaktiviertes Blut aufgeteilt, 2–3 μl auf den Spaltbereich des Gelenkes des Instrumentes sowie 2–3 μl auf den Spaltbereich des Gelenkes der Sperre aufgebracht und durch Bewegen in die Gelenke eingearbeitet. Das wird bei 5 Wundspreizern gemacht. Jeweils 5 μl des Blutes werden in 5 Zentrifugenröhrchen mit 10 ml 1% SDS pipettiert und dienen als 100% Referenz. Nach ein bis zwei Stunden erfolgt die Probengewinnung von den Instrumenten nach festgelegter Prozedur, z.B. Elution des Gelenkbereichs in einem PE-Beutel mit drei Milliliter 1% SDS-Lösung (pH 11) durch manuelles Verteilen der Lösung und 10 maligem Bewegen des Gelenks durch den Beutel hindurch. Dieses wird nach jeweils 10-minütiger Pause des Einweichens zweimal wiederholt. Aliquots der gewonnenen Proben und der 100% Referenzen werden der Proteinbestimmung mit der modifizierten ortho-Phthaldialdehyd-Methode (OPA) oder der Bicinchoninic acid-Methode (BCA) zugeführt. In der Regel ist es möglich, dass der Mittelwert der Proteingehalte der fünf Eluate/Extrakte etwa 90% des Mittelwertes der Proteingehalte der 100% Referenzen entspricht.

Lizenziert für AKI – Arbeitskreis Instrumenten-Aufbereitung.
Weitergabe, Nachdruck oder elektronische Veröffentlichung
nur mit Genehmigung des Verlages. © mhp Verlag 2020

Dieses muss der Validierer/Prüfer für die verschiedenen Probengewinnungsmethoden (Durchspülen, Ausschütteln, Vortexen, durch Ultraschall unterstützt usw.) durchführen, die er je nach konstruktiver Gestalt der Instrumente anwendet und in der Dokumentation gemäß DIN 58341 angeben.

Bestimmungsgrenze

Damit der Leser des Validier- bzw. Leistungsprüfberichtes eine Vorstellung von der Eignung der angewendeten Proteinbestimmungsmethode bekommt, soll zukünftig stets auch die Bestimmungsgrenze angegeben werden. Dabei handelt es sich um die kleinste Menge, die mit einer vorgegebenen Richtigkeit und Präzision quantitativ erfasst werden kann. Dieses ist in DIN 32645 beschrieben.

Messunsicherheit

Jeder ermittelte Restproteingehalt ist mit einer Messunsicherheit beziehungsweise Ergebnisunsicherheit verbunden. Es gibt einige Unsicherheitsquellen, z.B.:

- die Unsicherheit bei der Probennahme
- die Unsicherheit die mit den Eigenschaften des untersuchten Objektes zusammenhängen

- Unsicherheit der angewendeten analytischen Bestimmungsmethode
- die Unsicherheit der Referenzwerte.

Alle Unsicherheiten zu erfassen und in der Kalkulation zu berücksichtigen ist sicher schwierig, aber zumindest sollte auf der Grundlage der Wiederfindungsversuche die Varianz und die Standardunsicherheit ermittelt werden.

Diskussion

Bisher ist in den Validier- bzw. Leistungsprüfberichten die Prüfung der Reinigung nicht wirklich nachvollziehbar und angesichts der zu häufigen Befunde, dass der Restproteingehalt unterhalb der Nachweisgrenze sei, kommen doch Zweifel auf und es stellen sich eine Reihe an Fragen:

- Wurden wirklich die am schwierigsten zu reinigenden Instrumente zur Bewertung der Reinigung ausgewählt?
- Waren die ausgewählten Instrumente vor dem Reinigungsprozess durch tatsächlichen Gebrauch in den beprobten Problembereichen überhaupt verschmutzt?

- Wie und mit welcher Qualität erfolgte die Proben-gewinnung?
- Wie genau ist die angewendete Bestimmungsme-thode?

Dieses ist bisher in den Berichten alles nicht nach-vollziehbar und es kommt der Verdacht auf, dass die Prozesse „schön“ validiert werden. In dieser Hinsicht könnte nun die DIN 58341 zu einer deut-lichen Verbesserung führen und, dass die Befunde der Validier- oder Leistungsprüfberichte zur erzielten Reinigung glaubwürdiger werden. Aber abgesehen davon stellt sich auch noch die Frage nach dem Sinn des Einsatzes der Crile-Klemmen als Prüfkörper, die zu leicht in den RDG zu reinigen sind und mittler-weile fast durchweg den Befund für das Restprotein von „kleiner der Nachweisgrenze“ haben. Wobei die Nachweisgrenze in der Regel nicht angegeben wird. Wäre es stattdessen nicht sinnvoller mehr durch tat-sächlichen Gebrauch verschmutzte Realinstrumente in die Beurteilung einzubeziehen? Sicher ist, dass der Grad der Wahrheitsfindung beim Validieren bzw. der Leistungsprüfung der Reinigung aufgrund der gerin-gen Anzahl der geprüften Instrumente sehr begrenzt ist. Wir können damit noch nicht die Gewissheit ha-ben, dass stets Produkte erzeugt werden, welche die

Spezifikation(en) für die Reinigung erfüllen. Diese Gewissheit muss daher durch fortlaufende Routine-kontrollen der erzeugten Produkte erlangt werden.

Literatur

- 1 Leitlinie von DGKH, DGSV und AKI für die Validierung und Routineüberwachung maschineller Reinigungs- und thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte; 5. Auflage. Zentr Steril 2017; 25, Suppl.
- 2 DGKH, DGSV, DGVS, DEGEA und AKI: Leitlinie zur Validierung maschineller Reinigungs-Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope. Zentr Steril 2011; 19, Suppl. 3
- 3 DGKH, DGSV, AKI in Kooperation mit dem VAH: Leitlinie zur Validierung der manuellen Reinigung und manuellen chemischen Desinfektion von Medizinprodukten. mhp Verlag, Wiesbaden, 2013
- 4 Hubert H, Schnieder L: Bewertung möglicher störender Einflüsse auf Protein Assays durch Reinigungsmittelrückstände auf Medizinprodukten nach der Reinigung. Zentr Steril 2020; 28 (1): 14–20.
- 5 Kromidas S: Validierung in der Analytik. Wiley-VCH, Weinheim; 2. Auflage 2011 (ISBN: 978-3-527-32939-7)

Dr. Winfried Michels

Prüflabor DWM, Warburg
prueflabor-DWM@gmx.de