

1 Einleitung

1.1 Pro und Kontra verschiedener Sterilisationsverfahren

Bis zum heutigen Zeitpunkt wurden verschiedene Sterilisationsverfahren entsprechend den unterschiedlichen Anforderungen zur Aufbereitung der Instrumente in Krankenhäusern und Praxen entwickelt. Aufgrund des komplexen Aufbaus einer Vielzahl thermolabiler, aber auch thermostabiler, leicht korrodierender Produkte, wie z. B. Glasfaserkabel, Endoskope, Kauterelektroden, Katheter usw., ist heute kein Sterilisationssystem universell anwendbar, sei es aus Gründen der Materialverträglichkeit, Wirtschaftlichkeit oder den eventuellen gesundheitlichen Risiken für Patienten und Personal.

Als einfachstes Verfahren steht die Aufbereitung mit trockener Hitze zur Verfügung. Allerdings können hiermit nur hitzestabile Materialien wie Metalle, Glas, Porzellan oder wasserfreie Substanzen sterilisiert werden, da hierbei Temperaturen bis zu 200 °C erreicht werden. Ein alternatives Verfahren stellt die Anwendung von gespanntem Wasserdampf bei 121 °C bis 134 °C dar. Aber auch diese Betriebstemperatur ist zu hoch, um thermolabile Materialien sterilisieren zu können. Außerdem verursacht der Wasserdampf Korrosionsprobleme auf metallischen medizinischen Instrumenten. Zu vermeiden wäre dieses Problem bei der Sterilisation mittels energiereicher Strahlen, wie sie bei der industriellen Herstellung von Einmalmaterialien aus Kunststoffen angewendet werden. Jedoch ist diese Methode im Klinikbetrieb durch die sehr aufwendige Technik, die strengen Sicherheitsauflagen und die hohen Investitionskosten nicht generell anwendbar. (Zu Funktionsparametern und Anwendungsbereichen dieser Sterilisationsmethoden siehe Tabelle 1).

Tab.1: Traditionelle Sterilisationsverfahren unter Berücksichtigung ihrer Verfahrensparameter, der Anwendungsbereiche sowie der Vor- und Nachteile
(nach Borneff und Borneff 1991 und Wallhäußer 1995)

Verfahren	Funktions-Parameter	Anwendungsbereiche	Vorteile	Nachteile
Heißluftsterilisation	T: bis 200 °C p: atmosphär. t: ca. 1 h	thermostabile Materialien	einfache Handhabung, keine Korrosion	für thermolabile Materialien ungeeignet, Verpackungs- und Validierungsproblematik
Dampfsterilisation	T: 121-134 °C p: 2-3 bar t: ca. 1 h	thermostabile Materialien	einfache Handhabung	für thermolabile Materialien ungeeignet, Korrosion
Energiereiche Strahlen	⁶⁰ CO-Quelle Kathodenstrahlen	hauptsächlich medizinische Einwegartikel	keine toxischen Rückstände	extrem aufwendige Apparatur

p = Druck, T = Temperatur, t = Chargenzeit

Spätere Entwicklungen von Sterilisatoren betrafen Nieder-Temperatur-Verfahren, die zur Sterilisation von thermolabilen Geräten und Instrumenten tauglich waren. Die in der Vergangenheit im Klinikalltag am häufigsten verwendeten Verfahren sind die Nieder-Temperatur-Gassterilisationsverfahren mit Ethylenoxid oder Formaldehyd.

Seit den 40er-Jahren wurde die Ethylenoxid-(EO)-Sterilisation besonders in amerikanischen Krankenhäusern verwendet. Dieses Verfahren zeigt den Vorteil einer zuverlässigen Sterilisation nach geltenden DIN-Normen durch ein gutes Penetrationsvermögen, auch bei langen,

englumigen und endständig geschlossenen Lumina. Die bakterizide Wirkung beruht zum einen auf Alkylierungsreaktionen zur Inaktivierung von Nukleinsäuren und zum anderen auf einer Reaktion mit funktionellen Gruppen in Seitenketten von Proteinen bei einer Betriebstemperatur von 50 – 60 °C. Allerdings ist Ethylenoxid ein starkes Protoplasmagift mit mutagenen und karzinogenen Eigenschaften. Durch die Gefahr der chronischen Schädigung des Personals und der Patienten, die mit unzureichend ausgegasteten Materialien in Berührung kommen, sind besondere Vorsichtsmaßnahmen zu treffen und aufwendige Personalschulungen notwendig (TRGS 513, 2000).

Die Desorptionszeit ist aufgrund der starken physikalischen Adsorption und chemischen Absorption (Jordy 1990) bei diesem Verfahren am längsten und beinhaltet ein Restrisiko für den Patienten, falls die Ausgasungszeit aus Unkenntnis oder Zeitnot nicht eingehalten wird. Zur Vermeidung dieses Gefahrenpotentials ist ein umfangreicher Instrumenteneinsatz erforderlich. Ethylenoxid ist leicht entflammbar und bildet mit Luft in einem Konzentrationsbereich zwischen 2,6 und 100 Volumenprozent ein explosives Gemisch (Scherrer und Daschner 1995). Daher wird in der Regel im Unterdruckverfahren mit Gasmischungen aus 100 % Ethylenoxid aus vordosierten Gaskartuschen oder im Überdruckverfahren mit 85 % Kohlendioxidbeimengung gearbeitet. Das Verfahren ist nur mikrobizid wirksam, wenn die zu sterilisierenden Keime einen ausreichend hohen Wassergehalt besitzen und das Ethylenoxid mittels Diffusion die Membran der Keime passieren kann. Deshalb müssen die Sterilisationsgüter vor der EO-Zugabe mit Wasserdampf befeuchtet werden und Temperaturen von über 50 °C entstehen (Jordy 1990).

Die in Europa seit den 70er-Jahren eingesetzte Formaldehyd-(FO)-Sterilisation war die einzige Alternative zur EO-Sterilisation (Wallhäußer 1995) und ist ebenso mit einer Reihe von Nachteilen behaftet. Ein negativer Aspekt ist wie bei der EO-Sterilisation die aufwendige Handhabung durch Desorptionszeiten, die aufgrund der Toxizität und Rückstandsproblematik bestehen.

Ebenfalls besteht der Verdacht, dass Formaldehyd für den Menschen kanzerogen wirkt, weil im Tierversuch tumorinduzierendes Potential festgestellt wurde. Da das wirksame Agens der FO-Sterilisation sein aus wässriger Lösung stammendes Hydrat ist, das eine geringe Penetrationsfähigkeit besitzt, muss es in mehreren Schüben durch fraktioniertes Vakuum in den Sterilisator eingegeben werden (Jordy 1990).

Die FO-Sterilisation unterliegt wie diejenige mit EO den gleichen Sicherheitsanforderungen (TRGS 513, 2000) hinsichtlich Aufstellungsraum des Sterilisators, Abgasentsorgung und Schulung des bedienenden Personals. Jedoch kann unter bestimmten Voraussetzungen die Anwendung eines Formaldehydsterilisators laut der Gefahrstoff-Verordnung (2004) von der Erlaubnispflicht durch die Genehmigungsbehörde und von dem Nachweis von mindestens zwei Befähigungsschein-Inhabern nach TRGS 513 (2000) befreit sein. Aufgrund der genannten Defizite der FO- und EO-Sterilisation lag es nahe, nach Alternativen zur Behandlung thermolabiler Instrumente zu suchen.

Mit der Entwicklung der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation mittels H_2O_2 in den 80er Jahren wurde ein vielversprechendes Verfahren entwickelt, das die Behandlung von Sterilisationsgut ohne toxische Rückstände ermöglicht (Netter 1992). Die praktische Umsetzung dieser Technologie auf der Wirkstoffbasis von Wasserstoffperoxid-Plasma erfolgte durch die Entwicklung des Sterrad[®]-Verfahrens, das am 10.01.1993 in den USA seine erste Zulassung erhielt (Food and Drug Administration 1993).

Wesentlich fortschrittlich im Sinne der modernen Geräte- und Instrumententechnik erscheint die NTP-Sterilisation durch den vergleichsweise einfachen Installations- und Betriebsaufwand sowie das Fehlen wesentlicher toxischer Risiken. Nachteile ergeben sich durch die relativ eingeschränkte Palette der in diesem Verfahren sterilisierbaren Güter.

Zusammenfassend gibt Tab. 2 einen Überblick zum Vergleich der NTP-Sterilisation mit den Verfahren der FO- und der EO-Sterilisation.

Tab. 2: Vor- und Nachteile von Nieder-Temperatur-Sterilisationsverfahren
(modifiziert nach Dettenkofer und Daschner 1997, Bux 1997)

Ethylenoxid	Formaldehyd	Nieder-Temperatur-H₂O₂-Plasma
Temperaturen : 50 – 60 °C Sterilisierzeit: 20 min – 6 h	Temperaturen: 60 – 75 °C Sterilisierzeit: bis 90 min	Temperaturen: < 50 °C Sterilisierzeit: 45 – 90 min
Vorteile - gutes Penetrationsvermögen auch bei langen, englumigen und endständig geschlossenen Lumina	Vorteile - unter Geruchsschwelle nicht toxisch - Desorption noch im Sterilisator	Vorteile - keine toxischen Rückstände im Sterilgut, deshalb keine Auslüftzeiten erforderlich - materialschonend - einfache Installation - keine besondere Qualifikation zur Bedienung erforderlich - automatischer Zyklusabbruch, falls vorgeschriebene Prozeßparameter nicht eingehalten werden
Nachteile - toxisch - kanzerogen - allergisierend - erfordert speziell qualifiziertes Personal - hohe Investitionskosten (Abluftbehandlung, Entgasungsschränke) - lange Desorptionszeiten	Nachteile - toxisch - Verdacht auf krebserregendes Potential - mutagene Wirkung auf Bakterien, Insekten, verschiedene Pflanzen - starkes Allergen - schlechtes Penetrationsvermögen bei langen englumigen Gegenständen - stechender Geruch - umweltbelastend: Formaldehyd wird mit dem Abwasser entsorgt - erfordert speziell qualifiziertes Personal	Nachteile - Probleme bei blindendenden engen Lumina - bei langen, englumigen Hohlinstrumenten evtl. Booster erforderlich - nicht für Flüssigkeiten, Textilien, Papier, Pulver

1.2 Technologie der Nieder-Temperatur-Plasma (NTP)-Sterilisation

Der Begriff Plasma beschreibt ganz- oder teilionisierte Gase und stellt neben fest, flüssig und gasförmig den vierten Aggregatzustand dar, in dem sich Materie befinden kann (Addy 1991). Diese reaktive Wolke von Ionen, Elektronen und elektrisch neutralen Teilchen entsteht durch sehr hohe Temperaturen oder durch starke elektrische bzw. magnetische Felder. Man unterscheidet in Hoch-Temperatur-Plasma mit Temperaturen größer 5000 °C und in Nieder-Temperatur-Plasma mit Temperaturen um 50 °C. Das Hoch-Temperatur-Plasma ist somit für Sterilisationszwecke nicht geeignet.

99 % der gesamten Materie im Universum befinden sich im Plasmazustand. Plasma kann in der Natur z. B. als Aurora borealis (Nordlicht) beobachtet werden.

Nieder-Temperatur-Plasma, auch glow discharge (Entladungsglimmern) genannt, ist vom Licht der Neonröhre bekannt. Das Plasma wird durch Wechselstrom erzeugt und durch ein elektromagnetisches Hochfrequenzfeld erhalten (Rose und Liston 1985). Mit steigender Leistung der Radiofrequenz nimmt proportional einerseits die bakterizide Wirkung des Plasmas zu, andererseits ist damit eine Temperaturerhöhung verbunden (Addy 1991). Verschiedene Gase können als Ausgangsmedium für das Plasma dienen, wie z. B. Sauerstoff, Stickstoff, Stickstoffoxid, Helium, Argon, Wasserdampf, Ammoniak, Wasserstoffperoxid-dampf, Peressigsäuregas. Je reaktionsfreudiger das eingebrachte Gas ist, desto reaktiver ist auch das gewonnene Plasma (Weidenfeller 1996).

Deshalb ist die antibakterielle Wirkung und die Toxizität der entstandenen Produkte entscheidend für die Auswahl des Plasma-Vorläufers. Die sporizide Aktivität des Wasserstoffperoxid-Plasmas hat sich gegenüber Vorläufern, wie H_2O , H_2 , N_2O , O_2 als das effektivste Verfahren erwiesen (Addy 1991). Deshalb benutzt das Sterrad[®]-Verfahren Wasserstoffperoxid als Vorläufer.

Weitere Gründe dafür sind die niedrige Bindungsenergie von ca. 213,7 kJ/mol, die zur Bildung der Radikale überwunden werden muss, und die Tatsache, dass die aktivierten Moleküle, die aus Wasserstoffperoxid erzeugt werden, besonders Hydroxyl-Radikale ($\cdot\text{OH}$) und Hydroxy-Radikale ($\cdot\text{O}_2\text{H}$), zu den reaktionsfreudigsten gehören, die man kennt

Addy 1991). Durch Erhöhung der H_2O_2 -Konzentration wird die bakterizide Wirkung des generierten Plasmas verstärkt (Addy 1991).

In der Sterilisationskammer des NTP-Sterilisators liegen Anode und Kathode, zwischen denen durch Anlegen einer Frequenz, z. B. für den Sterrad[®] 200 von 13,65 MHz, das primäre Plasma gebildet wird. Es kommt zum Zusammenstoßen von Wasserstoffperoxid-Molekülen, wodurch eine Vielzahl von Ionen, Elektronen und elektrisch neutralen Teilchen entstehen. Im Gegensatz zur Instabilität bei Atmosphärendruck, sind diese bei 0,6 torr einige Sekunden stabil. Je niedriger der Druck ist, umso höher ist auch die Plasmareaktivität (Jordy 1990).

Folgende Reaktionen der Wasserstoffperoxid-Moleküle in der Plasmawolke sind denkbar (Venugopalan u. Shih 1981):

1. $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot$ ($\text{HO}\cdot$ = Hydroxyl-Radikal)
2. $\text{HO}\cdot + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}\cdot + \text{HO}_2\cdot$ ($\text{HO}_2\cdot$ = Hydroperoxyl-Radikal)
3. $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2^*$ (H_2O_2^* = aktiviertes H_2O_2 -Molekül)
4. $\text{H}_2\text{O}_2^* \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{sichtbare und/oder UV-Strahlung}$
5. $\text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}\cdot$ ($\text{O}\cdot$ = Sauerstoff-Radikal)
6. $\text{HO}\cdot + \text{O}\cdot \rightarrow \text{H}\cdot + \text{O}_2$ ($\text{H}\cdot$ = Wasserstoff-Radikal)
7. $\text{HO}\cdot + \text{HO}_2\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
8. $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}\cdot + \text{HO}\cdot$
9. $\text{HO}\cdot + \text{HO}\cdot \rightarrow \text{HO}_2\cdot + \text{H}\cdot$

Die Reaktionen 1–9 laufen im Plasma kontinuierlich ab. Bevorzugt werden aus Wasserstoffperoxid jedoch das Hydroxyl- und daraus das Hydroperoxyl-Radikal (Reaktionen 1+2) gebildet. Die z.B. aus den Reaktionen 1, 2, 5, 8 und 9 entstandenen Radikale wirken durch Wechselwirkung mit Zellmembranen, Enzymen und Nukleinsäuren mikrobizid.

Die Mehrheit der Anforderungen, die an ein ideales Niedrigtemperatur-Sterilisationsverfahren gestellt werden, kann die NTP-Sterilisation erfüllen (Rutala 1996). Die NTP-Sterilisation ist nicht toxisch, die TRGS 513 (2000) wird nicht berührt. Umfangreiche Tests, wie z. B. In-vitro-Thromboresistenztests, Komplement-Aktivierungstests, Zytotoxizitätstests, Okular-Irritationstests (Draize-Test), Haemolysentests sowie die Prüfung der akuten systemischen

Toxizität (NAMSA, Northwood, Boston, Cincinnati) hatten zum Ergebnis, dass einzelne und wiederholte Sterilisationen bei vorher nicht toxischen und nicht irritierenden Materialien zu keinem Auftreten eines toxikologischen Risikos führten.

Nach der NTP-Sterilisation von medizinischen Geräten besteht nach derzeitigem Kenntnis- und Beurteilungsstand keine Gefährdung für den Patienten (Martius u. Janzen 1993). Das wirkende Agens ist nur solange existent, wie Energie zugeführt wird. Nach Beendigung der Plasmaphase fällt das Plasma innerhalb von Mikrosekunden in sich zusammen (Hilbert 1997) und im Falle des Einsatzes von Wasserstoffperoxid bleiben vorwiegend Wasser, Sauerstoff und andere nichttoxische Endprodukte zurück.

Das Sterilisiergut kann ohne Abkühlungsphase oder Auslüftung sofort wieder eingesetzt werden. Zudem passiert das gesamte Gas in der Kammer in der Entlüftungsphase einen Filter und persistierendes Wasserstoffperoxid reagiert kupferkatalysiert zu Wasser und Sauerstoff. Im Vergleich mit einer zu Reinigungszwecken verwendeten 0,3%igen Wasserstoffperoxid-Lösung ist die über Rückstände in den Körper eingebrachte Konzentration minimal und toxikologisch nach Netter (1992) ohne Gewicht, da Wasserstoffperoxid durch die ubiquitäre Katalase in den Zellen sofort gespalten wird.

Aus humantoxikologischer Sicht kommen Scherrer und Daschner (1995) zu der Aussage, dass in Bezug auf die Gefährdung von Patienten und Personal die NTP-Sterilisation im Vergleich zur Ethylenoxid- und der Formaldehyd-Gassterilisation das bei weitem vorteilhafteste Verfahren ist.

Durch die hohe Varianz der Einsatzmöglichkeiten des NTP-Verfahrens kann sehr unterschiedliches Sterilisiergut, das zur selben Zeit verfügbar sein muss, in einem Zyklus eingebracht werden, ohne dass ein nachträgliches Einsortieren von thermolabilen Instrumenten notwendig wäre (Dräger u. Prüter 1990, Förtsch et al. 1993). Folgendes Sterilisiergut wurde vom Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg zur Behandlung mit dem NTP-Verfahren empfohlen (Weidenfeller 1996): Lichtleiter, flexible Endoskope, Kauterelektroden, Katheter, Kabel, alle Optiken, elektrische Teile, Kameras, Teile von Ultraschallgeräten, flexible Bougies ohne Lumen.

Die NTP-Sterilisation mit H_2O_2 als wirksames Agens erwies sich als effektiv in der Elimination von *Cryptosporidium parvum* (Barbee et al. 1999), Human Immunodeficiency Virus Typ 1, Hepatitis A und B Virus, Respiratory Syncytial Virus, Vaccinia Virus, Herpes Simplex Virus Typ 1 und Poliovirus Typ 2 (Vickery et al. 1999). Yan et al. (2004) konnten zeigen, dass mit Prionen kontaminierte Edelstahldrähte zu keiner Erkrankung von Hamstern führten, wenn sie vor der Implantation in die Gehirne von Hamstern mit einem alkalischen Detergenz behandelt und in einem NTP-Sterilisator aufbereitet wurden. Im Gegensatz dazu kam es zu einer Erkrankung von 2 von 10 Testtieren, wenn anstelle der Aufbereitung im NTP-Sterilisator eine Autoklavierung bei 134 °C für 18 Minuten erfolgte.

Da es sich bei der NTP-Sterilisation um ein „trockenes“ Sterilisationsverfahren mit einer Luftfeuchtigkeit von nur 5 % handelt, kann eine korrosive Wirkung ausgeschlossen werden. Desweiteren konnte die hohe Materialverträglichkeit durch Versuche, wie z. B. den Gewichtsvananten-Test, die Kontaktwinkelmessung, eine Oberflächenanalyse per Elektronenmikroskop, nachgewiesen werden, da keine Korrosion oder Abnutzung der Oberfläche feststellbar war. Auch der atomare Wasserstoff führte zu keiner Schädigung von z. B. gehärtetem Stahl (Förtsch et al. 1993).

In Tierversuchen wurden Bioimplantate (Gehörknöchelchen, Sehnenmaterial) mittels NTP wirkungsvoll sterilisiert. Jedes andere Verfahren, sei es Ethylenoxid, Formaldehyd, γ -Strahlung, trockene oder feuchte Hitze, hätte diese Art von Bioimplantaten irreversibel geschädigt (Eggers et al. 1995). Zudem konnte auch nach vielfacher NTP-Sterilisation von Polyethylen-Modellen für Endoprothesen im Vergleich zur γ -Sterilisation keine nennenswerte Oxidation und damit Haltbarkeitsverkürzungen sowie Verschiebungen des Kristallgitters, Veränderungen der Viskosität und des Molekulargewichtes nachgewiesen werden (Förtsch et al. 1999).

Nach Jordy (1990) wurde auch nach mehrfacher Behandlung von mikrochirurgischen Instrumenten keine Veränderung des Materials festgestellt (Jordy 1990).

Bezüglich der Wirtschaftlichkeit gilt die NTP-Sterilisation als kostengünstige Aufbereitungsmethode, wenn der Standort des Gerätes möglichst in der Nähe des Anwenders ist und eine optimale Logistik stattfindet (Adler et al. 1998). Außerdem müssen durch die relativ kurze

Sterilisationszeit im Vergleich zur EO- und FO- Sterilisation weniger der benötigten Instrumente angeschafft werden. Betrachtet man die Kosten für die Sterilisation selbst, liegen diese bei der NTP-Sterilisation deutlich unter denen der Ethylenoxid-Sterilisation und wenig über denjenigen der Formaldehyd-Sterilisation. Gegenüber der Dampfsterilisation weisen die thermostabilen Materialien zwar eine verlängerte Lebensdauer auf, jedoch muss auch hier eine gewisse Korrosion auf lange Sicht bei wirtschaftlichen Überlegungen berücksichtigt werden (Adler et al. 1998).

Die Markteinführung der NTP-Sterilisation erfolgte 1994 mit dem Sterrad[®] 100 durch die Firma Advanced Sterilization Products (A.S.P., Johnson & Johnson, Irvine, USA). Eine Verbesserung dieser Version wurde durch die Bildung eines Luftplasmas (Vorplasma) in der initialen Vakuumphase und einer doppelten Wirkstoffinjektion mit jeweils anschließenden Diffusions- und Plasmaphasen erreicht (Jacobs 1997). Mit dieser Version Sterrad[®] 100 S wurde 1996 die Sterilisationszeit verkürzt und die Sterilisationssicherheit verbessert. Im Frühling 2000 stand das erste Gerät der neuen Generation Sterrad[®] 200 in Europa zur Verfügung.

Mit dem Verfahren wurde ein vergleichsweise längerer Zyklus eingeführt. Durch die Vergrößerung des Kammervolumens auf 150 l gegenüber 100 l im Sterrad 100 ergeben sich eine verlängerte initiale Vakuumphase und Endphase.

Systematische Untersuchungen des Leistungsvermögens dieser neuen Geräteversion hinsichtlich der mikrobiziden Wirkung in realen Instrumenten lagen zu Beginn dieser Arbeit noch nicht vor und wurden somit als Ziel dieser Arbeit definiert.