

Methode zur Prüfung der Reinigung von Robotik-Instrumenten der minimal invasiven Chirurgie

M. Wehrl¹, W. Michels²

Zur Etablierung einer einheitlichen und reproduzierbaren Prüfmethodik für die Quantifizierung der Reinigungswirkung bei Robotik-Instrumenten, welche durch tatsächlichen Gebrauch kontaminiert und wiederaufbereitet wurden, wurde die «Arbeitsgruppe DaVinci» (AG DaVinci) gegründet. Da die Instrumente über zahlreiche Besonderheiten hinsichtlich Konstruktion und verwendeter Materialien verfügen, ist hierbei die Anwendung spezieller Methoden zur Elution der nachzuweisenden Restanschmutzungen notwendig. Die Gruppe erarbeitete ein detailliertes Methodenprotokoll zur Bestimmung des Restproteinangehalts am Instrumententyp Maryland-Bipolar-Forceps, MBF, des Herstellers Intuitive Surgical Inc., CA, USA, der in typischer Weise den konstruktiven Aufbau von Robotik-Instrumenten repräsentiert. Zur Etablierung der Methode wurden von den Teilnehmern der Gruppe mehrere Ringversuche unter anderem zur Bestimmung der Wiederfindungs-raten mit unterschiedlichen Methoden zur Proteinquantifizierung durchgeführt. Die Ergebnisse der Ringversuche werden in einer weiteren nachfolgenden Publikation veröffentlicht.

Die Gruppe bestand aus folgenden Mitgliedern: Dr. Gabriele Albers (HYBETA GmbH), Dirk Diedrich (HYBETA GmbH), Prof. Dr. Hermann Frister

(Hochschule Hannover), Dr. Manuel Heintz (wfk – Institut für Angewandte Forschung GmbH), Henri Hubert (SMP GmbH), Dipl. Umweltwiss. Johanna Köhnlein (HygCen – Centrum für Hygiene und medizinische Produktsicherheit GmbH), Dr. Winfried Michels (c/o Miele & Cie. KG), Dr. Urs Rosenberg (Borer Chemie AG), Klaus Roth (SMP GmbH), Dipl.-Ing. Oliver Schmitt (HygCen – Centrum für Hygiene und medizinische Produktsicherheit GmbH) und Dr. Markus Wehrl (wfk – Cleaning Technology Institute e. V.).

An den Arbeitssitzungen der AG DaVinci nahmen folgende Gäste teil: Klaus Bühler (Intuitive Surgical Sàrl, Aubonne, Schweiz) und Dr. Brian Wallace (Intuitive Surgical Inc., Sunnyvale, CA, USA). Die Arbeiten der AG DaVinci wurden von Intuitive Surgical, Inc. (USA) unter anderem durch Zurverfügungstellung von Robotik-Instrumenten unterstützt.

Einleitung

DaVinci-Instrumente

Roboter-unterstützte minimal-invasive Operations (OP)-techniken werden in immer mehr Kliniken angewendet. Das am weitesten verbreitete System ist das DaVinci®-System des US amerikanischen Herstellers Intuitive Surgical, Inc. (Sunnyvale, CA, USA) [1]. Das Roboter-System besteht im Wesentlichen aus einer Chirurgen-Konsole zur Bedienung der Instrumente, Bildschirmwagen mit elektro-

Schlüsselwörter

- minimal-invasive Chirurgie
- DaVinci
- Robotik-Instrumente
- Reinigungsprüfung
- Proteinbestimmung

nischen Komponenten und aus dem Operationsroboter mit vier Armen, über den drei chirurgische Instrumente (EndoWrist-Instrumente) sowie das 3D-Kamerasytem gesteuert werden. Roboter-unterstützte chirurgische Maßnahmen werden gegenwärtig in der Urologie, Gynäkologie, Herz-chirurgie, für HNO- und Thorax-OP eingesetzt.

Weit über 90 % der gegenwärtig eingesetzten Instrumente verfügen über einen Schaftdurchmesser von 8 mm. Diese Instrumente werden in DaVinci®, DaVinci S® und DaVinci Si®-Systemen eingesetzt, darüber hinaus sind noch einige Instrumententypen für Spezialapplikationen mit einem Instrumentendurchmesser von 5 mm verfügbar. Die Instrumente haben distale Arbeitsenden, die je nach beabsichtigter Applikation als z. B. Pinzette, Haken, Schere, Nadelhalter, z. T. mit Koagulationsfunktion, ausgeführt sind.

Eines der am häufigsten verwendeten Instrumente ist die Maryland-Bipolar-Forceps (MBF), siehe Abb. 1. Das distale Arbeitsende ist am Schaftelelement angebracht, einem Rohrelement aus Verbundwerkstoff mit einem Außendurchmesser von 8 mm

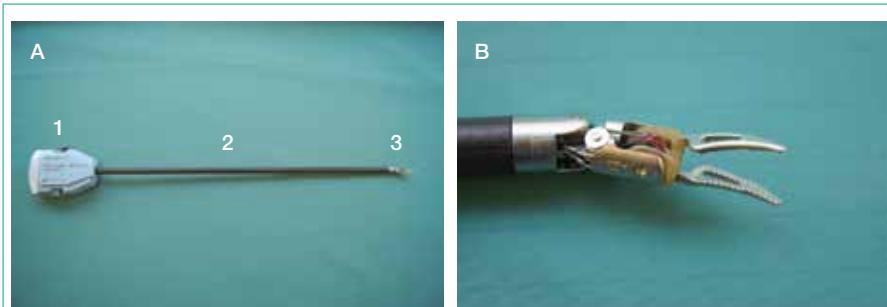


Abb. 1: Maryland Bipolar Forceps (MBF) als Beispiel für Robotikinstrumente

1A: Gesamtansicht mit 1: Gehäuseteil, 2: Schaftelelement, 3: distalem Arbeitsende
1B: Detailaufnahme des distalen Arbeitsendes, mit Anschmutzung auf Umlenkrollen

1 Dr. Markus Wehrl, wfk – Cleaning Technology Institute e. V., Campus Fichtenhain 11, D-47807 Krefeld

2 Dr. Winfried Michels, c/o Miele & Cie. KG, D-33325 Gütersloh

und einer Länge von 43 cm. Proximal ist das Schaftelelement drehbar im Gehäuseteil, welches an den Roboterarm angekoppelt wird, gelagert. Die Steuerung des distalen Arbeitsendes erfolgt über im Schaft verlaufende Drahtelemente, die distal und proximal als Drahtseile aus Wolfram ausgeführt sind und über die vier Drehknöpfe am Gehäuseteil des Roboters angesteuert werden. Bei Instrumenten mit Kauterfunktion verlaufen im Schaftelelement zusätzlich zwei isolierte Spannungskabel. Das von den Drahtseilen angesteuerte distale Arbeitsende verfügt bei allen Instrumenten über mehrere Umlenkrollen. Über diese laufen die Drahtseile, um die Bewegung der Instrumentenbranchen zu realisieren. Das Innere des Schaftelelements ist distal vom Arbeitsende durch ein Septum abgetrennt, die Drahtseile laufen hier durch engtolerante Bohrungen.

Aufbereitung

Vom Hersteller sind die Robotik-Instrumente je nach Instrumententyp für eine unterschiedliche Zahl von Anwendungen freigegeben. Hinsichtlich der Klassifizierung für die Aufbereitung handelt es sich um Instrumente vom Typ kritisch B [2, 3]. Aufgrund der geometrischen Komplexität, der Anschmutzung mit koagulierendem Blut und ggf. auch starker Hitzenaturierung der Anschmutzungen (bei Elektrokoagulationsfunktion des Arbeitsendes) sowie des mit der Bewegung gegebenen Eintrags von Anschmutzungen in Spalt- und Kontaktbereiche ist eine intensive manuelle Vorbehandlung durchzuführen. Durch den leichten Insufflationsüberdruck während der OP und die Bewegung der Drahtseile können geringe Mengen Blut auch in das Innere des Schaftelelements eintreten. Zur Ausspülung sind in das Gehäuseteil zwei Spülanschlüsse eingebbracht. Die Einströmung von Reinigerflotte erfolgt zum Einen über Port 1, dieser ist intern mit einem Schlauchelement verlängert, das etwa bis 35 mm vor das Septum des distalen Endes führt. Die so in den inneren Distalbereich des Schafteles geführte Reinigungslösung strömt von dort durch das freie Zwischenraumvolumen an den Drahtelementen, Kabeln bzw. am Schlauchelement vorbei nach hinten und tritt am Ende des Schafteles im Gehäuse aus. Über Port 2 erfolgt die Reinigung und Ausspülung innerhalb des Gehäuseteils. Nach der manuellen Vorbehandlung erfolgt die maschinelle Reinigung und thermische Desinfektion im RDG (Reinigungs-Desinfekti-

onsgerät) mit speziellen Beladungswagen [4, 5]. Nach visueller Abmusterung der Instrumente, Funktionskontrolle und Pflege erfolgt die Verpackung und nachfolgend die Dampfsterilisation.

Im Rahmen der Validierung der angewendeten Aufbereitungsverfahren [6] muss eine Überprüfung des Reinigungserfolgs als Bestandteil der Leistungsqualifikation (LQ) bei durch tatsächlichen Gebrauch kontaminierten Instrumenten durchgeführt werden [7, 8]. Bislang lag zur Untersuchung des Restproteingehalts bei Robotik-Instrumenten keine stringente Methodenbeschreibung vor, sodass bislang nur kaum reproduzierbare und nicht vergleichbare Ergebnisse für die Beurteilung der Verfahrenswirksamkeit bei der Reinigung durch verschiedene Untersuchungsstellen erzielt wurden [9]. Dabei waren Unterschiede bei der Art der Probengewinnung und der Bezug des Ergebnisses zur beprobten Fläche von besonderer Bedeutung.

Die nachfolgend beschriebene Prüfmethode wurde von den Teilnehmern der AG DaVinci unter Austausch mit dem Hersteller der Instrumente erarbeitet und in Ringversuchen überprüft. Detaillierte Ergebnisse der Ringversuche zu z. B. Wiederfindungsraten für verschiedene proteinhaltige Anschmutzungen und die Eignung von Proteinquantifizierungsmethoden werden in einer nachfolgenden Publikation veröffentlicht.

Untersuchungsdesign

Grundsätze der Untersuchung

Zur Quantifizierung von Restanschmutzungen wird als Leitparameter der Proteingehalt der Instrumente bestimmt. Zur Quantifizierung können entweder die modifizierte ortho-Phthalodialdehyd (OPA)-Methode oder die Bicinchoninsäure (BCA)-Methode verwendet werden. Vor der erstmaligen Beprobung muss ein Instrument einer mindestens dreimaligen Aufbereitung unterzogen worden sein, um mögliche Interferenzen von Herstellungsrückständen auf den Instrumenten mit den angewendeten Proteinquantifizierungsverfahren zu minimieren. Eine Grundvoraussetzung für Elution und Bestimmung des Restproteingehaltes ist die stringente Einhaltung der Herstellerempfehlung zur Aufbereitung und die zuvor durchgeführte visuelle Abmusterung der Instrumente unter optischer Vergrößerung (i.d.R. 3–5×, z. B.

Lupe, Lupenlampe). Dabei dürfen keine visuell wahrnehmbaren Restanschmutzungen, insbesondere auch auf den Drahtseilen, Umlenkrollen oder Gelenkelementen des Arbeitsendes erkennbar sein. Zur Abmusterung muss das distale Arbeitsende manuell bewegt und die Branchen bis zur maximalen Auslenkung geöffnet und wieder geschlossen werden, um verdeckte Stellen besser inspizieren zu können. Restanschmutzungen an nicht einsehbaren Stellen, z. B. zwischen den Einzeldrähten der Drahtseile oder den Achsen der Umlenkrollen, können nur durch nachfolgende Elution und Proteinquantifizierung erfasst werden. Vereinzelt sind bei Untersuchungen auch visuell wahrnehmbare Rückstände (Präzipitate) von Wasserinhaltstoffen identifiziert worden. Aus diesem Grund ist bereits beim Prozessschritt Reinigung vollentsalzes Wasser einzusetzen. Werden Reinigerrückstände festgestellt, muss die Dauer der Spülsschritte verlängert oder deren Anzahl erhöht werden.

Beprobungsstellen

Die Beprobung der Instrumente berücksichtigt insbesondere Instrumentenbereiche, die während der Operation mit Körperflüssigkeiten und Gewebe des Patienten in Kontakt kommen und von denen bei Wiederanwendung ein Übertragungsrisiko ausgeht. Dies betrifft das distale Arbeitsende und den distalen inneren Schaftbereich. Die Beprobung von distalem Arbeitsende und Schaftelelement erfolgen sequenziell nacheinander. Eine Beprobung der Innenseite des proximalen vom Patienten entfernten Gehäuseteils wird nicht vorgenommen, da: i) das Gehäuse patientenfern ist und während eines Eingriffs weder direkt noch indirekt mit dem Patienten in Kontakt kommen kann; ii) das Innere des Gehäuses von einer Haube abgedeckt ist und weder mit dem Patienten in Kontakt kommt noch kontaminiert werden kann, iii) es selbst nach der Aufbereitung bei Verbleib einer geringen Anschmutzung höchst unwahrscheinlich ist, dass diese vom Gehäuse durch das Innere des Schaftelelements zum Patienten gelangen könnte (Silikon-Septum am distalen Arbeitsende, Insufflationsüberdruck).

Die Außenseite des Schaftelelements und des Gehäuses wird nicht beprobt, da es sich um geometrisch unkritische und nicht verdeckte Oberflächen handelt, die bei manueller Vorbehandlung und maschineller Aufbereitung gut zugänglich sind und einfach visuell abgemustert werden können.

Entnahme der Instrumente

Die Prüfung der Reinigungswirkung erfolgt nach Abbruch des maschinellen Aufbereitungsverfahrens unmittelbar vor der thermischen Desinfektionsstufe. Dazu werden die nassen Instrumente mit Handschuhen aus dem RDG entnommen und abgeschüttelt. Mittels einer Einwegspritze werden bei etwas höher gehaltenem distalen Ende über Spülanschluss 1 zweimal 20 ml Luft injiziert, um Restwasser auszublasen.

Untersuchung vor Ort

Wird die Untersuchung der Instrumente vor Ort durchgeführt, so muss die Elution innerhalb von einer Stunde nach Entnahme aus dem RDG erfolgen. Direkt anschließend ist die Protein-Quantifizierung vorzunehmen. Alternativ können die Instrumente bis zur Untersuchung in Folienverpackung im Gefrierschrank bei $\leq -10^{\circ}\text{C}$ gelagert werden.

Versand von Instrumenten

Werden die Untersuchungen nicht vor Ort durchgeführt, sondern durch ein externes Labor, so werden die Instrumente in einen Folienbeutel oder -schlauch verpackt, versiegelt und in den Originalherstellerkarton gelegt. Um eine Vermehrung von Mikroorganismen und mögliche Einflüsse auf vorhandene Restanschmutzungen zu verhindern, muss der Transport gekühlt und innerhalb von 24 Stunden erfolgen. Dazu werden die Instrumente zwecks thermischer Isolation in Styroporboxen (z. B. Lebensmittelhandel) zusammen mit einer genügenden Anzahl tiefgefrorener Kühléléments ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) umverpackt und versandt. Zur Kontrolle der Temperatur wird ein geeigneter Temperatur-Logger mit in den Karton eines Instrumentes gelegt. Bei Ankunft im Labor wird der Logger ausgelesen und die Temperaturkurve dokumentiert. Diese soll bei Ankunft 20°C nicht überschritten haben. Die Instrumente werden umgehend untersucht oder bis zur Untersuchung in einem Gefrierschrank bei $\leq -10^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Untersuchung gefroren gelagerter Instrumente

Die Lagerung von zu untersuchenden Instrumenten erfolgt in einem Gefrierfach bei Temperaturen von $\leq -10^{\circ}\text{C}$, um mikrobiellen Stoffwechsel und Wachstum zu verhindern und mögliche Einflüsse auf vorhandene Restanschmutzungen zu unterdrücken. Zur Elution sind die Instrumente ca. 2 h vor der Beprobung aus dem

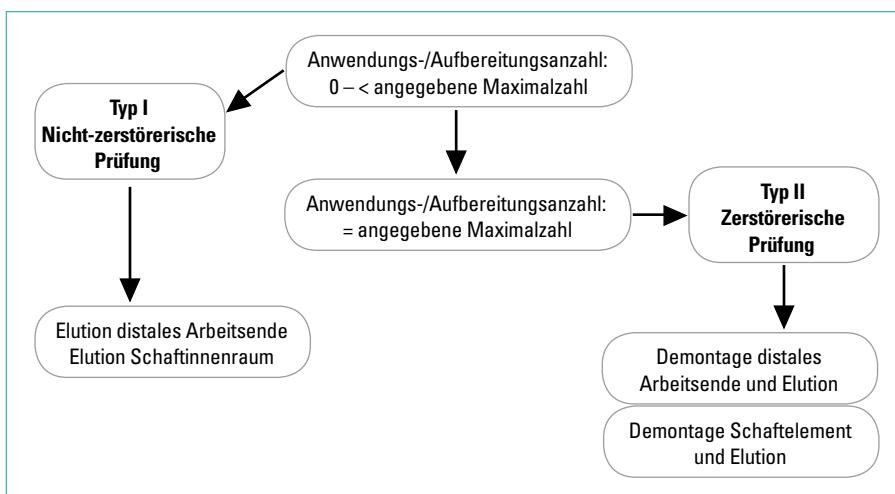


Abb. 2: Schematische Darstellung zur Auswahl der Prüfmethoden in Abhängigkeit von der Anzahl der Anwendungen bzw. Aufbereitungen der Robotikinstrumente

Gefrierfach zu entnehmen, um eine Angleichung an die Raumtemperatur zu ermöglichen. Erst nachdem die Instrumente Raumtemperatur erreicht haben, sind sie aus der Verpackung (Folienverpackung, Schlauchbeutel, etc.) zu entnehmen, um eine Beeinflussung durch Kondenswasserauflagerung zu unterbinden.

Festlegung der Untersuchungsart

Typ I-Prüfung: Nicht-zerstörerische Prüfung
Für Untersuchungen, die noch vor dem «Lebensende» der Instrumente, also innerhalb der vom Hersteller zugelassenen Anzahl an Aufbereitungszyklen liegen, wird eine nicht-zerstörerische Elution des distalen Arbeitsendes und eine Elution des Schaftinnenraums vorgenommen, siehe Abb. 2. Neue Instrumente sollten zur möglichst quantitativen Entfernung von Rückständen aus dem Herstellungsprozess vor einer ersten Beprobung mindestens einer zweimaligen vollständigen maschinellen Aufbereitung mit Reinigung sowie thermischer Desinfektion unterzogen werden sein, sodass die Beprobung nach Patienteneinsatz nach der dritten Reinigung erfolgt.

Typ II-Prüfung: Zerstörerische Prüfung nach letztmaliger Anwendung

Nach der letztmaligen Anwendung der Instrumente werden diese einer Reinigung unterzogen. Nachfolgend erfolgt eine Quantifizierung der ggf. kumulativ vorliegenden Restanschmutzungen am distalen Arbeitsende und im Schaftinnenraum mittels einer zerstörerischen Prüfung, siehe Abb. 2.

Material und Methoden

Lösungen und Geräte

- 1% SDS-Lösung (w/w) in H_2O , mit NaOH-Lösung wird pH = 11 eingestellt (Natrium-Dodecylsulfat, Reinheitsgrad für biochemische Anwendungen [z. B. Merck, Best.-Nr.: 1.12533.0050])
- 0,1 M NaOH-Lösung in H_2O
- H_2O , HPLC-Qualität (z. B. Fa. Merck, Best.-Nr.: 1.15333.2500)
- Bovines Serum Albumin (BSA), Fraktion V, Reinheit $\geq 98\%$ (z. B. Fa. Carl Roth, Best.-Nr.: T844.2)
- Ggf. Mikroliterpipetten, diverse Volumina, kalibriert
- Pipettenspitzen, diverse Größen
- Einmalspritze, 10 ml Totalvolumen
- Wirbelmischer/Vortex-Mischer (z. B. Carl Roth, Best. Nr.: AH32.1)
- Zentrifugenröhrenchen mit Totalvolumen 15 ml (z. B. BD Falcon No. 352099) oder 10 ml Cryoröhrchen (z. B. Fa. Carl Roth, Best.-Nr.P168.1)
- Reaktionsgefäß, diverse
- pH-Messstäbchen, z. B. pH = 7,0–14,0 (z. B. Carl Roth, Best.-Nr. C732.2)
- Silikonschlauchabschnitte, Innen-durchmesser 8 mm, Außendurchmes-ser 11 mm, Länge ca. 8 cm (z. B. Fa. Carl Roth, Best.-Nr.: 9576.1) oder Abschluss-konen, divers
- Crile-Klemmen, divers
- Folienbeutel, -schläuche, diverse
- Styroporboxen (z. B. Fa. Overath, Modell: K11326 HACCP, Art.-Nr.: 77335011326)

- Temperatur-Logger (z. B. Ebro, Typ EBI 300/EBI 310)
- Hinsichtlich der Proteinquantifizierungsmethoden (modifizierte OPA- oder BCA-Methode) wird auf DIN EN ISO 15883-1, Anhang C [10] verwiesen. Alternativ können modifizierte Methoden, z. B. [11] oder kommerzielle Testsätze verwendet werden, sofern diese auf den gleichen chemischen Nachweisreaktionen beruhen und gleichartige Eignung zur Proteinquantifizierung aufweisen. Gegebenenfalls sind spezifische Bestimmungsgrenzen und Störfaktoren zu beachten.

Type I-Prüfung (nicht-zerstörerisch)

Elution von Funktionsteil und innerem Schaftelelement

Zur Elution des distalen Arbeitsendes wird das Instrument in senkrechter Position mittels einer Stativklemme fixiert. Das Arbeitsende wird in ein Röhrchen (Totalvolumen 10–15 ml) abgesenkt, das mit 6 ml 1% SDS-Lsg. ($\text{pH} = 11$) gefüllt ist. Anschließend wird eine Stoppuhr gestartet. Die Gesamtelutionszeit beträgt 30 Minuten. Das in die SDS-Lsg. eingetauchte Arbeitsende wird kurzzeitig senkrecht aus dem Röhrchen genommen, um die Branten des Funktionsteils in alle Richtungen zu bewegen. Hierzu wird jeder der vier Steuerknöpfe auf der Rückseite des Gehäuseteils mit der Hand sowohl nach links als auch nach rechts gedreht. Nach der Bedienung jeden Knopfes wird der Vorgang zwei weitere Male wiederholt, danach wird das Arbeitsende wieder in das Zentrifugenrörchen abgesenkt und eingetaucht in SDS-Lsg. auf einem Wirbelmischer (Vortexer) für 10 Sekunden geschüttelt. Zehn Minuten nach Start der Elution erfolgt eine weitere dreimalige Betätigung der vier Steuerknöpfe und anschließende Durchmischung auf dem Wirbelmischer, nach 20 Minuten und am 30-Minuten-Zeitpunkt wird dieser Vorgang nochmals wiederholt. Nach dem letzten Wirbelmischen wird das Eluat aus dem Röhrchen mit einer Einmalspritze (10 ml) aufgezogen und das Arbeitsende in das entleerte Röhrchen abgesenkt. Das Eluat wird mittels der Spritze in den Spülanschluss 1 auf der Stirnseite des Gehäuseteils injiziert, die Spritze verbleibt adaptiert. Die Stoppuhr wird erneut gestartet und nun jeder der vier Steuerknöpfe auf der Rückseite des Gehäuseteils mit der Hand sowohl nach links als auch nach rechts gedreht. Nach

der Bedienung jeden Knopfes wird der Vorgang zwei weitere Male wiederholt. Nun wird die Elutionslösung dreimal mit der adaptierten Spritze aufgezogen und wieder injiziert. Das Instrument verweilt bis zum Zeitpunkt 10 Minuten. Dann wird das Eluat mit der Spritze wieder aus dem Instrument aufgezogen, mit der ausgetretenen Elutionslösung in der Vorlage vereint und dann komplett mit der Spritze wieder aufgezogen. Die Spritze wird wieder an den Spülanschluss 1 adaptiert und der Elutionsvorgang wiederholt. Weitere Wiederholungen des Elutionsspülens erfolgen an den Zeitpunkten 20 und 30 Minuten. Danach wird die Lösung aus dem Instrument wieder mit der Lösung in der Vorlage vereint und ein Aliquot der Analyse zugeführt.

Type II-Prüfung (zerstörerische Prüfung)

Demontage der Instrumente

Von dem zu untersuchenden Instrument wird die Gehäusekappe mittels Schraubenzieher abgehoben. Mit einem feinen Seitenschneider werden die Drahtseile an den Steuerungsrädern gekappt, letztere sind dann frei drehend, siehe Abb. 3. Nun kann das metallische Arbeitsende vom Schafetrohr abgezogen werden und die Drahtsteuerelemente werden etwa 8 mm hinter dem Übergang der Drahtseile auf die Metallstäbelemente («hypotube») mittig im Bereich der Crimp-Marke mit dem Seitenschneider gekappt. Die isolierten elektrischen Kabel werden auf selber Höhe durchtrennt. Nun wird das Schafetrohr vom Gehäuseteil gelöst und etwas abgezogen, sodass am Distalende die Drahtsteuerelemente im Schafetrohr verschwinden. Auf der Seite zum Gehäuseteil werden die Drahtsteuerelemente wieder mittig an der Crimp-Marke der «hypotu-

bes» durchtrennt, ebenso die elektrischen Kabel sowie der Spülslsauch, dabei muss das Schafetrohr waagerecht positioniert werden, damit die nun losen Komponenten im Schafetrohr verbleiben.

Elution und Untersuchung des metallischen Arbeitsendes

Unter Verwendung einer Lupe (3 – 5x) wird das Funktionsteil des metallischen Arbeitsendes und insbesondere der innere Zylinder im Bereich der Durchführung der Drahtseile (Septum-Bereich) zum Funktionsteil gründlich kontrolliert. Es dürfen keine Schmutzrückstände feststellbar sein.

Das Distalteil wird nun in ein sauberes Gefäß gegeben (z. B. 10–15 ml Zentrifugenrörchen), es werden 3 ml 1% SDS-Lösung ($\text{pH} = 11$) hinzugipettiert, das Gefäß verschlossen und eine Stoppuhr gestartet. Das Röhrchen mit dem Arbeitsende wird mit einem Wirbelmischer (Vortexer) 15 Sekunden behandelt und danach 10 Minuten in Ruhe belassen, danach werden Wirbelmischerbehandlung und Ruhephase noch zwei Mal wiederholt. Nach 30 Minuten endet die Elution mit einem letzten Durchmischen. Dann lässt man den Schaum etwas setzen, öffnet das Röhrchen und entnimmt mit einer Pinzette das Distalteil. Ein Aliquot der Lösung wird der Analyse zugeführt.

Elution und Untersuchung des inneren Schafetrohres

Auf ein Ende des Schafetrohres mit innen verbliebenen Drahtsteuerelementen («hypotubes»), Kabeln sowie Spülslsauch wird zur Hälfte ein passender Silikonschlauchabschnitt (Länge ca. 8 cm) geschoben (ggf. mit einer Schlauchschelle fixieren) und die freie Hälfte abgeklemmt (z. B. mit einer Arterienklemme vom Typ

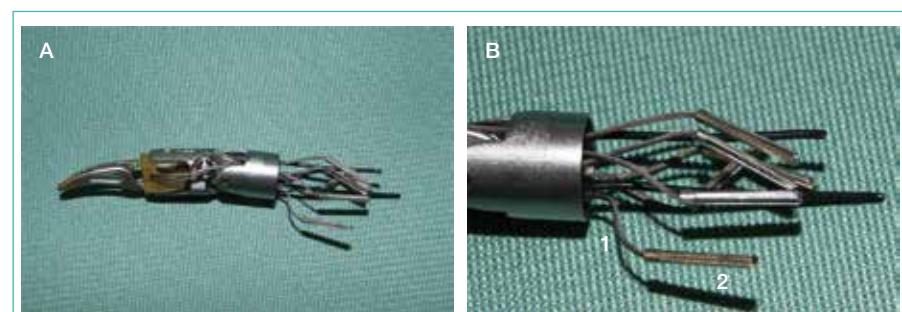


Abb. 3: Demontiertes distales Arbeitsende eines Maryland Bipolar Forceps-Instruments
3A: Gesamtansicht des distalen Arbeitsendes
3B: Durchtrennung der Drahtsteuerelemente im Bereich der Crimp-Stelle Drahtseil (1) – «hypotube» (2)

Crile). Das Schaftröhr wird senkrecht gehalten, das abgeklemmte Ende nach unten weisend, und 4 ml 1% SDS-Lösung (pH = 11) oben hinein pipettiert. Das obere Ende wird nun ebenfalls mit einem Silikonschlauchabschnitt verschlossen. Als Alternative zu den Silikonschlüchen können auch geeignete Verschlusskappen verwendet werden. Das Schaftröhr wird in senkrechter Position zweimal auf den Tisch gestaucht, umgedreht, wieder zweimal gestaucht und dieses noch dreimal wiederholt, sodass jedes Ende insgesamt viermal, jeweils doppelt, aufgestoßen wurde. Nach 10 Minuten Einwirkzeit wird das Stauchen, dreimal in jede Richtung, wiederholt und nach erneuter 10-minütiger Einwirkzeit der Vorgang wiederholt. Dann wird an einem Ende die Klemme entfernt und die Lösung in ein Becherglas überführt. Ein Aliquot wird der Analyse zugeführt.

Testung auf Trübung

Vor der Proteinquantifizierung muss eine visuelle Kontrolle aller Eluate auf etwaige Trübung vorgenommen werden. Die Inspektion der Eluate in den Röhrchen erfolgt bevorzugt vor einem dunklen Hintergrund. Bei visuell wahrnehmbarer Trübung darf keine nachfolgende photometrische Vermessung vorgenommen werden und die Proben werden als nicht quantifizierbar zurückgewiesen. Geeignete überprüfte Verfahren zur spezifischen Entfernung von trübungsverursachenden Substanzen wurden für diese Prüfungen noch nicht erarbeitet und bewertet. Auf jeden Fall sind mögliche Ursachen, wie z. B. die bei den Aufbereitungsschritten verwendete Wasserqualität, zu prüfen.

Proteinquantifizierungsmethoden

Zur Quantifizierung des Proteingehalts der Eluate können verschiedene etablierte Methoden angewendet werden. Dies sind z. B. die modifizierte ortho-Phthaldialdehyd (OPA)-Methode [10, 11]. Bei Anwendung der OPA-Methode ist darauf zu achten, dass die Kapazität des verwendeten Puffersystems nicht überschritten wird, da die zugrunde liegende Methode eine pH-Abhängigkeit aufweist. Mittels pH-Messstäbchen kann sehr einfach kontrolliert werden, ob der pH-Wert in der Färbelösung $pH = 9,3 \pm 0,2$ entspricht.

Als alternative Methode kann die Bicinchoninsäure (BCA)-Methode [7, 10] unter Verwendung eines Photometers angewendet werden. Die absolute Temperatur- und

Zeitabhängigkeit der Methode ist dabei zu beachten.

Bei Anwendung jeder dieser Methoden muss arbeitstäglich eine Kalibrierung mit definierten Proteinlösungen vorgenommen werden. Die Kalibrierung erfolgt mit Bezug auf das etablierte Modellprotein Bovines Serum Albumin (BSA, Fraktion V). Die Labore sind dazu angehalten, die verwendete Methode insbesondere hinsichtlich der Bestimmungsgrenze zu spezifizieren.

Berechnung des Restproteingehalts

Bei den Robotik-Instrumenten handelt es sich um komplex aufgebaute Instrumente, die aus einer großen Anzahl unterschiedlicher Materialien bestehen. In Ringversuchen der AG DaVinci wurden bei der Proteinquantifizierung von Eluaten teilweise erhebliche Einflüsse durch bislang nicht identifizierte interferierende Substanzen festgestellt.

Dokumentation der Ergebnisse

Zur Dokumentation der ermittelten Ergebnisse sind aufzuführen:

- Art des Instruments, Anzahl der vorhergehenden Anwendungen/Aufbereitungen
- Transport und/oder Lagerungsbedingungen (Temperatur, Dauer)
- Ergebnisse der visuellen Abmusterung auf Restanschmutzungen
- Angaben zur visuellen Prüfung auf Trübung
- Art der Prüfung (Typ I/II)
- Verwendete und laborintern spezifizierte Proteinquantifizierungsmethode
- Ermittelte Restproteingehalte
 - Für Typ-I-Testung: Gesamtprotein-gehalt für distales Arbeitsende plus Schaft
 - Für Typ-II-Testung: Proteingehalt für distales Arbeitsende und Schaft

Wird die Untersuchung in externen Laboren durchgeführt, ist es erforderlich, dass notwendige Informationen von den Betreibern der Robotik-Instrumente zur Verfügung gestellt werden.

Akzeptanzkriterien

Zur Evaluierung des Reinigungserfolgs wird eine Quantifizierung der vorhandenen Restanschmutzungen nach oben beschriebener Methodik durchgeführt. Die Bewertung erfolgt anhand von Akzeptanzkriterien, für die zwei Parameter herangezogen werden:

- Freiheit von visuell erkennbaren Restanschmutzungen auf allen äußeren Oberflächen unter optischer Vergrößerung
- Flächenbezogener maximaler Restproteingehalt ermittelt durch Elution und Proteinquantifizierung relevanter kritischer Instrumentenflächen

Die Bestimmung des Restproteingehalts von Robotik-Instrumenten ist bezogen auf das Modellprotein Bovines Serum Albumin, BSA Fraktion V, das zur Kalibrierung der Quantifizierungsmethoden eingesetzt wird.

Bei der Proteinquantifizierung von Eluaten von neuen oder mit geringer Zyklenzahl aufbereiteten Robotik-Instrumenten wurden sowohl bei Anwendung der modifizierten OPA-Methode als auch bei der BCA-Methode Interferenzen festgestellt (siehe Kap. «Grundsätze der Untersuchung»). Diese durch bislang nicht identifizierte Substanzen verursachten Interferenzen führen bei photometrischer Bestimmung zu falsch-positiven Messresultaten. Eine Kompensation für diese variabel vorliegenden interferierenden Substanzen wird nicht vorgenommen. Hierdurch liegen die tatsächlichen Restproteinmengen der Eluate von untersuchten Instrumenten i.d.R. unterhalb des gemessenen Proteingehaltes.

Da jedoch die Wiederfindungsrate nach Elution künstlich angeschmutzter Instrumente meistens weniger als 100 % beträgt, muss angenommen werden, dass der ermittelte Restproteingehalt von Realinstrumenten i.d.R. unterhalb der tatsächlich vorhandenen Proteinmenge liegt. Eine Kompensation für die nicht quantitative Wiederfindung kann allerdings nicht vorgenommen werden, da für die Kontamination von Realinstrumenten keine spezifische Wiederfindungsrate ermittelt werden kann (Variabilität der Anschmutzung, unterschiedliche Lagerung bis zur Aufbereitung, Einfluss chemischer Bedingungen auf Proteine, etc.).

Es ist anzunehmen, dass sich die Überschätzung der Restproteinmenge durch falsch positive Signale und die Unterschätzung der Restproteinmenge durch die nicht quantitative Wiederfindung mindestens teilweise gegenseitig aufheben. Somit stellt die undifferenzierte Einbeziehung falsch-positiver Ergebnisanteile die bestmögliche Annäherung an den realen Restproteingehaltes bei Instrumenten der Robotik dar.

Tab. 1: Instrumentenoberflächen bei Maryland Bipolar Forceps

Maryland Bipolar Forceps (MBF) (Intuitive Surgical Inc., Sunnyvale, CA, USA)

Instrumentenbereich	Oberfläche
Distales Arbeitsende (äußere und innere Oberflächen des metallischen Funktionsteils inklusive etwa 2 cm Drahtseile/Kabel)	$\geq 27 \text{ cm}^2$
Schaftinnenfläche (Schaftlänge 42,5 cm, inklusive Drahtsteuerelemente, Kabel, Spülslsauch)	$\geq 266 \text{ cm}^2$
Anschmutzungsrelevante Schaftinnenfläche (6 cm des distalen Schaftbereichs mit Drahtsteuerelementen, Kabeln, 1,5 cm Spülslsauch)	$\geq 24 \text{ cm}^2$

Als Akzeptanzkriterium für die Sauberkeit der Robotik-Instrumente wurde ein flächenbezogener, maximaler Restprotein gehalt festgelegt. Bei diesem flächenbezogenen Ansatz wird berücksichtigt, dass sich aufzubereitende Medizinprodukte erheblich in ihrer Größe bzw. in ihrer Oberfläche unterscheiden. Gegenwärtig wird in der Arbeitsgruppe ISO TC 198 WG13 eine maximale Proteinmenge pro Flächeneinheit von 2 bis 6,4 µg/cm² diskutiert. Die Leitliniengruppen von DGKH, DGSV und AKI sind in Diskussion, sich bei den Leitlinien zur Validierung manueller wie auch maschineller Prozesse, auf einen Grenzwert von 3 µg/cm² zu einigen. Dieser Wert basiert auf der Bewertung von Ergebnissen der Leistungsprüfung bei Realinstrumenten in der Praxis, siehe [12], Seite 208 dieser Ausgabe. Dieser flächenbezogene Restprotein gehalt soll in der neuen Leitlinie für manuelle Aufbereitung wie auch in der überarbeiteten Leitlinie für maschinelle Prozesse aufgenommen werden [13, 14]. Beide Leitlinien sollen 2013 bzw. 2014 veröffentlicht werden. In Abhängigkeit von den zukünftigen technischen Entwicklungen wird der hier angegebene Grenzwert von 3 µg/cm² modifiziert bzw. reduziert werden können (Optimierungsgebot). Für die Angabe eines flächenbezogenen Akzeptanzwertes für Robotik-Instrumente ist folglich eine Bestimmung der relevanten Instrumentenoberfläche notwendig. Vom Hersteller der Robotik-Instrumente wurden folgende Angaben zur Verfügung gestellt, siehe Tab. 1.

Akzeptanzkriterien für Typ-I-Prüfung

Bei der Typ-I-Prüfung erfolgt eine Elution aller äußeren Oberflächen des distalen Arbeitsendes. Bei der nachfolgenden Elution des Schafates erfolgt eine Beprobung

der innenliegenden Oberflächen des distalen Funktionsteils zusammen mit der Oberfläche des gesamten Schaftinnenraums. Da im Schaftinnenraum insgesamt geringe Anschmutzungsmengen auftreten, die unmittelbar hinter dem Funktionsteil (Septum mit Silikonscheibe) vorliegen und durch die Bewegung der Drahtseile um etwa 1 cm nach oben/unten verteilt werden, beschränkt sich die zu bewertende kritische Fläche lediglich auf einen geringen Anteil der gesamten inneren Schaftoberfläche. Von der Arbeitsgruppe wurde im Konsens entschieden, lediglich 6 cm des distalen Schaftbereichs in die Berechnung des maximalen Proteingehalts einfließen zu lassen. Hierdurch wird vermieden, dass große, keiner Anschmutzung ausgesetzte und damit irrelevante Oberflächen in die Festlegung des Akzeptanzwertes eingehen. Die Einbeziehung unangeschmutzter Oberflächen würde zu einer fälschlichen Heraufsetzung des Akzeptanzwertes führen.

Maximaler Restprotein gehalt Typ-I-Prüfung

- Distales Arbeitsende und Schaftinnenvolumen: 155 µg

Diese Werte ergeben sich durch die bei der Elution erfassten kritischen Oberflächen: i) distales Arbeitsendes ($\geq 27 \text{ cm}^2$) und ii) 6 cm des distalen Schaftbereiches ($\geq 24 \text{ cm}^2$); der rechnerisch erhaltene Wert wurde um 2 µg aufgerundet.

Akzeptanzkriterien für Typ-II-Prüfung

Maximaler Restprotein gehalt Typ-II-Prüfung

- Distales Arbeitsende: 80 µg
- Schaftinnenraum: 75 µg

Bei dieser Prüfung werden prinzipiell dieselben Flächen wie bei der Typ-I-Prüfung, lediglich getrennt voneinander, beprobt. Die Akzeptanzkriterien werden für bei-

de beprobte Bereiche getrennt angegeben, um eine unzulässige Akkumulation an einer speziellen Beprobungsstelle auszuschließen. Die Werte ergeben sich aus der Fläche des distalen Funktionsteils ($\geq 27 \text{ cm}^2$) und des relevanten Schaftbereiches ($\geq 24 \text{ cm}^2$). Die Akzeptanzwerte wurden um jeweils 1 µg abgerundet und 3 µg aufgerundet.

Überschreitung der Akzeptanzkriterien

Werden die Akzeptanzwerte überschritten, muss eine sorgfältige Analyse der angewandten Aufbereitungsprozesse, der Instrumente und der Beprobung vorgenommen werden. Ein Überschreiten der Werte kann durch falsch-positive Messergebnisse bedingt sein. Solche Ergebnisse wiederum können insbesondere durch Rückstände bzw. Substanzen aus dem Herstellungsprozess sowie durch verwendete Pflegeöle, die mit photometrischen Messmethoden interferieren können, verursacht werden. In Ringversuchen wurde festgestellt, dass Eluate Trübungen aufweisen können, die eine photometrische Vermessung unmöglich machen. Zur Entfernung von interferierenden und/oder Trübung verursachenden Substanzen aus einem Eluat müssen Verfahren zur Abtrennung dieser Stoffe eingesetzt werden, die gegenwärtig noch nicht erarbeitet und etabliert sind. Zur detaillierten Untersuchung der Aufbereitungsprozesse und interferierender Einflüsse sollten ggf. Negativkontrollen (verfügbare, nur für Testzwecke verwendete Instrumente) eingesetzt werden. Da bei der Aufbereitung dieser komplexen Instrumente die manuelle Vorbehandlung einen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis nach der maschinellen Reinigung hat, sind Ausreißer bei den Proteinwerten häufiger zu erwarten als bei einfachen Instrumenten, die nur mit maschinellen Reinigungsprozessen aufbereitet werden. Die Variabilität der manuellen Vorbehandlung muss deshalb durch stringente Befolgung der Arbeitsanweisungen auf ein Minimum reduziert werden.

Wird in einem Einzelfall der Akzeptanzwert überschritten, sind nach Prüfung und ggf. Korrektur drei weitere Instrumente zu untersuchen, um zu bestätigen, dass es sich bei dem fraglichen Instrument tatsächlich um ein Ausreißerergebnis handelt hat.

Literatur siehe S. 207