

Neues aus dem Normenwerk

Derzeitiger Stand der Normung für Wasserstoffperoxid/Plasma-Sterilisationsprozesse

Ulrich Kaiser

1. Einleitung

Wasserstoffperoxid-Vakuum (VH2O2)-Sterilisationsprozesse werden sowohl im Gesundheitswesen für die Sterilisation von wiederverwendbaren Instrumenten als auch industriell für die Sterilisation von Medizinprodukten eingesetzt. Dabei gibt es industrielle VH2O2-Sterilisatoren mit Kammervolumen über 1 m³, die mit höheren elektrischen Feldstärken zur Inaktivierung der Keimbelastung arbeiten, die aber in Sterilisationsprozessen in Krankenhäusern nicht eingesetzt werden.

Häufig werden diese Prozesse auch als Plasma-Sterilisation bezeichnet, obwohl meiner Kenntnis nach keine Veröffentlichung existiert, die den Nachweis erbringt, dass das Plasma in der dort eingesetzten Form zur Inaktivierung beiträgt. Im Gegenteil haben Untersuchungen gezeigt, dass die Plasma-Phase keinen keimabtötenden Effekt hat [1, 2].

Weiterhin werden H₂O₂-Dekontaminationsprozesse unter Normaldruck routinemäßig für die Desinfektion von Räumen und Krankenfahrzeugen eingesetzt.

Bereits 2000 haben Schaffer und Pflug [3] den Versuch unternommen, die Resistenz von *G. stearothermophilus* in einem VH2O2-Sterilisationsprozess zu bestimmen, hatten aber hohe Standardabweichungen. Es wurde mit H₂O₂-Konzentrationen von 1,38 – 5,98 mg/l bei 50°C getestet und D-Werte von 37 – 2,38 sec erhalten.

Bei der D-Wert-Bestimmung in der H₂O₂-Gasphase besteht prinzipiell das Problem, dass am Träger des Bioindikators H₂O₂ absorbiert wird und nach dem Entfernen aus dem Reaktionsraum der Bioindikator noch weiter reagiert und so das Messergebnis verfälschen kann.

Für die Bestimmung der Resistenz von Bioindikatoren (BI) für die Überwachung von VH2O2-Sterilisationsprozessen gibt es bisher noch keine DIN-, EN- oder ISO-Norm. Es existiert seit 2017 eine chinesische (CN) Norm [4], die die Resistenz von Bioindikatoren in VH2O2-Prozessen messen soll. Der Inhalt dieser CN-Norm ist an die Teile der BI-Norm EN ISO 11138-1 [5], der Resistometernorm EN ISO 18472 [6] und der Norm EN ISO 11140-1 [7], die den VH2O2-Prozess betreffen, angelehnt. Die CN-Norm lässt aber außer Acht, dass ein Teststerilisator, der die Forderung der Resistometernorm erfüllt, bis heute in der Praxis noch nicht beschrieben ist.

Von Deinhard et al. wurde eine Methode zur Resistenzbestimmung in flüssiger Phase mit H₂O₂/H₂O-Lösung veröffentlicht [8], die weltweit in jedem Labor reproduziert werden kann, wobei die Messungen nur in der Flüssigphase, nicht aber in der Gasphase durchgeführt werden können. Sie erfüllt die Forderung, dass die H₂O₂- und die H₂O-Konzentration über die gesamte Prozesszeit konstant gehalten wird. Allerdings besteht dort die Problematik, dass die Inaktivierung von Keimen in flüssiger Phase mit großer Wahrscheinlichkeit nicht identisch wie in der Gasphase verläuft, selbst wenn gleiche Temperaturen eingehalten werden.

Die allgemeine Validierungsnorm DIN EN ISO 14937 [9] gilt auch für den VH2O2-Sterilisationsprozess. Ihre Anwendung setzt aber voraus, dass ein Referenz-Bioindikator definiert ist, dessen Resistenz bekannt und nachweislich höher ist als die Resistenz von pathogenen Keimen.

2. Problemstellung

Um Resistenzbestimmungen von BI durchzuführen, existiert die allgemeine Bioindikator-Norm ISO 11138-1 [5], in der Messungen in einem speziellen Versuchssterilisator, Resistometer genannt, der für jeden Sterilisationsprozess in der Norm EN ISO 18472 [6] beschrieben ist, durchgeführt werden. Die Norm fordert, dass alle kritischen Variablen konstant zu halten sind, damit der D-Wert unter konstanten Bedingungen unter ausschließlicher Änderung der Zeit bestimmt werden kann.

Alle heute verwendeten VH2O2-Sterilisationsprozesse halten aber die H₂O₂- und H₂O-Konzentration nicht konstant. Die H₂O₂-Konzentration wird laufend reduziert, während die H₂O-Konzentration laufend zunimmt. Beide Variablen haben Einfluss auf die Inaktivierung von Bioindikatoren.

Die Resistometernorm DIN EN ISO 18472 [6] enthält Prüfbedingungen und Toleranzen für VH2O2-Resistometer, definiert auch wie in den anderen Sterilisationsprozessen eine stabile Plateauphase, in der gemessen werden soll. Für VH2O2-Prozesse sind Resistometer in Diskussion, die alle kritischen Variablen konstant halten und nur die Sterilisationszeit verändern können.

Die derzeitigen Ansätze zur Resistenzbestimmung von Bioindikatoren basieren auf marktüblichen Vakuumsterilisationsprozessen, welche eine diskontinuierliche Injektion von Wasserstoffperoxidlösungen vornehmen. Dieser Ansatz ist unter Zugrundelegung der DIN EN ISO 18472 [6] problematisch, da sich die H₂O₂- und H₂O-Konzentration während der Prozessdauer ändern. Aufgrund der diskontinuierlichen Prozessführung wird die Problematik der schwankenden Gasphasenkonzentration noch verschärft. Die normativen Anforderungen an konstante Prozessbedingungen werden daher nicht eingehalten. Es gibt Ansätze, die Problematik durch die Verwendung eines Dosisbegriffs zu umgehen, indem auf das Konzentrations-/Zeitintegral zurückgegriffen wird. Dieser Ansatz kann gewählt werden, sofern die Abtötung der Bioindikatoren in VH2O2-Prozessen einer Reaktionskinetik nullter Ordnung in Bezug auf die H₂O₂- und H₂O-Konzentration entspricht. Eine Bestätigung dieser Reaktionskinetik ist nach aktuellem Stand jedoch noch ausstehend.

Abhängigkeit der Resistenz von Bioindikatoren für VH2O2-Sterilisationsprozesse

Im Gegensatz zu allen anderen bekannten Sterilisationsprozessen, bei denen im Wesentlichen der verwendete Keim die Resistenz des Bioindikators bestimmt, ist die Resistenz von Bioindikatoren in VH2O2-Sterilisations- und Raum-Desinfek-

tionsprozessen von weiteren Einflussgrößen abhängig und kompliziert die Resistenzbetrachtung noch zusätzlich. Folgende Einflussfaktoren sind bekannt:

1. Auswahl des Keims

In der Lebensmittelindustrie wird überwiegend *B. subtilis* oder *B. atrophaeus* und im Gesundheitsbereich *G. stearothermophilus* verwendet, die unterschiedliche D-Werte haben.

2. Herstellungsmethode der Bioindikatoren

Durch unterschiedliche Kultivierung und Sporulierung des Keims kann die Resistenz trotz Verwendung des gleichen Bakterienstammes erheblich beeinflusst werden.

3. Trägermaterial des BI

H₂O₂ reagiert teilweise chemisch oder katalytisch mit dem Träger und bildet Zwischenprodukte, die den Keim besser inaktivieren. Oder aber das H₂O₂ wird in Sauerstoff und Wasser zersetzt, ohne mit dem Bioindikator zu reagieren. Der Markt bietet Träger aus Glasfaser, Edelstahl, PET-Folie und Tyvek an. Daten dazu sind bereits in der Literatur publiziert [11]. Die Resistenz des gleichen Bioindikators ist stark vom Trägermaterial abhängig.

4. Oberflächenstruktur des verwendeten Trägermaterials

Rauigkeit der Oberfläche oder Porosität des Trägermaterials verändern die Oberfläche, indem die Keime entweder besser verteilt werden oder auch in porösen Systemen mehr abgeschirmt werden.

5. Aufreinigung der Suspension

Aus der Sporenerzeugung stammende organische und anorganische Verunreinigungen in der Suspension sollten besonders gründlich entfernt werden. Verbleibende Peptide könnten sonst z.B. die Keime abschirmen und so die Inaktivierung behindern.

6. Inokulation auf die Sporenträger

Keime sollten in einer einschichtigen Belegung auf die Oberfläche aufgetragen werden (Monolayer-Inokulation), um zu verhindern, dass übereinanderliegende Schichten den H₂O₂-Zugang auf darunterliegende Schichten abschirmen.

7. Bioindikator-Verpackungen

Es werden keimdichte Verpackungen, die entweder aus nicht gewebten Zellulosefasern, PE-Fasern oder Kombinationen von beiden bestehen, verwendet. H₂O₂ kann bereits mit Zellulosefasern reagieren und so die H₂O₂-Konzentration im Inneren der Verpackung vermindern. Daher werden Verpackungen aus Zellulose in VH2O2-Prozessen nicht empfohlen. Es ist auch empfehlenswert bei der Raumdesinfektion nackte Bioindikatoren einzusetzen. Allerdings besteht dann danach das Problem eines aseptischen Transfers in die Nährlösung zur Beurteilung des Bioindikators.

Bei der Herstellung der Bioindikatoren zur Überwachung von VH2O2-Sterilisationsprozessen sind diese Punkte zu berücksichtigen und machen den Herstellungsaufwand komplexer im Gegensatz zu z.B. der Herstellung von Bioindika-

Sterisafe® DURO A3

reduziert Ausfallzeiten und Servicekosten
flexibler Endoskope von

reduction of downtimes and service
costs with flexible endoscopes of

Auch geeignet für die Sterilisation mit Ethylenoxid oder Formaldehyd
Also suitable for sterilization with ethylene oxide or formaldehyde

validated in STERRAD®
NX and 100NX

World Wide No.1

sterilization container for heat sensitive instruments

www.savuna.de

SAVUNA GmbH, Stadtjaegerstrasse 2, D-86152 Augsburg, Tel. +49 (0) 8 21 / 8 08 64 - 0, Fax +49 (0) 8 21 / 8 08 64 - 44, www.savuna.de

toren für die Dampfsterilisation, wo die Punkte 3 bis 7 eine untergeordnete Rolle spielen.

3. Derzeitige Normen und neue Normaktivitäten

3.1 Resistenzbestimmung von Bioindikatoren

Es existieren folgende Normen:

- DIN EN ISO 11138-2 für EO
- DIN EN ISO 11138-3 für Dampf
- DIN EN ISO 11138-4 für Heißluft
- DIN EN ISO 11138-5 für NTDF

Derzeit läuft ein Normungsvorhaben zur Resistenzbestimmung von Bioindikatoren für VH₂O₂-Prozesse. Da, wie oben beschrieben, ein Resistometer fehlt, arbeitet die ISO-Arbeitsgruppe an einer alternativen Testmethode (Entwurf prEN ISO 11138-6) [10].

Eine deutsche Arbeitsgruppe verwendet ein Resistometer unter Normaldruck mit einem Trägergas (N₂ oder Luft) [2], in das flüssige H₂O₂/H₂O-Gemische verdampft werden und so die notwendige konstante H₂O₂- und H₂O-Konzentration über die Zeit hergestellt wird, wodurch die grundlegenden Anforderungen zu der DIN EN ISO 18472 [6] erfüllt werden. Darin werden D-Wert-Messungen mit dem Verfahren der Überlebenskurve nach EN ISO 11138-1 [5] durchgeführt. Diese Messungen erzeugen gut reproduzierbare Ergebnisse und können genutzt werden um z.B. die Abhängigkeit der BI-Resistenz vom Träger und der Oberflächenbeschichtungsart (Monolayer) zu bestimmen. Es bleibt abzuwarten, welche Methode(n) zur D-Wert-Bestimmung später in die Norm aufgenommen werden.

3.2 Normen für die Validierung von Sterilisationsprozessen

Heute gilt die allgemeine Validierungsnorm EN ISO 14937[9] für alle Sterilisationsprozesse (auch Mutternorm genannt) und gilt auch für den VH₂O₂-Prozess. Jedoch enthält sie keine speziellen Anweisungen dafür.

Für folgende Sterilisationsprozesse existieren bereits spezielle Normen, die von der Mutternorm abgeleitet sind:

- DIN EN ISO 17665 für Dampf
- DIN EN ISO 11137 für Strahlen
- DIN EN ISO 20857 für Heißluft
- DIN EN ISO 11135 für EO
- DIN EN ISO 25424 für NTDF

in denen spezielle Anforderungen für den einzelnen Prozess vorgegeben sind.

Derzeit erarbeitet eine ISO-Arbeitsgruppe einen Normentwurf für VH₂O₂-Verfahren (Entwurf EN ISO 22441), benötigt aber dazu die Norm für die Resistenzbestimmung von Bioindikatoren für VH₂O₂-Verfahren, um genutzt werden zu können.

Es ist notwendig, dass in der neuen Validierungsnorm für H₂O₂-Prozesse Mindestanforderungen für die Inaktivierung von Bioindikatoren und Mindest-Penetrationseigenschaften aufgenommen werden, wie dies auch in den bereits bestehenden Validierungsnormen gefordert wird.

3.3 Normen für Sterilisatoren

Für Sterilisatoren existieren europäische Normen, die weltweit akzeptiert werden:

- DIN EN 285 für Dampf
- DIN EN 1422 für EO
- DIN EN 14180 für NTDF

Eine europäische Arbeitsgruppe erarbeitet eine neue Norm für VH₂O₂-Sterilisatoren (Entwurf EN 17180), um unter anderem auch die Mindestanforderungen für die Inaktivierung von Bioindikatoren und deren Penetrationseigenschaften zu definieren.

Erst wenn die 3 Normvorhaben für die VH₂O₂-Resistenzbestimmung von Bioindikatoren, die Validierung des Prozesses und die Spezifikationen für Anforderungen an Sterilisatoren abgeschlossen sind, können VH₂O₂-Sterilisationsprozesse, die bereits in der Praxis seit Jahren verwendet werden, endlich auf einer allgemeingültigen wissenschaftlichen Grundlage arbeiten und nicht mehr nach Vorgabe einzelner Sterilisatorhersteller.

■ Literatur

- 1 Krebs MC, Bécasse P, Verjat D, Darbord JC. Gas-plasma sterilization: relative efficacy of the hydrogen peroxide phase compared with that of the plasma phase. *Int J Pharmaceutics* 1998; 160(1): 75–81.
- 2 Interne Information gke-GmbH.
- 3 Schaffer S, Pflug IJ. Vaporized Hydrogen Peroxide at Low Pressures as an Agent to Kill Bacterial Spores. *Zentr Steril* 2000; 8 (4): 190–204.
- 4 GB/T 33417-2016 Test method of biological indicator for VH₂O₂ processes, General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, 2016
- 5 DIN EN ISO 11138-1:2017 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Biologische Indikatoren – Teil 1: Allgemeine Anforderungen.
- 6 EN ISO 18472:2018 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Biologische und chemische Indikatoren – Prüfausrüstung.
- 7 EN ISO 11140-1:2014 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Chemische Indikatoren – Teil 1: Allgemeine Anforderungen.
- 8 Deinhard P, Kaiser U, Keßler H. Test method to determine the microbiological resistance and characterization of the reaction kinetics of hydrogen peroxide in sterilization processes. *Zentr Steril* 2016; 3: 171–176.
- 9 DIN EN ISO 14937:2009: Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Allgemeine Anforderungen an die Charakterisierung eines sterilisierenden Agens und an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte.
- 10 prEN ISO 11138-6: Sterilization of health care products – Biological indicators – Part 6: Biological indicators for hydrogen peroxide sterilization processes.
- 11 Sigwarth V, Stärk A. Effect of Carrier Materials on the Resistance of Spores of *Bacillus Stearothermophilus* to Gaseous Hydrogen Peroxide. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 2003; 57(1): 3–11.

Dr. Ulrich Kaiser

gke GmbH, Auf der Lind 10, D-65529 Waldems
office@gke.eu