

Hygienisch-mikrobiologische Überprüfung von flexiblen Endoskopen nach ihrer Aufbereitung



**Deutsche Gesellschaft
für Krankenhaushygiene**

Mitteilungen des Vorstands

Verantwortlich:

Prof. Dr. med. Axel Kramer (Präsident)
Prof. Dr. med. Martin Exner (Vize-Präsident)

Diese Empfehlung wird als Anlage in der noch nicht abgeschlossenen „Leitlinie von DGKH, DGSV, DEGEA und AKI für die Validierung maschineller Reinigungs- und Desinfektionsprozesse zur Aufbereitung thermolabiler Endoskope“ enthalten sein.

Folgende Gesellschaften bzw. Fachvertreter und -vertreterinnen sind an der Erstellung der Leitlinie beteiligt:

Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH), Deutsche Gesellschaft für Endoskopie-Assistenzpersonal (DEGEA), Deutsche Gesellschaft für Sterilgutversorgung e.V. (DGSV), Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselerkrankheiten (DGVS), Arbeitskreis Instrumentenaufbereitung (AKI), Arbeitskreis der Hersteller von Reinigungs-Desinfektionsgeräten (AK RDG), Endoskophersteller.

Autoren/innen dieser Leitlinie

Koordination: Ulrike Beilenhoff (DEGEA), Adelheid Jones (DGSV), Sigrid Krüger (DGKH), Verona Schmidt (AKI)

Mitarbeiter/innen: Ulrike Beilenhoff (DEGEA), Priv.-Doz. Dr. Holger Biering (AKI), Thomas Brümmer (Vertreter Endoskophersteller), Helmut Fromberger (AK RDG-Hersteller), Silke Jahnke (DEGEA), Adelheid Jones (DGSV), Prof. Dr. Michael Jung (DGVS), Dr. Birgit Kampf (Vertreterin Endoskophersteller), Sigrid Krüger (DGKH), Petra Labonte (AK RDG-Hersteller), Prof. Dr. Heike Martiny (DGKH), Verona Schmidt (AKI)

1. Allgemeine Hinweise

1.1 Einleitung

Derzeit werden keine einheitlichen und zudem teilweise ungeeignete Verfahren bei der hygienisch-mikrobiologischen Überprüfung von Endoskopen nach ihrer Aufbereitung angewendet. Dies führt zu teilweise fehlerhaften Befunden. Um diesem entgegen zu wirken, werden in dieser

Verfahrensanweisung die Erfahrungen der letzten Jahre berücksichtigt und es wird ein detailliertes Vorgehen zur Vereinheitlichung der Überprüfung vorgeschlagen.

Diese Verfahrensanweisung kann sowohl zur Routineüberprüfung aufbereiteter Endoskope als auch im Rahmen der Validierung (Leistungsqualifikation) angewendet werden.

2. Probeentnahmeplan für Routineuntersuchungen

Für jedes Endoskop muss ein Probeentnahmeplan erarbeitet werden, der die kritischen Stellen jeder Endoskopfamilie berücksichtigt.

2.1 Häufigkeit

Jedes verwendete Endoskop soll mindestens einmal pro Jahr hygienisch-mikrobiologisch untersucht werden (1).

Bei den routinemäßigen Überprüfungen der Endoskope muss von jeder in der Einrichtung verwendeten Endoskopfamilie jeweils mindestens ein Endoskop untersucht werden. Werden in der Einrichtung verschiedene Aufbereitungsverfahren (maschinell und/oder manuell) angewendet, so muss sicher gestellt sein, dass beide Aufbereitungsverfahren bei den Untersuchungen berücksichtigt werden. In Abhängigkeit von der Häufigkeit der Benutzung, der Qualität des Aufbereitungsprozesses und der Endoskopfamilie wird in einer Risikoanalyse die Frequenz der Routineprüfungen festgelegt. Diese kann zu einer Abweichung von der o. g. Empfehlung [1] führen.

2.2 Probenarten

Folgende Proben müssen bei jedem Endoskop genommen werden

**Deutsche Gesellschaft für
Krankenhaushygiene /
German Society of Hospital Hygiene**

Bleibtreustr. 12 a
10623 Berlin, Germany
Tel: +49 30 8855 1615
Fax: +49 30 8851 029

E-mail: info@krankenhaushygiene.de
Internet: www.krankenhaushygiene.de

- **Abstrichproben**
 - > vom distalen Ende
 - > aus der Albaranhebelnische (falls vorhanden)
 - > gegebenenfalls von besonders schwer zugänglichen Stellen, z. B. bei Endosonogeräten an den Ballonfixierungspunkten
 - **Flüssigkeitsproben**
 - > Durchspülproben aus jedem vorhandenen, durchspülbaren Kanal
- Anmerkung: Bei einer zusätzlichen Anwendung der „Schwämmchenmethode“ oder bei ähnlichen Verfahren ist sicher zu stellen, dass das Schwämmchen (sterilisiert!) oder ähnliches nicht im Kanal verbleiben kann.*
- > Wasserproben aus der Optikspülflasche

2.3 Neutralisation

Sowohl in den Endoskopkanälen als auch in der Optikspülflasche können Desinfektionsmittelrückstände bei unzureichender Aufbereitung verbleiben. Dies kann das Ergebnis der mikrobiologischen Überprüfung beeinflussen, da die Mikroorganismen dadurch eventuell nicht sicher nachgewiesen werden können.

Daher wird grundsätzlich empfohlen, die Durchspülflüssigkeiten und die Wasserproben in einem Röhrchen aufzufangen, das eine Neutralisationslösung enthält. Diese inaktiviert eventuell vorhandene Desinfektionsmittelrückstände.

Anmerkung: Die Zusammensetzung der Neutralisationslösung ist beim Hersteller des jeweiligen Desinfektionsmittels zu erfragen. Beim Herstellen der Neutralisationslösungskonzentration muss die Verdünnung durch die Menge der Durchspülflüssigkeit berücksichtigt werden.

Bei der Aufbereitung in Reinigungs-Desinfektionsgeräten, bei denen im Rahmen der Validierung nachgewiesen wurde, dass sich keine relevanten Desinfektionsmittelrückstände im Nachspülwasser befinden, kann auf die Verwendung von Neutralisationslösungen verzichtet werden.

Wird statt der Zugabe einer Neutralisationslösung zur Probe ein Hemmtest durchgeführt, muss durch eine validierte Methode gezeigt werden, dass alle relevanten Mikroorganismen erfasst werden können.

2.4 Untersuchungsverfahren

Den anzuwendenden Untersuchungsverfahren liegen die folgenden Prinzipien zu Grunde:

- **Abstrichproben**
Die Tupferabstriche werden sowohl direkt auf Nährböden ausgestrichen als auch in Bouillon angereichert. Beide Verfahren erlauben nur einen qualitativen Nachweis der vorhandenen Mikroorganismen.
- **Flüssigkeitsproben**
Ein festgelegtes Volumen der Durchspülprobe wird durch einen Membranfilter mit geeigneter Porengröße filtriert und auf einen geeigneten Nährboden gelegt. Parallel dazu kann noch ein direkter Ausstrich der Flüssigkeitsproben auf Selektivnährböden (s. 4.1) erfolgen. Nach anschließender Inkubation, Auszählung der Kolonien auf dem Filter und entsprechender Umrechnung erhält man die Anzahl der KBE pro Milliliter. Hierdurch erfolgt der quantitative Nachweis spezifischer Mikroorganismen.

Anmerkung: Die Anwendung des Gußplattenverfahrens wird nicht empfohlen, da hierbei das Wachstum aerober Bakterien wie z. B. Pseudomonas aeruginosa behindert wird und es dadurch zu falsch negativen Befunden kommen kann.

Das Anlegen einer Verdünnungsreihe bzw. eines Direktausstrich von z. B. 100 µl/Platte ist wegen der Herabsetzung der Nachweisgrenze nur dann angezeigt, wenn schon von vornherein mit einer erhöhten Koloniezahl gerechnet wird.

Tauchträger können nur dann verwendet werden, wenn ihre Nachweisgrenze den Anforderungen entspricht, d. h., sie müssen für den Nachweis von 1 KBE/ml geeignet sein [3].

3. Probenahme

Ein hygienisch einwandfreies Vorgehen erfordert in der Regel eine Probennahme durch zwei Personen.

Die Probennahme muss unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Eine Kontamination durch den/die Probennehmer/in muss ausgeschlossen werden. Dazu muss zu jeder Untersuchung/an jedem Untersuchungsort ein frischer, ungetragener Kittel oder eine entsprechende Einmalkleidung getragen werden. Ebenso ist die Durchführung der hygieni-

schen Händedesinfektion vor jeder Probennahme obligatorisch.

Das Endoskop wird für die Probennahme freihängend aufgehängt. Es empfiehlt sich, zuerst die Abstrichproben zu nehmen.

- **Abstrichprobe**
Der sterile Tupfer wird aseptisch mit steriler physiologischer (0,9 %iger) NaCl-Lösung befeuchtet. Die laut Probenentnahmeplan identifizierten kritischen Stellen werden mit je einem angefeuchteten Tupfer sorgfältig abgestrichen und anschließend in einem Transportmedium enthaltenden Röhrchen unverzüglich ins Labor verbracht.

- **Durchspülprobe**
Ca. 25 ml sterile physiologische (0,9 %iger) NaCl-Lösung werden mittels steriler Einmal-Spritze vorsichtig in den Endoskopkanal eingespritzt (vom proximalen zum distalen Ende). Von der am distalen Ende herauslaufenden Flüssigkeit werden 20 ml in einem sterilen Auffangröhrchen (gegebenenfalls mit 20 ml doppelt konzentrierter Neutralisationslösung) aufgefangen (Wenn das Auffangröhrchen z. B. 20 ml einer Neutralisationslösung enthält, muss diese Neutralisationslösung doppelt konzentriert sein.).
Für jeden Endoskopkanal sind eine neue sterile Einmal-Spritze und ein steriles Auffangröhrchen zu verwenden.

Anmerkung: Die Berührung des Auffangröhrchens mit dem Endoskop (auch innen) muss vermieden werden.

Zum Durchspülen der Kanäle ist es oft sinnvoll, Reinigungsadapter zu verwenden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Adapter ebenfalls vorher gereinigt und desinfiziert, ggf. sogar sterilisiert wurden, um mögliche Kontaminationen von dieser Seite ausschließen zu können.

Bei Vorlage von Neutralisationslösung werden beide Flüssigkeiten durch Schwenken vorsichtig miteinander vermischt.

- **Wasserprobe**
Mit einer sterilen Einmal-Spritze werden mindestens 20 ml Spülflüssigkeit aus dem Optikspülsystem über den zugehörigen Anschluss Schlauch entnommen, und in ein steriles Auffangröhrchen gegeben (Wenn das Auffangröhrchen z. B. 20 ml einer Neutralisationslösung enthält, muss diese Neutralisationslösung doppelt konzentriert sein).

– Probentransport

Nach der Entnahme müssen die Proben so schnell wie möglich ins Untersuchungslabor transportiert werden, so dass eine Weiterverarbeitung innerhalb von 24 Stunden nach Probenentnahme gewährleistet ist. Ist die Transportzeit bis zur Verarbeitung im Labor > 4 h, erfolgt der Transport gekühlt.

4. Probenverarbeitung

4.1 Abstrichproben

Jeder Abstrichtupfer wird unter Drehen in Schlangenlinien auf der Oberfläche einer Blutagar-Platte ausgestrichen.

- Anschließend wird jeder Abstrichtupfer zur Anreicherung in ein Röhrchen mit Nährmedium (z. B. Brain Heart Infusion (BHI)-Bouillon mit gegebenenfalls Neutralisationslösung) überführt und mit Hilfe eines Vortex-Rührers extrahiert.
- Sowohl die Blutagar-Platten als auch die Bouillon werden bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ aerob inkubiert.
- Die erste Ablesung erfolgt nach 24 Stunden. Das Ergebnis wird dokumentiert. Die zweite Ablesung erfolgt nach 44 ± 4 Stunden.
- Bei Wachstum auf Blutagar-Platten oder Trübung der Bouillon erfolgt eine weitergehende Differenzierung der Mikroorganismen durch Ausstrich auf Selektivnährböden.

Für folgende Mikroorganismen sollten folgende Selektivnährböden verwendet werden:

MacConkey-Agar für Enterobacteriaceae, Cetrimid-Agar für *Pseudomonas aeruginosa*, Baird-Parker-Agar für Staphylokokken, Selektiv-Elektiv-Agar für Streptokokken, Slanetz-Bartley-Agar oder Kanamycin-Esculin-Agar für Fäkalstreptokokken, Middlebrook-Agar für Mykobakterien, GVPC-Agar für Legionellen.

Die Bebrütung der Selektivnährböden erfolgt nach den Angaben des Herstellers.

Anmerkung: Der kulturelle Nachweis von Mykobakterien und Legionellen erfordert jeweils ein speziell auf diese Mikroorganismen ausgerichtetes Vorgehen, welches hier nicht detailliert darzustellen ist.

4.2 Flüssigkeitsproben

Je 10 ml der Flüssigkeitsproben (bei der Verwendung von Neutralisationsflüssigkeit entsprechend 20 ml) werden filtriert (Porengröße 0,2 μm) und anschließend wird der Filter auf eine Blutagar-Platte aufgelegt. Zusätzlich wird je 1 ml direkt auf verschiedenen Selektivnährböden ausgestrichen.

- Die Blutagar-Platten werden bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ aerob inkubiert.
- Die erste Ablesung erfolgt nach 24 Stunden. Das Ergebnis wird dokumentiert. Die zweite Ablesung erfolgt nach 44 ± 4 Stunden.

Für folgende Mikroorganismen sollten folgende Selektivnährböden verwendet werden:

MacConkey-Agar für Enterobacteriaceae, Cetrimid-Agar für *Pseudomonas aeruginosa*, Baird-Parker-Agar für Staphylokokken, Selektiv-Elektiv-Agar für Streptokokken, Slanetz-Bartley-Agar oder Kanamycin-Esculin-Agar für Fäkalstreptokokken, Middlebrook-Agar für Mykobakterien, GVPC-Agar für Legionellen.

Die Bebrütung der Selektivnährböden erfolgt nach den Angaben des Herstellers.

Anmerkung: Der kulturelle Nachweis von Mykobakterien und Legionellen erfordert jeweils ein speziell auf diese Mikroorganismen ausgerichtetes Vorgehen, welches hier nicht detailliert darzustellen ist.

5. Auswertung

5.1 Abstrichproben

Wenn die Anreicherung und der Ausstrich auf Blutagar-Platten kein Wachstum aufweisen, wird das Ergebnis als negativ pro Abstrich angegeben.

Bei Wachstum auf den Selektivnährböden werden die identifizierten Spezies im Untersuchungsbericht als positiv pro Abstrich dokumentiert.

5.2 Flüssigkeitsproben

Die auf den Blutagar-Platten (Membranfiltern) gewachsenen Mikroorganismen werden ausgezählt. Das Ergebnis wird in KBE/ml Probenvolumen angegeben.

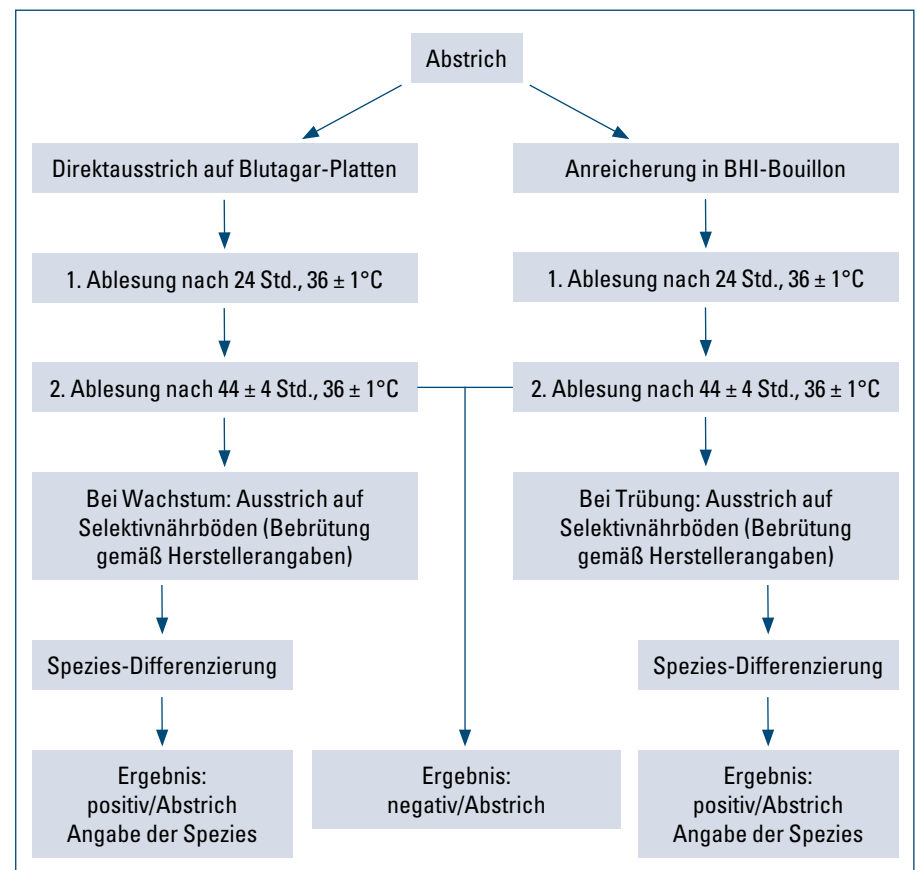


Abbildung 1: Hygienisch-mikrobiologische Kontrolle von Endoskopen – Untersuchungsschema für Abstrichproben.

5.2.1 Durchspülproben

Bei den Durchspülproben erfolgt eine Umrechnung auf KBE/Endoskopkanal.

Formel:

$$\frac{\text{KBE/Filter}}{\text{ml filtrierte Probe}} \times \text{ml Probenvolumen/Kanal} = \text{KBE/Endoskopkanal}$$

Beispiel:

5 KBE in 10 ml Probe bei 20 ml Probenvolumen ergibt 10 KBE pro Endoskopkanal.

ACHTUNG: Bei 0 KBE/ml ist das Ergebnis < 2 KBE/Endoskopkanal (Nachweisgrenze des Beispiels!).

Die Mikroorganismen auf den Selektivnährböden werden ebenfalls ausgezählt. Das Ergebnis wird in KBE/Platte (pro Spezies) angegeben.

Die KBE pro Endoskopkanal werden wie folgt berechnet:

Formel:

$$\text{KBE der Platte} \times \text{Faktor Neutralisation} \times \text{Probenvolumen in ml} = \text{KBE/Endoskopkanal}$$

Beispiel 1:

Mit Neutralisationsmedium bei 20 ml Probenvolumen:
 10 KBE/Platte \times 2 \times 20 ml = 400 KBE pro Endoskopkanal

ACHTUNG: Bei 0 KBE/Platte ist das Ergebnis < 40 KBE pro Endoskopkanal (Nachweisgrenze des Beispiels!).

Beispiel 2 :

Ohne Neutralisationsmedium bei 20 ml Probenvolumen:
 10 KBE/Platte \times 1 \times 20 ml = 200 KBE pro Endoskopkanal

ACHTUNG: Bei 0 KBE/Platte ist das Ergebnis < 20 KBE pro Endoskopkanal (Nachweisgrenze des Beispiels!).

5.2.2 Wasserproben

Bei den Wasserproben erfolgt eine Umrechnung auf KBE pro ml Optikspülsystemwasser.

Formel:

$$\frac{\text{KBE/Filter}}{\text{ml filtrierte Probe}} = \text{KBE/ml}$$

Beispiel:

5 KBE in 10 ml Probenvolumen ergibt 0,5 KBE pro ml Optikspülsystemwasser.

ACHTUNG: Bei 0 KBE/Filter ist das Ergebnis < 0,1 KBE pro ml Optikspülsystemwasser (Nachweisgrenze des Beispiels!).

Die Mikroorganismen auf den Selektivnährböden werden ebenfalls ausgezählt. Das Ergebnis wird in KBE/ml (pro Spezies) angegeben.

Die KBE/ml Optikspülsystemwasser werden wie folgt berechnet:

Formel:

$$\text{KBE der Platte} \times \text{Faktor Neutralisation} = \text{KBE/ml Optikspülsystemwasser}$$

Beispiel 1:

Mit Neutralisationsmedium bei 10 ml Probenvolumen:
 10 KBE/Platte \times 2 = 20 KBE pro ml Optikspülsystemwasser

ACHTUNG: Bei 0 KBE/Platte ist das Ergebnis < 2 KBE pro ml Optikspülsystemwasser (Nachweisgrenze des Beispiels!).

Beispiel 2:

Ohne Neutralisationsmedium bei 10 ml Probenvolumen:
 10 KBE/Platte \times 1 = 10 KBE pro ml Optikspülsystemwasser

ACHTUNG: Bei 0 KBE/Platte ist das Ergebnis < 1 KBE pro ml Optikspülsystemwasser (Nachweisgrenze des Beispiels!).

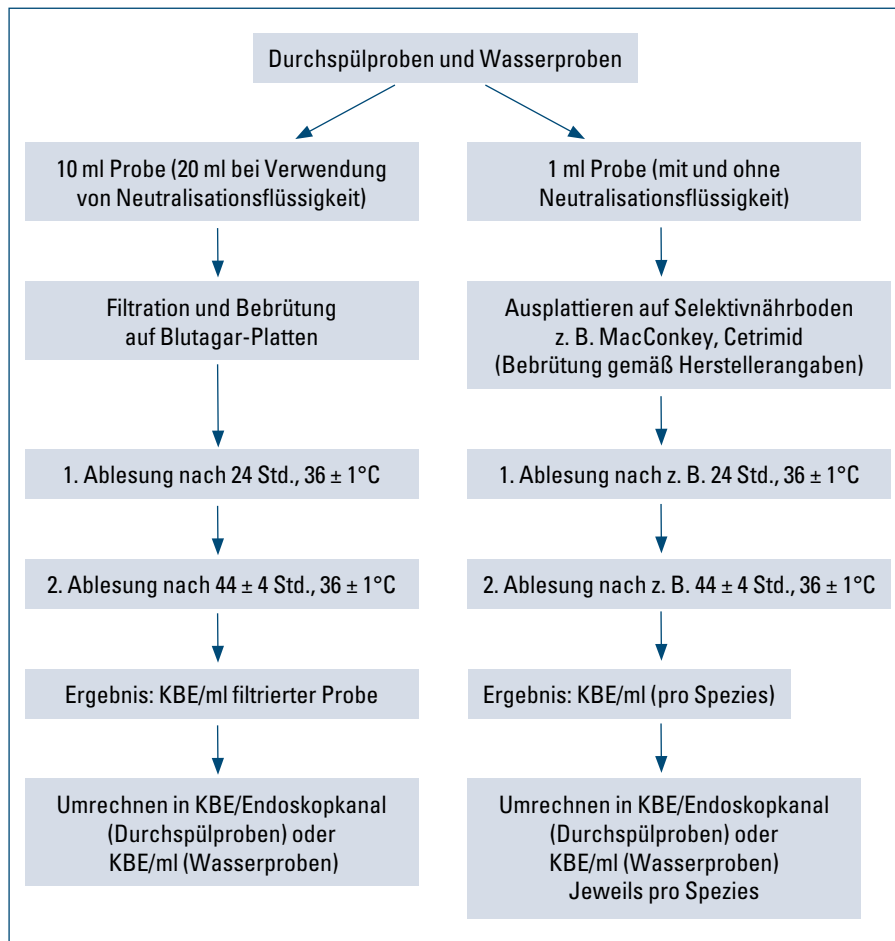


Abbildung 2: Hygienisch-mikrobiologische Kontrolle von Endoskopen – Untersuchungsschema für Flüssigkeitsproben.

6. Befundauswertung

6.1 Anforderungen an eine ordnungsgemäße Aufbereitung ist erfolgt, wenn

- Als Richtwert der zulässigen Koloniezahl gilt ≤ 20 KBE pro Kanal (≤ 1 KBE/ml Durchspülprobe bei 20 ml Probenvolumen)
- Folgende Mikroorganismen dürfen dabei nicht nachweisbar sein:
 - > *Escherichia coli*, andere Enterobakterien und Enterokokken,
 - > *Pseudomonas aeruginosa* und andere Pseudomonaden, Nonfermenter,
 - > Nosokomiale Infektionserreger wie *Staphylococcus aureus*,
 - > Mykobakterien und Legionellen (gemäß Risikoanalyse),
 - > vergrünende Streptokokken: bei Endoskopen, die zur Untersuchung in mikrobiell nicht besiedelten Bereichen des oberen Gastrointestinaltraktes oder Respirationstraktes verwendet werden (z. B. Bronchoskope, Seitenblickduodenoskope zur ERCP) (gemäß Risikoanalyse)).

Anmerkung: Bei Koloskop-Untersuchungen im Rahmen der Koloskopievereinbarungen sind die jeweiligen Empfehlungen der Kassenärztlichen Vereinigungen zu beachten.

6.2 Interpretation bei positiven Ergebnissen

Das Wachstum von bestimmten Mikroorganismen weist auf verschiedene mögliche Fehlerquellen hin [1,2]:

Aufbereitung

- Nachweis von *Escherichia coli*, anderen Enterobakterien und Enterokokken (Fäkal-Mikroorganismen): Indikatoren für eine mangelhafte Reinigung und/oder Desinfektion
- Nachweis von vergrünenden Streptokokken (Rachenflora): Indikatoren für eine mangelhafte Reinigung und/oder Desinfektion
- Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* und anderen Pseudomonaden oder Nonfermentern (Wasser-Mikroorganismen): Indikatoren für eine mangelhafte Qualität des Schlusspülwassers

Probenahme

- Nachweis von hygienerlevanten Erregern wie *Staphylococcus aureus* oder *Staphylococcus epidermidis* (Haut- und Umgebungs-Mikroorganismen): Indikatoren für z. B. eine Endoskopkontamination nach Aufbereitung bei mangelhafter Lagerung und/oder unzureichender Händehygiene des Personals.

Hinweis

- Veränderungen am Endoskop (z. B. Alterung, Schäden) können ebenfalls zum Nachweis von Mikroorganismen bei der Überprüfung führen, obwohl der Prozess selber innerhalb der bei der Validierung festgelegten Parameter liegt.

7. Literatur

1. RKI-Empfehlung „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung flexibler Endoskope und endoskopischen Zusatzinstrumentariums“ im Internet unter (www.rki.de) - Infektionsschutz - Krankenhaushygiene - Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene
2. ESGE-ESGENA guideline for quality assurance in reprocessing: Microbiological surveillance testing in endoscopy. *Endoscopy* 2007; 39: 175–181.
3. Kircheis U, B Kampf, R Gerstenberger, H Martiny: Bewertung von verschiedenen Schnelltests (Dipslides) zur Überprüfung des Aufbereitungserfolges bei flexiblen Endoskopen. *HygMed* 2007; 32: 382–388.