

Automatisierter Flüssigkeitstransfer von SDS-Spülproben im Hochdurchsatz

Transfer von Eluaten für die quantitative Restproteinbestimmung mittels oPA-Methode

Einleitung

Chirurgische Instrumente, wie z. B. Skalpelle und Zangen, sind Medizinprodukte, die während ihres Lebenszyklus mehrfach an verschiedenen Patienten eingesetzt werden. Diese sind daher nach jedem Einsatz einer umfassenden Reinigung unter Verwendung von speziellen Instrumentenreinigern zu unterziehen, um Rückstände und Verunreinigungen sowie Mikroorganismen zu beseitigen. Erst nach einer zufriedenstellenden Reinigung können die Instrumente einer chemischen, thermischen oder chemo-thermischen Desinfektion unterzogen werden. Daran anschließend wird bei chirurgischinvasiven Instrumente ein Sterilisationsprozess durchgeführt.

Material und Methode

Im Zuge der Beurteilung dieser Prozesse, insbesondere der Reinigungsleistung, wie sie im Rahmen einer Validierung stattfindet, erfolgt die Überprüfung des Erfolgs der Reinigung von Instrumenten im medizinischen Bereich durch quantitative Nachweisverfahren für Proteinrückstände. Die Norm DIN EN ISO 15883-1, die KRINKO-BfArM-Empfehlung sowie die Leitlinie für die „Validierung und Routineüberwachung maschineller Reinigungs- und thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte“ der DGKH, DGSV und AKI von 2017 (5. Auflage) führt die oPA- und die BCA/Biuret-Methode als Nachweisverfahren auf.



Bild 1: Sterilisation von chirurgischinvasiven Instrumenten im Autoklaven

Integration der Liquid Handling Station in Labor-Prozesse

Die Valitech GmbH & Co.KG ist einer der führenden Anbieter für Validierungen im Bereich der Hygiene und Aufbereitung von Medizinprodukten in Arztpraxen und Krankenhäusern. Dabei bildet die Validierung von Aufbereitungsprozessen das Kerngeschäft. Unabdingbar ist dafür das firmeneigene Analyselabor. Die Proteinchemische Auswertung der im Rahmen von Validierungen gewonnenen Proben gehört neben der Herstellung von Prüfkörpern zu den Kernaufgaben des Labors.

Die Herausforderung bei der Anwendung des genannten Nachweisverfahrens besteht nun unter anderem in der zeitnahen Bearbeitung der Proben, welche im Zuge von Prozessvalidierungen gewonnen werden. Valitech hat daher die Analyse von Eluaten im Hochdurchsatz im firmeneigenen Analyselabor etabliert. Die Integration der Liquid Handling Station der Firma BRAND in die Labor-Prozesse von Valitech, dient daher in diesem Zusammenhang dem automatisierten Transfer von SDS-Spülproben (engl. sodium dodecyl sulfate).



Bild 2+3: Integration der Liquid Handling Station in die Prozessvalidierung bei Valitech GmbH & Co.KG



Bild 4: Standardisiert beschmutzte Prüfkörper (Crile-Klemmen) für den Einsatz im Zuge der Validierung.

Ergebnisse

Mit einer Probenzahl von ca. 3.500 Eluaten pro Woche, welche sowohl von Valitech-Mitarbeitern im Zuge von Prozessvalidierungen gewonnen wurden, als auch aus selbst durchgeführten Routineprüfungen medizinischer Einrichtungen stammen, sind hohe Anforderungen an das verwendete Labor-Equipment verbunden. So ist eine äußerst hohe Zuverlässigkeit der verwendeten Liquid Handling Station erforderlich. Nur dadurch ist die kontinuierliche und zeitnahe Bearbeitung der Proben möglich. Bei einer durchschnittlichen Betriebszeit von etwa 80 Stunden pro Monat entspricht die festgestellte Fehlerhäufigkeit mit < 1% vollständig den internen Anforderungen.

Durch das Fehlermanagement der Steuerungssoftware, können zudem extrem selten auftretende Fehler innerhalb kürzester Zeit, bei vollständiger Dokumentation, behoben werden.

Eine weitere entscheidende Anforderung ist die Präzision, mit der Proben transferiert werden. Im Zuge der Restproteinanalyse werden diese zur Steigerung der Ergebnissicherheit mehrfach pipettiert. Mit dem Einsatz der Liquid Handling Station wird eine hohe

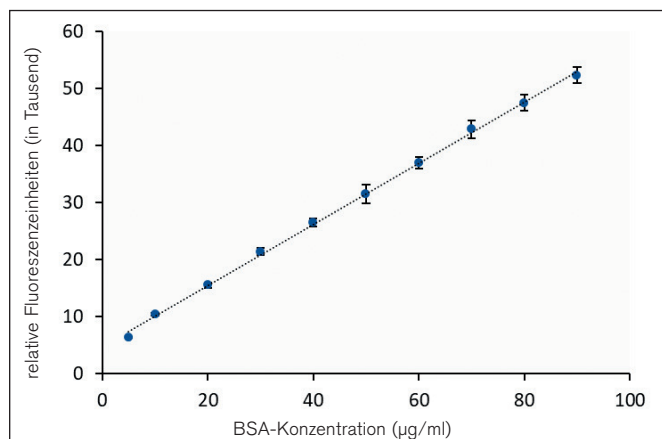


Abbildung 1: Exemplarische Darstellung der relativen Fluoreszenzeinheiten einer BSA (Bovines Serumalbumin) – Standardreihe. Aufgetragen sind die Mittelwerte inkl. Fehlerindikatoren der Konzentrationen von 5-90 µg/ml BSA (N = 7; R² = 0,999).

Übereinstimmung der Replikate sichergestellt. Abbildung 1 zeigt eine von Valitech verwendete BSA-Standardreihe (Bovines Serumalbumin), deren Konzentrationen (Tabelle 1) ausgehend aus einer Stammlösung (1mg/ml BSA) durch die LHS erstellt wurden. Die Verteilung der einzelnen Konzentrationen auf die eingesetzte Mikrotiterplatte, erfolgte ebenfalls durch die LHS. Die Streuung der einzelnen Replikate aller verwendeten BSA-Konzentrationen entspricht dabei stets den internen Präzisionsansprüchen. Mithilfe der intuitiven Steuerungssoftware, sind die dazu notwendigen Pipettierprogramme zudem schnell erstellt. Die LHS ist somit fester Bestandteil der Analyseprozesses von Valitech.

Pipettiertes BSA- Volumen (µl)	Pipettiertes SDS- Volumen (µl)	Zielkonzentration BSA (µg/ml)	\bar{X} rel. Fluoreszenz- einheiten	$\pm \sigma$ rel. Fluoreszenz- einheiten
50	950	5	6367	142
100	900	10	10422	271
200	800	20	15540	442
300	700	30	21433	643
400	600	40	26573	727
500	500	50	31566	1686
600	400	60	37027	1058
700	300	70	42874	1620
800	200	80	47543	1399
900	100	90	52376	1454

Tabelle.1: Volumina an BSA und SDS, welche für die Standardreihe durch die LHS pipettiert wurden. Dargestellt sind ebenfalls die Mittelwerte (\bar{X}) der gemessenen relativen Fluoreszenzeinheiten sowie die korrespondierende Standardabweichung (σ). N = 7.