

PRODUKTKATALOG

Biologische Indikatoren und Zubehör
für Sterilisationsprozesse



**Sporenstreifen, Ampullen, Suspensionen
Selbstentwickelnde Mini-Bio-Plus Indikatoren**

zur Überwachung von Dampf-, Formaldehyd-, Wasserstoffperoxid-,
Ethylenoxid- und Heißluft-Sterilisationsprozessen
sowie Raumdesinfektionsprozessen

Allgemeine Informationen über BioIndikatoren	4
Selbstentwickelnde Mini-Bio-Plus Indikatoren	6
Für Dampfsterilisationsprozesse	6
Für Formaldehyd-Sterilisationsprozesse	7
Für Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozesse	8
Für Ethylenoxid-Sterilisationsprozesse	8
PCDs und Zubehör	9
Bio-PCDs und Ersatzteile	9
Aktivierungswerkzeug für selbstentwickelnde Bioindikatoren	9
Inkubator und Zubehör	10
Stearo-Ampullen	10
Suspensionen	11
<i>Geob. stearothermophilus</i>	11
<i>B. atrophaeus</i>	11
Direkt-Inokulationsspritze	11
Nährmedium	12
Sporenstreifen	12
Für Dampf- und Formaldehyd-Sterilisationsprozesse	12
Für Ethylenoxid- und Heißluft-Sterilisationsprozesse	12
Für Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozesse	13
Sporendiscs	13
Für Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozesse	13
Grundlagen der Abtötungskinetik	14

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Die Sterilisation in Industrie und Krankenhaus hat heute einen hohen Qualitätsstand, zum Nutzen und zur Sicherheit der Patienten und Betreiber gleichermaßen, erreicht. Wenn der heute übliche große Aufwand bei der Durchführung und Überwachung der Sterilisation - und die damit verbundenen Kosten - kritisiert wird, muss entgegen gehalten werden, dass die Zuverlässigkeit der Sterilisation die Grundvoraussetzung für die Asepsis bei den heute möglichen komplizierten Operationen darstellt. Unabhängig von der moralischen Verpflichtung, alles Mögliche zu tun, um Infektionen zu vermeiden, fordert die Medizinprodukte- (MP) Gesetzgebung die Validierung aller Sterilisationsprozesse gleichermaßen in Industrie und Gesundheitswesen sowie deren Überwachung und Dokumentation.

Die Validierung von Sterilisationsprozessen kann mit Hilfe von biologischen und/oder chemischen Indikatoren und/oder durch physikalische Messungen erfolgen.

Die DIN EN ISO 11138-1 bis 5 beschreiben Bio-Indikatoren für Heißluft-, Dampf-, LTSF- und Ethylenoxid-Sterilisationsprozesse, bisher jedoch nicht für Wasserstoffperoxid (H₂O₂)/Plasma-Sterilisationsprozesse.

Für die Überwachung von Sterilisationsprozessen stehen folgende Keime zur Verfügung

Prüfkeim	Sterilisationsprozess
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Dampf, Formaldehyd, Wasserstoffperoxid
<i>Bacillus atrophaeus</i>	Ethylenoxid, Heißluft

An Bio-Indikatoren werden entsprechend der Norm DIN EN ISO 11138-1 folgende Anforderungen gestellt:

- Bio-Indikatoren müssen in einer Umhüllung verpackt sein, die für das Sterilisationsmittel durchlässig ist, eine Rekontamination durch das Eindringen von Keimen jedoch verhindert.
- Vom Hersteller der Bio-Indikatoren ist auf der Umhüllung der Indikatortyp und die Chargennummer anzugeben sowie ein Zertifikat beizulegen, aus dem das Verfallsdatum, die genauen Populationen und der D-Wert hervorgehen.

Das bedeutet, dass abhängig von der Art des Sterilisationsprozesses Bio-Indikatoren mit Testkeimen einer ganz bestimmten Resistenz ausgewählt werden müssen. Die Abtötungsgeschwindigkeit von Bio-Indikatoren über die Zeit folgt einer exponentiellen Funktion. Der logarithmische Auftrag der Population über die Zeit ergibt eine Gerade, deren Steigung ein Maß für die Resistenz der Bio-Indikatoren ist. Die Keimresistenz wird Dezimale Reduktionszahl oder „D-Wert“ genannt. Der D_{121°C}-Wert (in [min] angegeben) stellt die Zeit dar, die notwendig ist, um die Keimbelastung um eine Zehnerpotenz oder 90 % des Ausgangswertes in einem Dampfsterilisationsprozess zu verringern. Der D-Wert kann immer nur für einen bestimmten Sterilisationsprozess angegeben werden, z. B. D_{Dampf 121°C}.

Die Abtötungskinetik folgt einer exponentiellen Funktion 1. Ordnung, ähnlich dem radioaktiven Zerfall. Daraus kann geschlossen werden, dass die Keimbelastung über die Sterilisationszeit zwar immer kleiner, jedoch nicht Null wird. Daher geht die moderne Definition der Sterilität nicht von Keimfreiheit, sondern von extremer Keimarmut aus.

RESISTENZ VON BIOLOGISCHEN INDIKATOREN

Die Euronorm EN 556 fordert einen SAL (sterility assurance level) von $< 10^{-6}$ Keimen/Teil. Die Angabe 10^{-6} Keime/Teil sagt aus, dass von einer Million (10^6) sterilisierten Teilen ein Stück mit einem Keim belastet sein darf. Man spricht auch von der "Sterilisationswahrscheinlichkeit". Je größer die Population (Menge) und der D-Wert der Keime ist, desto länger dauert die Abtötung bei sonst gleichen Sterilisationsbedingungen.

Die Gesamtresistenz eines biologischen Indikators ist durch die Höhe seiner Population und der Keimresistenz, dem D-Wert, bestimmt und wird durch den F_{Bio} -Wert in Minuten angegeben:

$$F_{\text{Bio}}\text{-Wert} = \text{D-Wert} \times \lg(\text{Pop.})$$

Er gibt die Sterilisationszeit an, die notwendig ist, um die Population im Mittel auf einen Keim zurückzuführen (aus statistischen Gründen ergibt sich hieraus für einen Bioindikator eine Wachstumswahrscheinlichkeit von 66%). Für Standard-Dampfsterilisationsprozesse im Gesundheitswesen wird in der DIN EN ISO 11138 eine Population $\geq 1,0 \times 10^5$ und ein $D_{121}^{\circ\text{C}}$ -Wert von $\geq 1,5$ min gefordert. Daraus ergibt sich ein Mindest- F_{Bio} -Wert von $\geq 7,5$ min.

Die Gesamtresistenz soll an zwei einfachen Beispielen erläutert werden:

Beispiel	Population [KBE/Streifen]	D_{121} -Wert [min]	F_{Bio} -Wert [min]
1	10^6	1,0	6
2	10^5	2,0	10

Beispiel 1 mit seiner hohen Population mit 10^6 KBE erfüllt die DIN EN ISO 11138 nicht, da der $D_{121}^{\circ\text{C}}$ -Wert unter 1,5 min und der F_{Bio} -Wert unter 7,5 min liegt. Obwohl in Beispiel 2 die Keimzahl nur den zehnten Teil beträgt (10^5 KBE), ist der Bioindikator insgesamt resistenter und erfüllt die Norm. Wegen der Abhängigkeit der Sterilisierzeit von der Population ist es wichtig, das zu sterilisierende Gut mit möglichst geringer Keimzahl (geringem „Bioburden“) in den Sterilisationsprozess einzubringen.

Jede Verpackung enthält ein Zertifikat, in dem die tatsächlich gemessenen D- und Populationswerte spezifiziert sind mit Angabe der jeweiligen Normen und Pharmakopien.

GKE Bio-Indikatoren sind mit unterschiedlichen D-Werten erhältlich. Sollte ein bestimmter D-Wert erforderlich sein, kann geprüft werden, ob die Fertigung eines Bio-Indikators mit der gewünschten Eigenschaft möglich ist.

SELBSTENTWICKELNDE BIOINDIKATOREN

1. GKE Steri-Record® Selbstentwickelnde Bioindikatoren

Selbstentwickelnde biologische Indikatoren „Mini-Bio-Plus“ (SCBI = self-contained biological indicator) mit Sporenplatte und Nährmedium mit pH-Indikator werden für die Validierung und Überwachung von Sterilisationsprozessen eingesetzt. Zur besseren Unterscheidung haben die SCBIs verschiedene Kappenfarben. Sie können auch in speziell entwickelten GKE-Prüfkörpern (Bio-C-PCDs) eingesetzt werden (siehe 1.5). Alle SCBIs entsprechen der DIN EN ISO 11138-1.

1.1. für Dampfsterilisationsprozesse

G. Stearothermophilus mit den Populationen 10^5 und 10^6 erhältlich, auf Papierträger gemäß DIN EN ISO 11138-3.

Es sind drei Versionen erhältlich:

1.1.1. Standard SCBIs mit einer Entwicklungszeit von 24 Stunden



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe	Population
324-501	10	B-S-MBP-10-5	Hellblau	10^5
324-505	50			
324-510	100			
324-601	10	B-S-MBP-10-6	Dunkelblau	10^6
324-605	50			
324-610	100			

1.1.2. Instant-SCBIs zur sofortigen Auswertung

Die 121°C und 134°C Instant-Mini-Bio-Plus SCBI enthalten zusätzlich im Inneren des Gehäuses einen Chemo-Indikator Typ 5, der das Ergebnis direkt am Ende des Dampfsterilisationsprozesses (121-124°C oder 132-137°C) anzeigt. Dadurch muss die Inkubation für die Freigabe nicht abgewartet werden, da der Typ 5 Indikator entsprechend der DIN EN ISO 11140-1 eine gleiche bzw. bessere Aussage über den Sterilisationsprozess liefert. Das Instant-Mini-Bio-Plus SCBI muss je nach Einsatz entsprechend für die richtige Temperatur ausgewählt werden.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe	Population	Sterilisationstemperatur
324-521	10	B-S-MBP-I-10-5-SV5	Hellgrün	10^5	121-124 °C
324-525	50				
324-551	10	B-S-MBP-I-10-5-SV4	Hellorange	10^5	132-137 °C
324-555	50				
324-550	100				
324-651	10	B-S-MBP-I-10-6-SV4	Dunkelorange	10^6	132-137 °C
324-655	50				
324-650	100				

SELBSTENTWICKELNDE BIOINDIKATOREN

1.1.3. Activation Control SCBI (AC-SCBI®)

Das SCBI mit Aktivierungskontrolle enthält eine Glasampulle mit farblosem Nährmedium, das erst nach Aktivierung des SCBIs farbig wird und so eine Fehlanwendung verhindert.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe	Population
324-591	10	B-S-AC-MBP-10-5	Hellblau	10^5
324-595	50			
324-590	100			
324-691	10	B-S-AC-MBP-10-6	Dunkelblau	10^6
324-695	50			
324-690	100			

1.1.4. Activation Control 134°C Instant-SCBI (134°C Instant AC-SCBI®)

Kombination eines Instant-SCBI bei 134 °C (1.1.2) und eines AC-SCBIS (1.1.3).



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe	Population
324-581	10	B-S-AC-MBP-I-10-5 (132-137 °C)	Hellorange	10^5
324-585	50			
324-580	100			

1.2. für Formaldehyd- (NTDF) Sterilisationsprozesse

G. stearothermophilus mit Population 10^6 erhältlich, auf Papierträger gemäß DIN EN ISO 11138-5. Das Nährmedium enthält zusätzlich ein Neutralisationsmittel, so dass die Bebrütung sofort nach dem Sterilisationsprozess erfolgen kann, ohne - wie in der o. g. Norm beschrieben - zuvor eine Neutralisation mit Na_2SO_3 durchzuführen.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe
325-601	10	B-F-MBP-10-6	Gelb
325-605	50		

SELBSTENTWICKELNDE BIOINDIKATOREN

1.3. für Wasserstoffperoxid-/Plasma-Sterilisationsprozesse

G. stearothermophilus mit Population 10^6 erhältlich, auf verschiedenen Trägermaterialien



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Träger	Kappenfarbe
327-601	10	B-V-G-MBP-10-6*	Glasfaser	Hellgrau
327-605	50			
327-610	100			
337-601	10	B-V-T-MBP-10-6*	Tyvek	Farblos
337-605	50			
347-601	10	B-V-ST-MBP-10-6*	Edelstahl	Dunkelgrau
347-605	50			
357-601	10	B-V-P-MBP-10-6*	PET	Violett
357-605	50			

(*) Für Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozesse gibt es vier verschiedene Varianten mit exakt demselben Keim und derselben Population. Es zeigt sich, dass die Beständigkeit von biologischen Indikatoren bei Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozessen nicht nur von Population und Sporentyp, sondern auch extrem vom verwendeten Trägermaterial abhängt.

1.4. für Ethylenoxid-Sterilisationsprozesse

B. atrophaeus mit Population 10^6 erhältlich, auf Papierträger gemäß DIN EN ISO 11138-2.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Kappenfarbe
326-605	50	B-E-MBP-10-6**	Rot
326-610	100		

(**) Zusätzlich zu den Forderungen der EN ISO 11138-2 und der United States Pharmakopöe (USP) können noch folgende Resistenzmessungen nach Europäischer Pharmakopöe (EP) durchgeführt werden:

Abtötung 25 min 54°C, 600 mg/l EO, 60 % rel. Luftfeuchtigkeit

Überleben 50 min 30°C, 600 mg/l EO, 60 % rel. Luftfeuchtigkeit

Die Resistenzbestimmung gemäß EP ist als Zertifikat auf Anfrage gegen Berechnung (Art.-Nr. 326-999) für einzelne Chargen erhältlich.

PRÜFKÖRPER UND ZUBEHÖR

1.5. Prüfkörper für selbstentwickelnde Bioindikatoren

Bio-C-PCD[®]s, Farbe: grün, speziell zur Verwendung mit allen aufgeführten Mini-Bio-Plus SCBIs für die Validierung und Überwachung von Dampf-, Ethylenoxid- Formaldehyd- und Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozessen oder Helix-PCD für Ethylenoxid-Sterilisationsprozesse.

Die runden Prüfkörper werden für den Einsatz in Groß-, die ovalen für den Einsatz in Kleinsterilisatoren empfohlen. Ein PCD mit einem darin verwendeten SCBI ist ein Typ 2 Indikatorsystem gemäß DIN EN ISO 11140-1.

Jedem Prüfkörper liegen zusätzlich 5 Dichtungsringe zum regelmäßigen Austausch in der Schraubkappe bei.



Art.-Nr.	Bezeichnung	PCD-Version	Penetrationseigenschaften
300-031	B-PM-OCPCD-0	oval	Sehr minimale Anforderungen an die Entlüftungseigenschaften
300-032	B-PM-RCPCD-0	rund	
300-033	B-PM-OCPCD-1	oval	Minimale Anforderungen an die Entlüftungseigenschaften
300-034	B-PM-RCPCD-1	rund	
300-035	B-PM-OCPCD-2	oval	Geringe Anforderungen an die Entlüftungseigenschaften
300-036	B-PM-RCPCD-2	rund	
300-037	B-PM-OCPCD-3	oval	Weniger empfindlich als Hohlkörper test DIN EN 867-5
300-038	B-PM-RCPCD-3	rund	
300-039	B-PM-OCPCD-4	oval	Entspricht Hohlkörper test gemäß DIN EN 867-5
300-040	B-PM-RCPCD-4	rund	
300-041	B-PM-RCPCD-5	rund	Empfindlicher als Hohlkörper test gemäß DIN EN 867-5
300-042	B-PM-RCPCD-6	rund	
300-028	B-E-PM-HPCD	Helix	Typ test gemäß Line/Pickerill (DIN EN 1422:2009 (EO))

1.6. Zubehör

1.6.1. Ersatzteile für Prüfkörper



Art.-Nr.	Bezeichnung	Menge
300-005	Ersatz-Edelstahl-Kunststoff-Schraubkappe (M14x1 Gewinde)	5
300-006	Ersatz-Dichtungssatz	5

1.6.2. Aktivierungswerkzeug für SCBIs

zur Aktivierung aller GKE SCBIs. Der GKE Inkubator hat bereits ein Aktivierungswerkzeug integriert.



Art.-Nr.	Bezeichnung	Material	Menge
224-002	I-C	Edelstahl	1
224-004	I-PC	Plastik	10

INKUBATOREN UND ZUBEHÖR

2. GKE Steri-Record® Inkubatoren und Zubehör

Der Inkubator ist in vier verschiedenen Versionen für unterschiedliche Temperaturen lieferbar. Die Inkubationstemperatur wird im Display angezeigt. Alle Inkubatoren sind entweder mit einem Aluminiumeinsatz zur Aufnahme von 12 Mini-Bio-Plus SCBIs sowie Crusher erhältlich, oder alternativ ist jeder Inkubator ohne Aluminiumeinsatz lieferbar. In diesem Fall muss ein Aluminiumeinsatz, erhältlich für unterschiedliche Anwendungen (siehe 2.2. Zubehör), separat bestellt werden. Das Netzteil enthält eine CE-Kennzeichnung für die Niederspannungsrichtlinien.

2.1. Inkubatoren



Art.-Nr.	Bezeichnung	Temperatur	Anwendung
Mit Aluminiumeinsatz für 12 SCBIs (Durchmesser 10 mm)			
610-119	I-37-AB-MBP	37	zur Inkubation von <i>B. atrophaeus</i> biologischen Indikatoren
610-120	I-57-AB-MBP	57	zur Inkubation von <i>G. stearothermophilus</i> biologischen Indikatoren
610-121	I-V-AB-MBP	30 - 60	mit variabler Temperatureinstellung
610-122	I-V-T-AB-MBP		mit variabler Temperatureinstellung und Programmierung der Inkubationszeit
Ohne Aluminiumeinsatz			
610-109	I-37	37	zur Inkubation von <i>B. atrophaeus</i> biologischen Indikatoren
610-110	I-57	57	zur Inkubation von <i>G. stearothermophilus</i> biologischen Indikatoren
610-111	I-V	30 - 60	mit variabler Temperatureinstellung
610-112	I-V-T		mit variabler Temperatureinstellung und Programmierung der Inkubationszeit

2.2. Zubehör

Aluminiumeinsätze zur Aufnahme von jeweils 12 Stück SCBIs, Stearo-Ampullen oder Nährmedium-Röhrchen.



Art.-Nr.	Bezeichnung	Durchmesser	Anwendung
610-113	I-AB-MBP	10 mm	für alle GKE Mini-Bio-Plus SCBIs
610-114	I-AB-AMP	11 mm	für alle GKE Stearo-Ampullen und Mini-Ampullen
610-115	I-AB-CM	16.5 mm	für alle GKE Nährmedium-Röhrchen

3. GKE Steri-Record® Stearo-Ampullen

zur Überwachung von Dampfsterilisationsprozessen in extrem feuchter Umgebung oder in Flüssigkeiten. Die Ampullen sind in zwei verschiedenen Größen erhältlich. Sie enthalten in einer Glasampulle eine *Geob. Stearothermophilus* Suspension 1,5 oder 0,2 ml mit Nährmedium und pH-Indikator, mit den Populationen 10^5 oder 10^6 KBE. Sie entsprechen der Norm DIN EN ISO 11138-1 + 3.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Population [KBE/Amp.]	Durchmesser/Höhe
225-550	50	B-S-AMP-10-5	10^5	11 / 45 mm (1.5 ml)
225-650		B-S-AMP-10-6	10^6	
235-510	100	B-S-MAMP-10-5	10^5	5 / 25 mm (0.2 ml)
235-610		B-S-MAMP-10-6	10^6	

Suspensionen und Ampullen

4. GKE Steri-Record® Suspensionen

Die Sporensuspensionen (10 ml) sind in 40 % Ethanol/Wasser, verpackt in Glasflaschen mit Gummiseptum erhältlich und entsprechen der DIN EN ISO 11138-1.

4.1. für Ethylenoxid- und Heißluft- Sterilisationsprozesse

Die Suspension *B. atrophaeus* wird mit Zertifikat geliefert, in dem Population und D-Wert für Ethylenoxid gemäß DIN EN ISO 11138-2, EP und USP angegeben sind. Sofern die Suspension in Heißluft- oder Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozessen Verwendung finden soll, ist dies aufgrund von Unterschieden im Herstellungsprozess bereits bei Bestellung anzugeben. Die Messung für Heißluft (Art.-Nr. 226-999) sowie für Wasserstoffperoxid (Art.-Nr. 226-997) ist auf Anfrage gegen Berechnung möglich.



Art.-Nr.	Bezeichnung	Population [KBE/ml]	Population/Flasche
226-107	B-E-H-SUS-10-7	10^7	10^8
226-108	B-E-H-SUS-10-8	10^8	10^9
226-109	B-E-H-SUS-10-9	10^9	10^{10}

4.2. für Dampf-, Formaldehyd- und Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozesse

Die Suspension *G. stearothermophilus* wird mit Zertifikat geliefert, in dem Population und $D_{121^\circ\text{C}}$ -Wert für Dampf gemäß DIN EN ISO 11138-3 bzw. Wasserstoffperoxid angegeben sind. Eine Norm für H_2O_2 existiert noch nicht. Sofern die Suspension in Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozessen Verwendung finden soll, ist dies aufgrund von Unterschieden im Herstellungsprozess bereits bei Bestellung anzugeben. Der D-Wert für Formaldehyd gemäß DIN EN ISO 11138-5 (Art.-Nr. 228-998) kann auf Anfrage gegen Berechnung bestimmt werden.



Art.-Nr.	Bezeichnung	Population [KBE/ml]	Population/Flasche	Sterilisationsprozess
228-107	B-S-F-SUS-10-7	10^7	10^8	Dampf, Formaldehyd
228-108	B-S-F-SUS-10-8	10^8	10^9	
229-107	B-V-SUS-10-7	10^7	10^8	Wasserstoffperoxid
229-108	B-V-SUS-10-8	10^8	10^9	

4.3. Direkt-Inokulationsspritze

zur Überprüfung der Sterilität von komplexen Instrumenten in Sterilisationsprozessen. Verwendbar mit einer Suspension *G. stearothermophilus* oder *B. atrophaeus* (siehe 4.1 und 4.2).



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Inhalt
228-111	1	I-SYRINGE	Präzisionspritze mit 20 cm langer Nadel

NÄHRMEDIUM UND SPORENSTREIFEN

5. GKE Steri-Record® Nährmedium

Prüfröhrchen mit Aluminium-Schraubkappe (Durchmesser: 16,1 mm), gefüllt mit TSB und pH-Indikator. Die Prüfröhrchen sind in ihren Abmessungen und im Volumen optimiert und können zur Bebrütung von allen Sporenstreifen und Sporendisks eingesetzt werden. Bei Wachstum der Keime schlägt die Farbe des pH-Indikators um und ermöglicht so eine schnelle Beurteilung des Ergebnisses.



Art.-Nr.	Menge	Bezeichnung	Prozess	Keim
221-010	10	B-E-H-CM	Ethylenoxid, Heißluft	<i>B. atrophaeus</i>
221-100	100			
223-010	10	B-S-V-CM	Dampf, Wasserstoff- peroxid	<i>G. stearo- thermophilus</i>
223-100	100			
330-010*	10	B-F-CM	Formaldehyd	
330-100*	100			

* nur auf Anfrage

6. GKE Steri-Record® Sporenstreifen

Die Bioindikator-Streifen (6 x 38 mm), inokuliert mit Bakteriensporen werden mit Zertifikat geliefert, in dem Population und D-Wert angegeben sind. Alle Sporenstreifen können auch in Prüfkörpern eingesetzt werden. Alternativ werden die Bakteriensporen auf Discs mit 7 mm Durchmesser inokuliert und sind einzeln oder zusammen in einer Blisterbox verpackt erhältlich.

6.1. für Heißluft- und Ethylenoxid-Sterilisationsprozesse

Die Sporenstreifen *B. atrophaeus*, verpackt in Glassine-Umschlägen, entsprechen den Normen DIN EN ISO 11138-2 und -4. Die Resistenzbestimmung gemäß EP (art.-no. 221-999), siehe 1.4) ist auf Anfrage gegen Berechnung erhältlich.



Art.-Nr.	Menge	Träger	Bezeichnung	Population
221-601	100	Papier	B-E-H-SS-10-6	10 ⁶
221-605	500			
221-610	1.000			

6.2. für Dampf- und Formaldehyd-Sterilisationsprozesse

Die Sporenstreifen *G. stearo-thermophilus*, verpackt in Glassine-Umschlägen, entsprechen der Norm DIN EN ISO 11138-3. Die Resistenzbestimmung für NTDF (Formaldehyd) gemäß DIN EN ISO 11138-5 (Art.-Nr. 223-998) ist auf Anfrage gegen Berechnung erhältlich.



Art.-Nr.	Menge	Träger	Bezeichnung	Population
223-501	100	Papier	B-S-SS-10-5	10 ⁵
223-505	500			
223-510	1.000			
223-601	100		B-S-SS-10-6	10 ⁶
223-605	500			
223-610	1.000			

SPORENSTREIFEN UND DISCS

6.3. für Wasserstoffperoxid-Dekontaminations- und Sterilisationsprozesse

Um Isolatoren oder ganze Räume zu dekontaminieren, können auf Wasserstoffperoxid basierte Verfahren eingesetzt werden. Zur Überwachung können unverpackte biologische Sporendiscs eingesetzt werden, die an kritischen Stellen im Raum oder z. B. an Geräten positioniert werden.

Für die Resistenzbestimmung gibt es noch keine DIN, EN oder ISO Norm. Die Messwerte werden als Suspension in Flüssigkeit gemessen und mit dieser Suspension wird der Träger anschließend beimpft. Damit bleibt der Einfluss des Trägermaterials auf die Resistenz der BI-Suspension unberücksichtigt.

6.3.1. als Streifen (6 x 38 mm)

Die Bioindikatoren bestehen aus *G. Stearothermophilus* Bakteriensporen, inokuliert auf verschiedenen Trägern der Größe 6 x 38 mm und einzeln (in Tyvek-Umschlägen à 94 x 65 mm) oder als Bulkware in einer Blisterbox verpackt. Sie enthalten ein Zertifikat mit Angabe von Nominalpopulation und D-Wert. Alle Sporenstreifen können auch im Inneren eines PCDs verwendet werden.



Art.-Nr.	Menge	verpackt	Träger	Bezeichnung	Population
332-407	100	einzeln	Edelstahl	B-V-ST-SS-10-4	10 ⁴
332-507	100	einzeln		B-V-ST-SS-10-5	10 ⁵
332-607	100	einzeln		B-V-ST-SS-10-6	10 ⁶
332-608	40	Bulk			
332-601	100	einzeln	PET	B-V-P-SS-10-6	
332-604	40	Bulk*			
332-602	100	einzeln	Glasfaser	B-V-G-SS-10-6	
332-605	40	Bulk*			
332-603	100	einzeln	Tyvek	B-V-T-SS-10-6	
332-606	40	Bulk*			

6.3.2. als Discs (7 mm Durchmesser)

Die *G. Stearothermophilus* Bakteriensporen sind auf Discs mit 7 mm Durchmesser inokuliert (erhältlich auf verschiedenen Trägern) und sind einzeln verpackt (in Tyvek-Umschlägen à 60 x 65 mm) oder als Bulkware in einer Blisterbox erhältlich.



Art.-Nr.	Menge	verpackt	Träger	Bezeichnung	Population
332-417	100	einzeln	Edelstahl	B-V-ST-DIS-SP-10-4	10 ⁴
332-517				B-V-ST-DIS-SP-10-5	10 ⁵
332-617				B-V-ST-DIS-SP-10-6	10 ⁶
332-415	110	Bulk*		B-V-ST-DIS-SP-10-4	10 ⁴
332-515				B-V-ST-DIS-SP-10-5	10 ⁵
332-615				B-V-ST-DIS-SP-10-6	10 ⁶
332-612	100	einzeln	PET	B-V-P-DIS-SP-10-6	
332-614	110	Bulk*			
332-616	100	einzeln	Glasfaser	B-V-G-DIS-SP-10-6	
332-611	110	Bulk*			
332-618	100	einzeln	Tyvek	B-V-T-DIS-SP-10-6	
332-613	110	Bulk*			

* keine Lagerware, auf Anfrage erhältlich.

Grundlagen der Abtötungskinetik und Auslegung von Sterilisationsprozessen

Autor: Dr. Ulrich Kaiser

Inhaltsverzeichnis

- 1. Die Abtötungsgeschwindigkeit bei Sterilisationsprozessen**
 - 1.1. Definition der Reaktion 1. Ordnung
 - 1.2. Inaktivierungsfaktor
 - 1.3. Dezimaler Reduktionsfaktor (D-Wert)
 - 1.4. Experimentelle Bestimmung der Resistenz eines Bioindikators
 - 1.4.1. D-Wert-Bestimmung durch die MPN-Methode
 - 1.4.2. Bestimmung des D-Wertes aus der Überlebenskurve
 - 1.4.3. Überlebens-Abtötungs-Fenster
- 2. Definition der Sterilisationswahrscheinlichkeit (Sterility Assurance Level = SAL)**
 - 2.1. Definition eines sterilen Produktes nach der Euronorm EN 556
- 3. Temperaturabhängigkeit des Sterilisationsprozesses**
 - 3.1. Arrhenius-Gleichung
 - 3.2. Definition des z-Wertes (Temperatur-Koeffizient des D-Wertes)
- 4. Sterilisationsprozess-Äquivalentzeit ($F_{(T,z)}$ -Wert)**
 - 4.1. F_0 -Wert
 - 4.2. Andere $F_{(T,z)}$ -Werte
- 5. Prozessauslegung von Sterilisationsverfahren**
 - 5.1. Prozessauslegung bei bekannten Ausgangsbedingungen
 - 5.2. Auslegung des Sterilisationsverfahrens bei wechselnden oder unbekannten Ausgangsbedingungen (Overkill-Verfahren)
- 6. Anforderungen und Auswahl von Bioindikatoren zur Validierung und Routinekontrolle**
 - 6.1. Auswahl der Stämme
 - 6.2. Resistenz von Bioindikatoren
 - 6.3. Auswahl von Bioindikatoren für die Routinekontrolle
 - 6.4. Platzierung von Bioindikatoren
- 7. Verzeichnis der im Text verwendeten Parameter und Symbole**

1. Die Abtötungsgeschwindigkeit bei Sterilisationsprozessen

Die mathematischen Gesetze für die Geschwindigkeit der Abtötung von Mikro-Organismen sind in den meisten bekannten Sterilisationsverfahren gleich, sofern die physikalischen und/oder chemischen Parameter während der Sterilisation konstant bleiben. Unter gleichen Sterilisationsbedingungen unterscheidet sich allerdings die Resistenz der Keime beträchtlich. Selbst Sporen identischer Stämme von Mikroorganismen mit der gleichen Referenznummer (z.B. *G. stearothermophilus*), können in Abhängigkeit von den Wachstums- und Sporulierungsbedingungen eine sehr unterschiedliche Resistenz aufweisen, die sich bis zum Faktor 10 unterscheiden kann. Unter der Bedingung, dass es sich um identische Keime handelt und der Sterilisationsprozess unter gleichen chemischen und/oder physikalischen Bedingungen abläuft, ist die Abtötungsgeschwindigkeit in der Regel nur abhängig von der gerade vorhandenen Keimzahl und dem verwendeten Sterilisationsprozess. Dies gilt zumindest in den bekannten Heißluft-, Dampf-, Formaldehyd-, Ethylenoxid- und Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozessen.

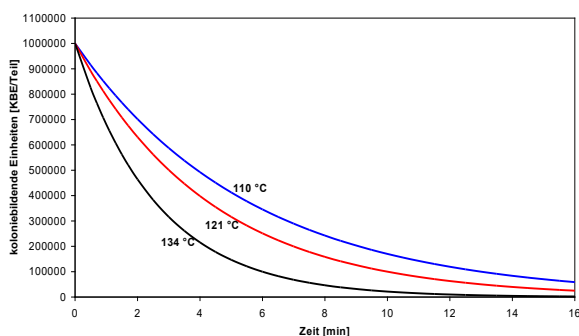


Diagramm 1: Darstellung der Abtötungskurve für die Dampfsterilisation bei verschiedenen Temperaturen

1.1. Definition der Reaktion 1. Ordnung

Die Geschwindigkeit der Abtötung wird durch den in Gleichung (1) genannten Differentialquotient ausgedrückt und beschreibt die Abnahme der Zahl der Keime N über die Zeit t und wird als Reaktionsgeschwindigkeit 1. Ordnung bezeichnet.

$$\frac{dN}{dt} = -k' \cdot N \quad (1)$$

t = Zeit [min]
 N = zum Zeitpunkt vorhandene Lebendkeimzahl [KBE/Teil]
 k' = Reaktionsgeschwindigkeitskonstante [min^{-1}] (gültig für Logarithmus naturalis)

Die Änderung der Keimzahl mit der Zeit ist immer proportional der momentan vorhandenen Lebendkeimzahl N in der gesamten Beladung. Die Proportionalitätskonstante k' wird Reaktionsgeschwindigkeitskonstante genannt. Sie ist von der Art des Sterilisationsprozesses abhängig. Bei den meisten Sterilisationsprozessen ist sie temperaturabhängig.

Stellt man Gleichung 1 um, integriert diese und wandelt den natürlichen Logarithmus in den dekadischen um, so ergibt sich mit der neuen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k :

$$\lg \frac{N_0}{N_F} = k \cdot t \quad (2)$$

t = Sterilisationseinwirkzeit [min]
 N_0 = Ausgangskeimzahl [KBE]
 N_F = Keimzahl am Prozessende [KBE]
 I_F = Inaktivierungsfaktor [Zahl]
 k = Reaktionsgeschwindigkeitskonstante [min^{-1}] (gültig für dekadischen Logarithmus)

Wird die Skala der koloniebildenden Einheiten nicht, wie im Diagramm 1 linear sondern logarithmisch dargestellt, bilden sich unter der Bedingung, dass es sich bei den abgetöteten Keimen nur um eine Spezies mit einer bestimmten Resistenz handelt aus den Kurven Geraden sofern Dampf-, Ethylenoxid- Heißluft- und LTSF-Sterilisationsprozesse verwendet werden. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) Sterilisationsprozesse werden auf Grund der komplexen chemischen Prozesse nichtlinear. In der Praxis kann es zu Nichtlinearitäten durch Sporen gleicher Spezies kommen, wenn diese eine nicht homogene Resistenz aufweisen.

1.2. Inaktivierungsfaktor

Durch Umstellung der Gleichung ergibt sich:

$$\lg N_0 - \lg N_F = k \cdot t = IF \quad (3)$$

Der Term IF gibt eine Aussage über die Verminderung der Keimzahl oder die Zahl der dezimalen Reduktionsstufen während eines Sterilisationsprozesses und wird Inaktivierungsfaktor genannt. Startet eine Sterilisation mit 10^6 [KBE/Teil] und endet mit 10^2 [KBE/Teil] erfolgt eine Keimzahl-Reduktion um 4 Zehnerpotenzen oder einen Inaktivierungsfaktor (IF) von 4 (s. Diagramm 2).

1.3. Dezimaler Reduktionsfaktor (D-Wert)

Der dezimale Reduktionsfaktor oder kurz der D-Wert ist ein Maß für die Widerstandsfähigkeit eines Keimes bei einem gegebenen Sterilisationsprozess. Der D-Wert gibt an, wie lange ein Sterilisationsprozess auf die Mikro-Organismen einwirken muss, um eine Reduzierung der Keimzahl um eine Zehnerpotenz bzw. 90% der Ausgangskeimzahl zu erreichen. Im Dampf-, Ethylenoxid-, Formaldehyd-, und Wasserstoffperoxid-Sterilisationsprozess wird der D-Wert mit einer der Dimension Zeit [in min], bei der Strahlensterilisation mit der Dimension Strahledosis [in Mrad] angegeben. Er kann experimentell bestimmt werden. Trägt man den Logarithmus der im Sterilisationsprozess zur Zeit t noch vorhandenen Keimzahl gegen die Zeit auf, erhält man eine Gerade, deren negativer Reziprokwert der Neigung der D-Wert ist. Der D-Wert gilt immer nur für einen bestimmten Sterilisationsprozess und einen definierten Keim.

Für Dampf wird im Index die Sterilisationstemperatur angegeben. Im Zertifikat von Bioindikatoren ist meistens der $D_{121^\circ\text{C}}$ -Wert angegeben. Er ist stark temperaturabhängig, wie aus Diagramm 2 hervorgeht.

$$D_T = \frac{1}{k} \quad (4)$$

D_T = Dezimaler Reduktionsfaktor [min] oder [Mrad]
 k = Reaktions-Geschwindigkeitskonstante des lg [min^{-1}]

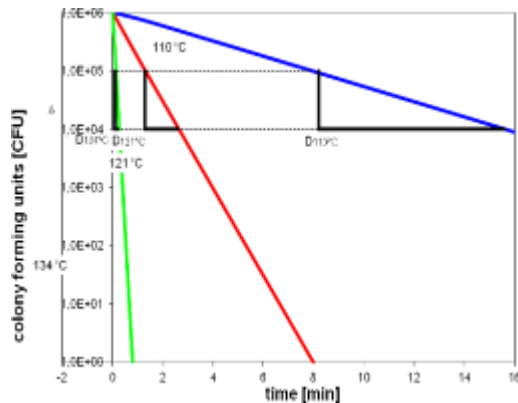


Diagramm 2: Darstellung des D-Wertes bei verschiedenen Temperaturen

Setzt man Gleichung 4 in Gleichung 3 ein, erhält man:

$$\lg N_0 - \lg N_F = \frac{t}{D_T} = IF \quad (5)$$

N_0 = Ausgangskeimzahl [KBE]
 N_F = Keimzahl nach Sterilisation [KBE]
 D_T = Dezimaler Reduktionsfaktor [min] oder [Mrad] (D_T -Wert)
 t = Einwirkzeit [min]
 IF = Inaktivierungsfaktor [Zahl] (Dezimale Reduktionsstufe)

Dividiert man die Einwirkzeit durch den D-Wert, erhält man den Inaktivierungsfaktor IF der gleichbedeutend mit der Zahl der dezimalen Reduktionsstufen ist. Die Sterilisationszeit, die einer D-Wert-Einheit entspricht, reduziert die Population um 90% oder um eine dezimale Reduktionsstufe.

Ist der D-Wert bekannt, kann die Sterilisationszeit errechnet werden, um die Keimzahl um eine bestimmte Zahl von dezimalen Reduktionsstufen zu verkleinern. Die Ausgangskeimzahl ist dabei unbedeutend. Verändert sich die Ausgangskeimzahl N_0 , verändert sich bei gleicher Einwirkzeit die Endkeimzahl N_F entsprechend. Damit ist bei einem vorgegebenen Sterilisationsprozess die Ausgangskeimzahl entscheidend für den Endwert. Um die erforderliche Sterilisationszeit zu erhalten, kann Gleichung 5 entsprechend geändert werden:

$$t = (\lg N_0 - \lg N_F) * D_T = IF * D_T \quad (6)$$

1.4 Experimentelle Bestimmung der Resistenz eines Bioindikators

Die Resistenz kann einerseits durch die Bestimmung des D-Wertes nach DIN EN ISO 11138-1 durch zwei Methoden (siehe Annex C und D) oder durch das Überlebens- und Abtötungsfenster (siehe Annex E der Norm) bestimmt werden.

1.4.1 D-Wert-Bestimmung durch die MPN-Methode

(Most probable number, Bestimmung der wahrscheinlichsten Anzahl) Keime bestimmter Population werden bei definierten Einwirkungsbedingungen abgestuften Sterilisationszeiten ausgesetzt, wobei alle anderen Prozessvariablen mit Ausnahme der Zeit konstant gehalten werden. Für jede Einwirkzeit müssen mindestens zwanzig beimpfte Keimträger verwendet werden. Nach der Einwirkung werden die Keime auf ihre Wachstumsfähigkeit untersucht. Mindestens sieben verschiedene Sterilisationszeiten sind zu prüfen und zwar:

- mindestens ein Probensatz, bei dem alle geprüften Proben Wachstum aufweisen;
- mindestens vier Probensätze, bei denen ein Bruchteil der Proben Wachstum aufweist;
- mindestens zwei Probensätze, bei denen kein Wachstum beobachtet wird.

Aus den Ergebnissen dieser Versuchsreihe wird der D-Wert berechnet.

Einwirkzeit	Anzahl der Proben	Anzahl der Proben ohne Wachstum
$[t_i]$	$[n_i]$	$[r_i]$
t_1	n_1	$r_1 = 0$
t_2	n_2	r_2
t_3	n_3	r_3
t_4	n_4	r_4
t_5	n_5	r_5
t_6	n_6	r_6
t_7	n_7	r_7

t_1 ist die kürzeste Einwirkzeit, bei der alle Proben Wachstum aufweisen. Die Einwirkzeiten von t_2 bis t_7 sind steigende Einwirkzeiten. Bei den Zeiten t_6 und t_7 sollte kein Wachstum mehr nachweisbar sein.

Aus diesen Werten werden die Faktoren x und y für die Einwirkzeiten t_1 bis t_7 berechnet.

$$x_i = \frac{t_i + t_{(i+1)}}{2} \quad (7)$$

$$y_i = \frac{r_{(i+1)}}{n_{(i+1)}} - \frac{r_i}{n_i} \quad (8)$$

Für t_1 wo alle Proben Wachstum zeigen ist $r_1=0$. Hier geht y_1 über in:

$$y_i = \frac{r_{(i+1)}}{n_{(i+1)}} \quad (9)$$

Aus den oben berechneten Werten x_i und y_i kann die Einwirkzeit μ_i für jede Einwirkzeit wie folgt berechnet werden:

$$\mu_i = x_i * y_i \quad [\text{min}] \quad (10)$$

Die mittlere Einwirkzeit $\bar{\mu}$, die kein Wachstum mehr erzeugt, kann als Summe aller μ_i berechnet werden.

$$\bar{\mu} = \sum_{i=0}^{i=6} \mu_i \quad [\text{min}] \quad (11)$$

Wenn das Intervall zwischen den Einwirkzeiten (d) konstant ist und die gleiche Anzahl von Untersuchungsproben bei jeder Einwirkzeit verwendet wird, kann der Mittelwert für „kein Wachstum“ alternativ aus folgender Gleichung berechnet werden:

$$\bar{\mu} = t_6 - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \sum_{i=1}^{i=6} r_i \quad [\text{min}] \quad (12)$$

Der mittlere D-Wert wird nach der Gleichung

$$D = \frac{\bar{\mu}}{0,2507 + \lg N_0} \quad [\text{min}] \quad (13)$$

berechnet, wobei N_0 die Ausgangskeimzahl [KBE/Probe] darstellt.

1.4.2 Bestimmung des D-Wertes aus der Überlebenskurve

Untersuchungsproben müssen bei definierten Sterilisationsbedingungen abgestuften Einwirkzeiten ausgesetzt werden, wobei wieder alle Prozessvariablen mit Ausnahme der Zeit konstant gehalten werden.

Es müssen mindestens fünf Einwirkungsbedingungen verwendet werden; sie müssen umfassen:

- Eine Exposition, bei der die Probe nicht mit dem Sterilisiermittel behandelt wird (z.B. Exposition über die Zeit null);
- Mindestens eine Exposition, bei der die lebensfähige Keimpopulation auf 0,01% des Ausgangsinokulums verringert wird (Reduktion um 4 $\log_{10}$).
- Mindestens drei Expositionen, die die Bereiche zwischen den oben genannten Expositionen a) und b) abdecken.

- Für jede Exposition sind bei jeder Bestimmung nicht weniger als vier Untersuchungsproben zu verwenden.
- Für jede Exposition ist die gleiche Anzahl an Mehrfachbestimmungen anzusetzen.

Es müssen mindestens zwei Prüfungen durchgeführt werden. Für jede Prüfung müssen bei jeder Einwirkzeit mindestens vier beimpfte Keimträger verwendet werden. Nach der Exposition werden die Prüfkeime vom Keimträger abgelöst und die Keimzahl mit der vom Hersteller angegebenen Methode bestimmt. Wird der Logarithmus der Keimzahlen gegen die Expositionszeit aufgetragen, ergibt sich eine Gerade deren reziproke Steigung gleich dem D-Wert in Minuten ist, sofern die Reaktionskinetik erster Ordnung ist.

min	Anzahl der Sporen nach der Sterilisationszeit	Sterilisationszeit	Sterility Assurance Level (SAL)	Definition
2,0	100.000	Start		neuer Bioindikator
2,0	10.000	1 D = 2 min		
2,0	1.000	2 D = 4 min		
2,0	100	3 D = 6 min		($F_{\text{Bio}} - 2$) = Wachstum des BI
2,0	10	4 D = 8 min		
2,0	1	5 D = 10 min	F_{Bio} -Wert = $\log \text{Pop} \times D$ = Gesamtresistenz des BI	
2,0	1 von x Packs = unsteril			
2,0	x = 10	6 D = 12	10^{-1}	
2,0	x = 100	7 D = 14	10^{-2}	
2,0	x = 1.000	8 D = 16	10^{-3}	
2,0	x = 10.000	9 D = 18	10^{-4}	$F_{\text{Bio}} + 4$ = Abtötung von BI
2,0	x = 100.000	10 D = 20	10^{-5}	
2,0	x = 1.000.000	11 D = 22	10^{-6}	= steril gemäß EN 556-1

Diagramm 3: Zeit zur Reduzierung der Anzahl von Sporen in einem Dampfsterilisationsprozess bei 121°C mit einem D-Wert von 2 min

1.4.3. Überlebens-Abtötungs-Fenster

Das Überlebens-Abtötungsfenster wird definiert mit der garantierten Überlebenszeit eines Bioindikators, der noch mindestens 100 Keime aufweist, wenn folgende Sterilisationszeit auf den Bioindikator mit der Ausgangspopulation N_0 eingewirkt hat:

$$\text{Überlebenszeit} = (\log N_0 - 2) \times D \quad [\text{min}]$$

Die garantierte Abtötungszeit für einen Bioindikator erfolgt nach der Einwirkung von folgender Sterilisationszeit:

$$\text{Abtötungszeit} = (\log N_0 + 4) \times D \quad [\text{min}]$$

Daraus ergibt sich die Sterilisationswahrscheinlichkeit mit SAL von 10^{-4} (jeder 10.000. Keim bleibt noch am Leben).

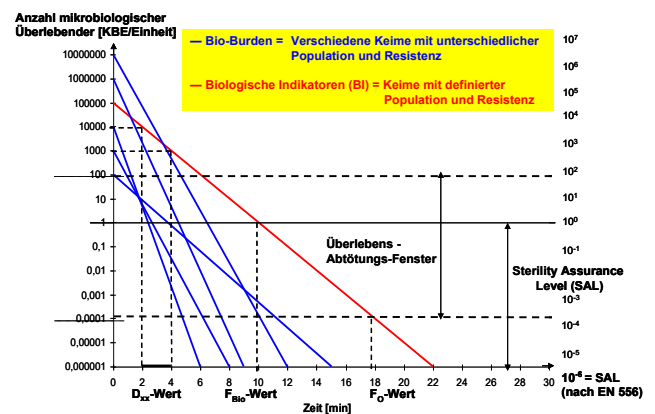


Diagramm 4: Definition Bioburden, SAL, Biologischer Indikator, F_{Bio} -Wert, F_0 -Wert

2. Definition der Sterilisationswahrscheinlichkeit (Sterility Assurance Level = SAL)

Die Zahl der Keime geht während eines Sterilisationsprozesses erster Ordnung mit jeder D-Wert-Zeiteinheit um eine 10er-Potenz oder 90% des Ausgangswertes um einen Inaktivierungsfaktor zurück. Nachdem die Keimzahlbelastung von 1 KBE/Teil erreicht ist, wird nach der Sterilisationszeit einer weiteren D-Werteinheit der rechnerische Wert von 0,1 erreicht. Werte unter 1 stellen nicht mehr die Zahl der lebenden Keime pro Teil dar, sondern die Wahrscheinlichkeit, lebende Keime in einer definierten Zahl von Teilen anzutreffen. Werden 10 Teile, die mit je einem Keim belastet sind, über den Zeitraum eines D-Wertes sterilisiert, werden wiederum 90% der Keime abgetötet. Der Wert 0,1 oder 1/10 sagt aus, dass 9 von 10 Teilen steril sind und ein Teil keimbelastet ist. Der Wert 0,01 oder 10^{-2} bedeutet entsprechend, dass von 100 Teilen ein Teil mit einem Keim belastet ist. Bei einer Keimzahl < 1 spricht man deshalb nicht mehr von der Keimbelastung, sondern von der Sterilisationswahrscheinlichkeit. Sie gibt das Verhältnis der unsterilen zur gesamten Menge der Produkte in einem Prozess an.

2.1 Definition eines sterilen Produktes nach der Euronorm DIN EN 556-1

Der klassische Begriff 'Steril' sagt aus, dass sich keine vermehrungsfähigen Keime auf oder in einem sterilen Produkt befinden. Nach der o.g. mathematischen Gesetzmäßigkeit, mit der man durch einen Sterilisationsprozess die Sterilisationswahrscheinlichkeit beliebig erhöhen kann, ist jedoch keine Sterilisationswahrscheinlichkeit von 0 Keimen/Teil zu erreichen. Aus diesem Grunde wurde in der Euronorm EN 556-1 die Sterilisationswahrscheinlichkeit (Sterility Assurance Level $SAL \leq 10^{-6} = 1:1 \text{ Mio.}$) festgelegt, die eine ausreichende Sicherheit bietet. Wenn die Sterilisationsbedingungen nach der o. g. Definition so ausgelegt werden, dass von 1 Mio. Produkten maximal ein Teil mit einem Keim belastet ist, so werden diese Produkte entsprechend der DIN EN 556-1 als „steril“ bezeichnet. Der direkte biologische Nachweis für diesen Wert ist experimentell nicht zu erbringen sondern kann durch Extrapolation der Abtötungsgeraden ermittelt werden.

3. Temperaturabhängigkeit des Sterilisationsprozesses

3.1 Arrhenius-Gleichung

Wie in Punkt 1 erwähnt, sind die Konstante k' bzw. k und damit auch der D-Wert eine temperaturabhängige Größe. Diese Abhängigkeit wird durch die Arrhenius-Gleichung beschrieben:

$$k = k_0 \cdot e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (14)$$

- R = Gaskonstante [8,314 J/mol K]
- T = Temperatur [K]
- k = Geschwindigkeitskonstante [min^{-1}]
- k_0 = temperaturunabhäng. Faktor [min^{-1}] der für einen definierten Sterilisationsprozess steht und konstant ist.
- E_a = Aktivierungsenergie [J/mol]

Dabei ist k_0 eine Konstante, deren Größe nur von der Art des Sterilisationsprozesses abhängig ist und nur experimentell ermittelt werden kann. Die Aktivierungsenergie E_a ist der Energiebetrag, der zum Starten der Reaktion notwendig ist. Aus der Arrhenius-Gleichung kann die exponentielle Änderung des D-Wertes mit der Temperatur abgeleitet werden. Diese Abhängigkeit wird bei Sterilisationsprozessen durch den z-Wert wiedergegeben. (siehe Diagramm 4)

3.2 Definition des z-Wertes (Temperatur-Koeffizient des D-Wertes)

Der z-Wert beschreibt, wie sich die Abtötungsgeschwindigkeit der Mikroorganismen mit der Temperatur verändert. Mathematisch ist der z-Wert die Temperatur-Differenz, die zur Änderung des D-Wertes um den Faktor 10 unter sonst gleichen Sterilisationsbedingungen führt. Werden D-Werte bei verschiedenen Temperaturen bestimmt und in einer halb-logarithmischen Skala gegen die Temperatur aufgetragen, ergibt sich eine Gerade, deren negativer Reziprokwert der Neigung der z-Wert ist.

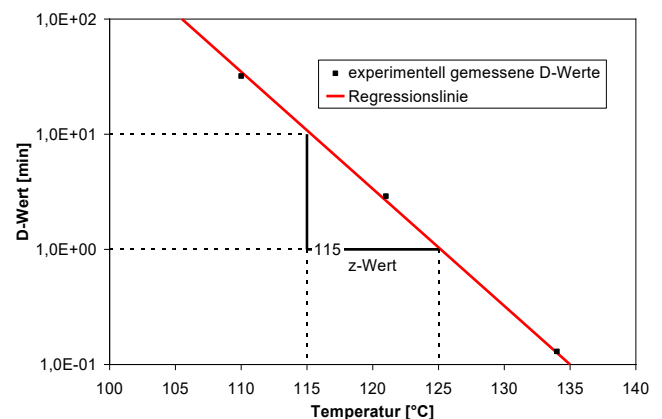


Diagramm 5: Darstellung des z-Werts

Mit Hilfe des z-Wertes lassen sich die D-Werte bei unbekannten Temperaturen wie folgt berechnen:

$$\frac{1}{z} = - \frac{\lg D_{T_1} - \lg D_{T_2}}{T_1 - T_2} \quad (15)$$

4. Sterilisationsprozess-Äquivalenzzeit ($F_{(T,z)}$ -Wert)

Wie aus Gleichung 6 hervorgeht, ist die Sterilisationszeit gleich dem Produkt aus dezimalem Reduktions- und Inaktivierungsfaktor. Da der D-Wert grundsätzlich nur für eine Temperatur gilt, muss auch die Sterilisationszeit bei unterschiedlichen Temperaturen während der Steigzeit auf eine Temperatur bezogen werden. Die Gesamtsterilisationszeit bezogen auf eine Temperatur wird Äquivalentzeit $F_{T,z}$ genannt und mit dem Index der Temperatur und dem z-Wert des Sterilisationsprozesses markiert. Der F_0 -Wert gibt die Sterilisationszeit bei einer konstanten Temperatur an. Anders ausgedrückt kann der F-Wert als Sterilisationsarbeit eines bestimmten Sterilisationsprozesses ausgedrückt werden und wird als Zeiteinheit in Minuten bei einer definierten Temperatur ausgedrückt. Der Inaktivierungsfaktor allein ist kein Maß für die Sterilisationsarbeit, da Keime kleinerer Resistenz (kleinem D-Wert) sehr viel schneller abgetötet werden als die gleiche Anzahl von Keimen mit hohem D-Wert.

Wie oben gezeigt, kann bei gegebener Ausgangskonzentration die Sterilisationszeit bei einer gegebenen Temperatur errechnet werden, um eine bestimmte Endkeimzahl zu erreichen. In der Praxis heizt sich der Sterilisator über einen gewissen Zeitraum auf, bis die Sterilisationstemperatur von z.B. 121 °C erreicht ist. Während der Steigzeit von 100°C - 121°C und weiterhin findet während der Abkühlzeit (gestrichelte Fläche in Diagramm 5) eine Abtötung von Mikroorganismen statt, die in der Gesamtsterilisationszeit berücksichtigt werden kann.

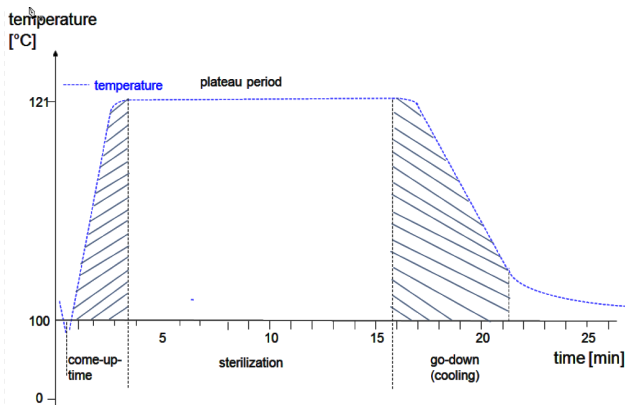


Diagramm 6: F_0 -Wert Integral unter der Gesamtfläche über 100 °C

Ist der z-Wert bekannt, lassen sich die Sterilisationszeiten außerhalb der Sterilisations-Temperatur auf Zeiten der Sterilisationstemperatur umrechnen. Die Summe der einzelnen Zeitintegrale kann auf die Sterilisationszeit von 121 °C zusammengefasst werden und wird Äquivalentzeit genannt.

Der F-Wert ist die Sterilisationszeit bei **einer** definierten Temperatur, bei der Strahlensterilisation eine definierte Dosis.

$$F_{T,z} = (\lg N_0 - \lg N_F) * D_T = IF * D_T \quad (16)$$

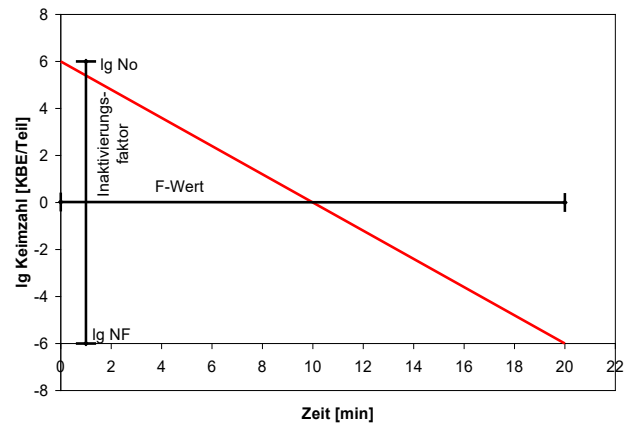


Diagramm 7: Darstellung des F-Wertes

4.1. Definition des F_0 -Wertes

Der F_0 -Wert wird bei einer Sterilisationstemperatur von 121 °C und einen z-Wert von 10°C definiert und wird in der Industrie für viele Prozesse als Referenz angegeben.

4.2. Andere $F_{(T,z)}$ -Werte

Weitere F-Werte können definiert werden, müssen dann jedoch den Zusatz der Bezugstemperatur und des z-Wertes tragen. Neuerdings wird im metrischen System der F_c -Wert bei 120°C und z = 10°C angegeben.

5. Prozessauslegung von Sterilisationsverfahren

Vor der Validierung muss der Sterilisationsprozess in Abhängigkeit von den Ausgangsbedingungen (Sterilisationsart, Sterilisiergut, Verpackung etc.) festgelegt werden. Hydro- und thermostabile Produkte werden mit dem Dampfsterilisationsprozess sterilisiert. Thermolabile Produkte werden in der Regel in der Industrie mit Ethylenoxid oder Strahlen sterilisiert. Im Krankenhaus kommt dafür mehr und mehr die Formaldehydsterilisation zum Einsatz.

Nach der Festlegung des Sterilisationsprozesses und der Verpackung muss der Sterilisationsprozess so ausgelegt werden, dass die nach der Euronorm EN 556 festgelegte Sterilisationswahrscheinlichkeit von 10^{-6} Keimen/Teil sicher erreicht wird. Bei bekannten Ausgangsbedingungen (gleiche Produkte, gleich bleibende Ausgangskeimzahl etc.), die in der Regel in der Sterilgut herstellenden Industrie gegeben sind, wird das Verfahren speziell auf diese Ausgangsbedingungen abgestimmt. Können konstante Ausgangsbedingungen, wie z.B. im Krankenhaus, nicht vorausgesetzt werden, arbeitet man nach dem so genannten „Overkill-Verfahren“.

Zur Schonung des Sterilgutes und Vermeidung unnötiger Gerätelauzeiten, sollte die Sterilisationszeit genau dem Prozess angepasst sein. Dies setzt nicht nur die exakte Bestimmung aller zur Berechnung erforderlichen Parameter voraus, sondern auch eine konsequente Einhaltung der ermittelten Prozessparameter.

5.1. Prozessauslegung bei bekannten Ausgangsbedingungen

Die Keimbelastung der zu sterilisierenden Produkte mit deren Ausgangskeimarten und Keimzahlen sowie deren Resistenz (dezimalen Reduktionsfaktoren) der am schwierigsten zu sterilisierenden Keime sowie deren z-Wert müssen bestimmt werden. Danach erfolgt die Berechnung der Sterilisationsbedingungen, die wie am folgenden Beispiel aufgeführt ist:

Ausgangsbedingungen für die Aufgaben 1-4:

Ausgangskeimzahl:

$$N_0 = 10^3 \text{ KBE}$$

Gewünschte Sterilbedingungen am Ende des Sterilisationsprozesses:

$$N_F = 10^{-6} \text{ KBE/Teil} = \text{SAL} = 10^{-6}$$

$$D_{121^\circ\text{C}}\text{-Wert} = 1,5 \text{ min}$$

$$z\text{-Wert} = 10^\circ\text{C}$$

Aufgabe 1:

Wie hoch muss der notwendige Inaktivierungsfaktor sein?

$$IF = \lg N_0 - \lg N_F$$

$$IF = \lg 10^3 - \lg 10^{-6} = 3 - (-6) = 9$$

Der Inaktivierungsfaktor beträgt 9 dezimale Reduktionsstufen, um die Sterilisationswahrscheinlichkeit $\text{SAL} = 10^{-6}$ zu erreichen.

Aufgabe 2:

Welche Äquivalenz-Sterilisationszeit ist bei einer Sterilisationstemperatur von 121°C notwendig:

$$F_0 = (\lg N_0 - \lg N_F) \cdot D_T$$

$$F_0 = (3+6) \cdot 1,5 \text{ min} = 13,5 \text{ min}$$

Die notwendige Äquivalenz-Sterilisationszeit für diesen Prozess bei 121°C beträgt 13,5 min.

Aufgabe 3:

Da das Sterilgut thermolabil ist, soll bei 110°C sterilisiert werden. Wie lange ist die Sterilisationszeit?

$$F_{110^\circ\text{C}; z=10\text{K}}$$

1. Berechnung des D-Wertes für 110°C entsprechend Gleichung (16) bei einem z-Wert = 10K:

$$\frac{1}{z} = - \frac{\lg D_{T_1} - \lg D_{T_2}}{T_1 - T_2}$$

$$z * (\lg D_{T_2} - \lg D_{T_1}) = T_1 - T_2$$

$$\lg D_{T_2} = \lg D_{T_1} + \frac{(T_1 - T_2)}{z}$$

$$\lg D_{110^\circ\text{C}} = \lg D_{121^\circ\text{C}} + \frac{11^\circ\text{C}}{z}$$

$$\lg D_{110^\circ\text{C}} = \lg 1,5 + 1,1 = 1,276$$

$$D_{110^\circ\text{C}} = 10^{1,276} = 18,8 \quad [\text{min}]$$

2. Berechnung der Sterilisationszeit aus Gleichung 6

$$F_{110^\circ\text{C}, 10} = (\lg N_0 - \lg N_F) \cdot D_T$$

$$F_{110^\circ\text{C}, 10} = (3+6) \cdot 18,8 \text{ min} = 170 \text{ min}$$

Die Sterilisationszeit beträgt bei 110°C 2 h 50 min.

Aufgabe 4:

Mit welcher Temperatur muss gearbeitet werden, damit die Sterilisationszeit 3 min nicht überschreitet, da sonst das Produkt geschädigt wird? Die Temperatur kann über 121°C liegen.

1. Bestimmung des D-Wertes

$$D_T = \frac{t}{\lg N_0 - \lg N_F}$$

$$D_T = \frac{3 \text{ min}}{3+6} = 0,33 \text{ min}$$

2. Bestimmung der Sterilisationstemperatur

$$\frac{1}{z} = - \frac{\lg D_{T_1} - \lg D_{T_2}}{T_1 - T_2}$$

$$T_1 = z * (\lg D_{T_2} - \lg D_{T_1}) + T_2$$

$$T_1 = 10^\circ\text{C} * (\lg 1,5 * \lg 0,33) + 121^\circ\text{C}$$

$$T_1 = 127,56^\circ\text{C}$$

Es muss 3 min bei $127,6^\circ\text{C}$ sterilisiert werden.

In Diagramm 8 sind alle drei Prozesse graphisch dargestellt.

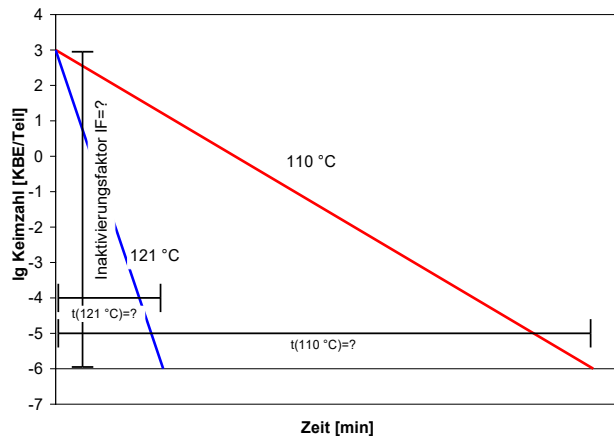


Diagramm 8: Darstellung der Beispiele

5.2. Auslegung des Sterilisationsverfahrens bei wechselnden oder unbekannten Ausgangsbedingungen (Overkill-Verfahren)

Wenn die Ausgangsbedingungen, wie z. B. im Krankenhaus, durch wechselnde Beladung und durch wechselnde Keimbelastung nicht konstant sind, muss von den schlechtesten Bedingungen (Worst-Case) ausgegangen werden. Die europäische Pharmakopoeia (EP) und die US-Pharmakopoeia (USP) geben Mindest- F_0 -Werte für Overkill-Sterilisationsprozesse an. Für den Dampfsterilisationsprozess werden 2 Sterilisierzeiten bei 2 Temperaturen angegeben, die jedoch 2 verschiedene Sterilisationsäquivalenzzeiten aufweisen:

Temperatur [°C]	Zeit [min]	F_0 -Wert [min]
121	15	15
134	3	> 60

Bei näherer Betrachtung dieser beiden Werte fällt auf, dass der F_0 bei 121°C 15 min beträgt, während derselbe F_0 -Wert bei 134°C nur einer Zeit von 0,75 min bei der Annahme von $z = 10^\circ\text{C}$ entspricht. Hier handelt es sich um die reine Einwirkzeit, zu der noch Temperatursgleichzeiten hinzu gerechnet werden müssen, um die gesamte Sterilisationszeit zu erhalten. Die Tatsache, dass in der Norm der Wert von einer 0,75 min. auf 3 min ausgedehnt wurde, trägt der Tatsache Rechnung, dass die Ausgleichszeiten zwischen der Temperatur in der Sterilisationskammer und der Sterilgutoberfläche von dem häufig wechselnden Faktor der Dampfqualität abhängig ist. Diese Problematik macht sich bei extrem kurzen Sterilisationszeiten sehr stark bemerkbar. Aus diesem Grunde wurde der Sicherheitsfaktor bei 134°C erhöht.

6. Anforderungen und Auswahl von Bioindikatoren zur Validierung und Routinekontrolle

Sofern es sich bei der parametrischen Überprüfung von Sterilisationsprozessen herausstellt, dass wichtige Sterilisationseinflussgrößen wie z. B. die Dampfqualität schwanken, ist eine parametrische Validierung nicht möglich. In diesem Fall kann die Überprüfung nur durch Inokulation mit Bio-Indikatorsuspensionen an den schwerst zu sterilisierenden Stellen vorgenommen werden. Gas-Sterilisationsprozesse werden ausschließlich mit Bioindikatoren validiert.

6.1. Auswahl der Stämme

In Abhängigkeit vom Sterilisationsprozess werden nicht-pathogene Keime ausgewählt, deren Resistenz größer ist, als die bekannter pathogener Keime. Die Euronorm EN ISO 11138 empfiehlt für die einzelnen Sterilisationsprozesse bestimmte Keimtypen. Vorzugsweise werden Sporenbildner eingesetzt, die mit standardisierter Keimzahl hergestellt werden können und über mehrere Jahre haltbar sind. Es sollten nur Bioindikatoren verwendet werden, die mit einem Zertifikat ausgestattet sind, aus dem Hersteller, Testkeim, Population, D-Wert und Verfallsdatum hervorgehen und die den o.g. Normen entsprechen. Weiterhin muss die Charakterisierung des Stammes durch die Herkunft aus einer Kultursammlung mit der zugehörigen Katalognummer benannt werden.

Wie z.B.:

DSM = Deutsche Sammlung für Mikroorganismen
ATCC = American Type Culture Collection
NCTC = National Collection of Type Culture (London)

In der nachstehenden Tabelle sind die gängigen Bioindikatoren für die verschiedenen Sterilisationsprozesse aufgelistet:

Name	ATCC No.	Sterilisationsprozess
<i>Atrophaeus</i>	9372	Ethylenoxid, Heißluft
<i>Stearothermophilus</i>	7953	Dampf, Formaldehyd, H_2O_2
<i>Pumilus</i>	27142	γ - und β -Strahlung

6.2. Resistenz von Bioindikatoren:

Die Gesamtresistenz eines biologischen Indikators hängt von seiner Population und der individuellen Resistenz des Keims (D-Werts) ab. Sie ist definiert durch den D-Wert und dem Logarithmus der Population. Der F_{Bio} -Wert ist die Zeit, die notwendig ist, um die Ausgangspopulation des Bioindikators auf den Wert von 1 zu bringen.

$$F_{\text{Bio}} = D_{121^\circ\text{C}} \times \lg(\text{pop}) [\text{min}]$$

Dies kann an den beiden nachfolgenden Beispielen gezeigt werden:

Beispiel	Population [KBE/Teil]	D ₁₂₁ -Wert [min]	F _{Bio} -Wert [min]
1	10 ⁶	1,5	9
2	10 ⁵	2	10

Wie oben dargestellt, ist der D-Wert des gleichen Keims nicht konstant und hängt von den Wachstums- und Sporulationsbedingungen ab. Deshalb muss jede Charge von Indikatoren von einem Zertifikat begleitet sein, das die Population und individuelle Resistenz und damit die totale Resistenz des biologischen Indikators bescheinigt.

6.3 Auswahl von Bioindikatoren für die Routinekontrolle

Für die Routinekontrolle müssen Bioindikatoren in Bezug auf Reinheit, Population und Widerstandscharakteristik den o. g. Normen entsprechen. Für die Routinekontrolle des Overkill-Dampfsterilisationsprozesses ist es Voraussetzung, dass der F_{Bio}-Wert so gewählt wird, dass der SAL am Ende des Sterilisationsprozesses für den Bioindikator etwa 10⁻⁴ beträgt. Entsprechend kann der F_{Bio}-Wert ausgerechnet werden:

$$F_0 = F_{\text{Bio}} + 4 \cdot D_{121^\circ\text{C}}$$

$$F_{\text{Bio}} = F_0 - 4 \cdot D_{121^\circ\text{C}}$$

Die Prüfung der Sterilität nach EN 556 ist mit Bioindikatoren nicht möglich, da es unpraktikabel ist 1 Mio. Bioindikatoren einzusetzen. Um herauszufinden, ob die Sterilisationswahrscheinlichkeit von 10⁻⁶ erreicht wird, muss die Prüfung mit einer größeren als der tatsächlichen Keimbelastung erfolgen und auf 10⁻⁶ extrapoliert werden (siehe Diagramm 9).

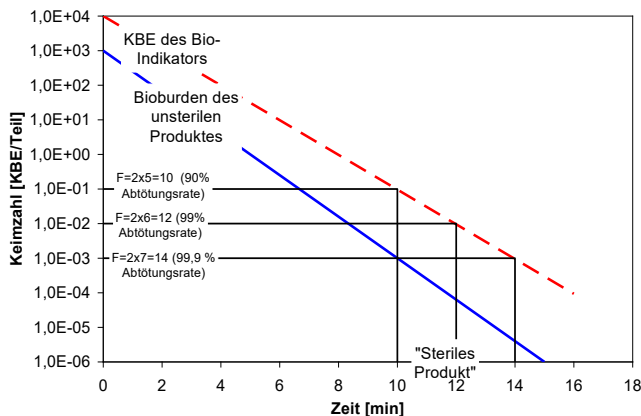


Diagramm 9: Auswahl von Bioindikatoren

6.4 Platzierung von Bioindikatoren

Bioindikatoren dürfen niemals in der Kammer außerhalb von Verpackungen platziert werden. In den Normen für Bioindikatoren sind keine Verpackungsrichtlinien angegeben, sondern im Regelfall in den Validierungsnormen z. B. in Dampfsterilisationsprozessen EN ISO 17665-1. Bioindikatoren müssen immer an der am schwersten zu sterilisierenden Stelle, in der Regel im Zentrum der zu sterilisierenden Containerpakete, eingebracht werden („Worst-Case“-Bedingungen). In Hohlräumen mit kleinem Durchmesser und enge Spalten können Bioindikatoren nicht an die schwierigste Stelle eingebracht werden, deshalb muss in diesem Fall eine Direktinokulation mit Bioindikatorsuspensionen erfolgen oder PCDs eingesetzt werden.

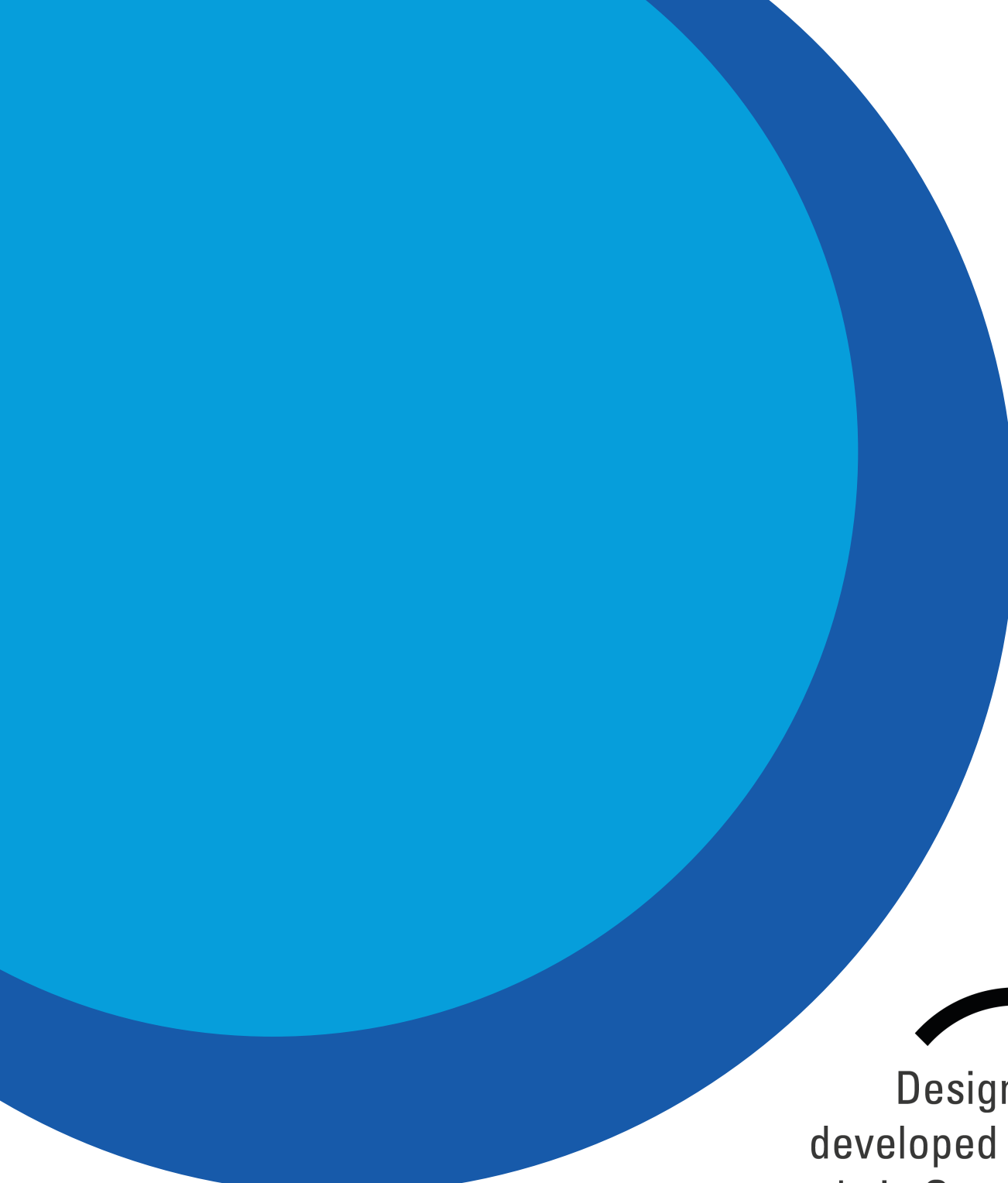
Weiterhin ist der „Small-Load“-Effekt zu berücksichtigen. Dabei konzentrieren sich alle verbleibenden oder mit dem Dampf in den Sterilisator kommenden nicht kondensierbaren Gase (NKG) in der einzigen im Sterilisator vorhandenen Ladung. Dabei können gefährliche NKG-Konzentrationen im Inneren entstehen.

7. Verzeichnis der im Text verwendeten Parameter und Symbole

Abk.	Beschreibung	Einheit	Abk. Einheit	Anwendungsbeschreibung
D_T	Dezimaler Reduktionsfaktor (D-Wert)	Zeit	[min]	Beschreibt die Resistenz von Bio-indikatoren, ausgedrückt als Zeit, die benötigt wird, um die Ausgangskeimzahl um 90%, d.h. um eine Dekade zu reduzieren
E_0	Aktivierungsenergie der Reaktion pro Mol	Reaktionsenergie	[J/mol]	Energiebetrag, der notwendig ist, um eine chemische Reaktion zu starten
$F_{(T,z)}$	Äquivalentzeit eines Sterilisationsprozesses	Zeit	[min]	Umrechnung aller Sterilisationszeiten bei anderen Temperaturen als der angegebenen auf die Referenztemperatur. Gibt die Sterilisationsarbeit als Zeiteinheit bei der angegebenen Temperatur an
F_0	Äquivalentzeit eines Sterilisationsprozesses unter Standardbedingungen (z.B. Dampf 121°C)	Zeit	[min]	Sterilisationsarbeit bei 121°C und einem z-Wert von 10°C (Referenzwert)
IF	Inaktivierungsfaktor	Zahl	N	Keimzahlreduktion eines Teils während eines Sterilisationsprozesses ausgedrückt in der Zahl der dezimalen Reduktionsstufen
k	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante des lg	1/Zeit	[min ⁻¹]	Bei Verwendung des dekadischen Logarithmus
k'	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante des ln	1/Zeit	[min ⁻¹]	Bei Verwendung des natürlichen Logarithmus
k_0	Temperaturunabhängiger Faktor der Reaktionsgeschwindigkeit (Konstante)	1/Zeit	[min ⁻¹]	Ist spezifisch für jeden Sterilisationsprozess
KBE	Zahl der lebenden Keime	Kolonie bildende Einheiten	Zahl	
N	Verlaufskeimzahl pro Teil während eines Sterilisationsprozesses	Keimzahl	[KBE/Teil]	Mengenangaben
N_F	Keimzahl nach Sterilisationseinwirkung pro Teil	Keimzahl	[KBE/Teil]	Konzentrationsangaben
N_0	Ausgangskeimzahl	Keimzahl	[KBE/Teil]	Ausgangskeimzahl vor der Sterilisation
PCD	Process Challenge Device			Prüfkörper
R	Allgemeine Gaskonstante	Konstante	[J/mol K]	= 8,314 [J/mol K]
SAL	Sterility Assurance Level			
t	Sterilisationszeit	Zeit	[min]	Sterilisationszeit
z	Temperaturkoeffizient	Temperatur	[°C]	Beschreibt die Abhängigkeit des D-Wertes von der Temperatur

Urheberrechtlich geschützt.

Eine Vervielfältigung ist nur mit Genehmigung durch den Autor erlaubt.



Designed,
developed and
made in Germany

710-006 DE V21

GKE-GmbH | Auf der Lind 10 | 65529 Waldems | Germany

tel +49 6126 94320 | **fax** +49 6126 943210
mail info@gke.eu | **web** www.gke.eu

