

DR. JOCHEN STEINMANN

Direktor am Landesuntersuchungsamt
für Chemie, Hygiene und Veterinärmedizin
Fachbereich Med. Mikrobiologie und Hygiene

D-28205 Bremen
St.-Jürgen-Straße

Tel.: +49 (0)421 361-6119
Fax.: +49 (0)421 361-15666

19.05.2000
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

Hepatitis B-effectiveness of ENDO STAR by an antigen test

EXPERT'S INVESTIGATION REPORT AND SUMMARY

The instrument disinfectant ENDO STAR from the firm Laboratorium Dr. Deppe was investigated by means of an antigen test regarding its hepatitis B-virus inactivating properties. The tests were carried out with the volume ratios and protein contents as given in the guideline of the Bundesgesundheitsamt (Federal Board of Health) and the Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (German Society for the Control of Virus Diseases) for testing the effectiveness of chemical disinfectants. The measure for the HBV effectiveness in the antigen test is the destruction of the immunological reactivity of the hepatitis B-virus surface antigen (HBsAg). In this test a complete destruction was assumed if, after the exposure to the disinfectant, the radioactivity was lower than the values of the disinfectant controls multiplied with the factor 2.1.

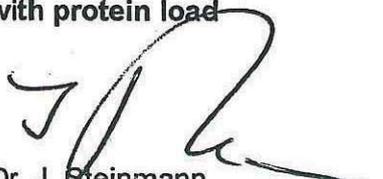
ENDO STAR was examined as a 1.0%, 2.0% and 3.0% solution. The application times were 5, 15, 30, 60 and 120 minutes. Summarizing the results of the antigen test, it can be recommended to use the instrument disinfectant ENDO STAR as follows:

without protein load

1.0 %	60 min.
2.0 %	15 min.
3.0 %	5 min.

with protein load

2.0 %	15 min.
3.0 %	5 min.


Dr. J. Steinmann

DR. JOCHEN STEINMANN

Landesuntersuchungsamt für Chemie,
Hygiene und Veterinärmedizin
Fachbereich Med. Mikrobiologie und Hygiene

28205 Bremen
St.-Jürgen-Straße

Tel.: (0421) 361-6119
Fax.: (0421) 361-15666

19.05.2000
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

Hepatitis B-Wirksamkeit von ENDO STAR im Antigentest

UNTERSUCHUNGSBERICHT

Die Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegenüber dem Hepatitis B-Virus (HBV) ist eine notwendige Untersuchung, da im Krankenhaus und in der ärztlichen und zahnärztlichen Praxis der Desinfektion von Flächen, Instrumenten, Händen und Wäsche eine große Bedeutung zur Unterbrechung von HBV-Infektketten zukommt. Die Evaluierung von Desinfektionsmitteln ist allerdings fast ausschließlich mit indirekten Methoden möglich, da in-vitro-Vermehrungssysteme für das HBV nicht existieren und da Schimpansenversuche nur in wenigen Ausnahmefällen durchführbar sind. Deshalb muß die Hepatitis B-Wirksamkeit mit einem indirekten Verfahren bestimmt werden.

Diese Untersuchungsmethoden erlauben Hinweise für eine inaktivierende Wirkung eines Desinfektionsmittels gegenüber dem HBV, doch muß bei Beurteilung der Ergebnisse beachtet werden, dass möglicherweise eine Restinfektiosität bestehen bleibt, die mit keinem der nachfolgend beschriebenen Verfahren ausgeschlossen werden kann. Bislang sind drei indirekte Methoden veröffentlicht worden:

1. Zerstörung des Oberflächenantigens (Hepatitis B surface Antigen = HBsAg)
2. Morphologischer Alterations- und Desintegrationstest (MADT)
3. Inaktivierung der HBV assoziierten DNS-Polymerase

Für die Untersuchungen mit dem Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR wurde die Zerstörung der Antigenität des HBsAg als indirekter Marker für die Hepatitis B-Wirksamkeit herangezogen.

1. Material und Methoden

1.1. Charakteristik des Präparates

Wirkstoffe laut Angabe	: QAV, Biguanide
(in 100 g Lösung)	
Aussehen des Präparates	: klare, farblose Flüssigkeit
Geruch des Präparates	: aromatisch
Chargennummer	: 26.04/04
pH-Wert der unverdünnten Lösung	: 6,98 (Glaselektrode)

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR wurde jeweils unmittelbar vor den Inaktivierungsversuchen mit sterilem Aqua bidest. auf die gewünschten Konzentrationen (1,0%, 2,0% und 3,0%) verdünnt.

1.2 Desinfektionsmittelversuche

Die Desinfektionsmittelversuche erfolgten im Suspensionsversuch bei Raumtemperatur, wobei die Volumenverhältnisse und die Eiweißbelastung entsprechend der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes (BGA) und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren vorgenommen wurden. Der Versuchsansatz bestand aus einem Teil eines HBsAg-haltigen Serums (HBsAg und HBeAg pos., DNS-Polymerase nachweisbar, HBV-PCR pos., Virus-Genome $\geq 10^8$ /ml), einem Teil Aqua bidest. bzw. einem Teil einer 2 %igen Serumalbuminlösung bzw. einem Teil foetalen Kälberserums (FKS) und acht Volumenteilen des zu prüfenden Desinfektionsmittels in der 1,25fachen der gewünschten Konzentration. Unmittelbar nach Ablauf der Einwirkzeit erfolgte eine 1 : 100 Verdünnung des Versuchsansatzes mit PBS, das 10% FKS enthielt, um die Wirkung des Desinfektionsmittels durch Verdünnung aufzuheben.

Anschließend wurde jeder Ansatz als Doppelbestimmung auf HBsAg in einem Radioimmunoassay (RIA) (Ausria II, Abbott Lab., North Chicago, Ill, USA) untersucht und der Mittelwert der Radioaktivität errechnet.

Folgende Kontrollen sind überdies mitgeführt worden. Ein Versuchsansatz, der Aqua bidest. anstelle des Desinfektionsmittels enthielt und der nach der längsten der geprüften Einwirkzeiten auf HBsAg untersucht wurde. Dieser Ansatz, der auch

mit Serumalbumin und FKS vorgenommen wurde, stellte die Ausgangswerte für die Berechnung der Abnahme des HBsAg dar. Ferner erfolgte ein Versuchsansatz ohne Viruszugabe (Desinfektionsmittel-Kontrollen) sowie ein Versuchsansatz ausschließlich mit dem Verdünnungsmittel um auf diese Weise durch einen Vergleich der Werte eine Unspezifität durch vorhandenes Desinfektionsmittel zu erkennen (siehe beiliegende Legende).

Auch sind positive und negative Kontrollen aus dem Testkit des Herstellers mitgeführt worden.

Entsprechend dem von Frösner beschriebenen Verfahren wurde dann von einer völligen Inaktivierung des HBsAg ausgegangen, wenn die Radioaktivität (cpm) nach Einwirkung des Desinfektionsmittels unter dem 2,1fachen der Radioaktivität (cpm) der Versuchsansätze ohne Viruszugabe lag. In diesen Versuchsansätzen handelte es sich um das Desinfektionsmittel versetzt mit Aqua bidest., Serumalbumin bzw. FKS, welches entsprechend der obigen Beschreibung anschließend 1 : 100 in PBS mit 10% FKS verdünnt worden war.

2. Ergebnisse

Die Darstellung der Untersuchungsergebnisse findet sich in den Tabellen 1 bis 3. Die Ausgangswerte betragen nach 120 Minuten im Ansatz mit Aqua bidest. 4175 cpm, im Ansatz mit Serumalbumin 5008 cpm sowie im Ansatz mit FKS 4945 cpm. Die Desinfektionsmittel-Kontrollen schwankten zwischen 105 cpm und 137 cpm. Aus diesen Werten errechneten sich die in den Tabellen angegebenen Grenzwerte (cut off's).

Eine Störung des Nachweisverfahrens durch vorhandenes Desinfektionsmittel war nicht zu erkennen, da die Ergebnisse der Desinfektionsmittel-Kontrollen im Bereich des Wertes des Verdünnungsmittels lagen (cpm = 154,0).

ENDO STAR wurde bei diesen Versuchen als 1,0%, 2,0% und 3,0 %ige Lösung untersucht. Die Einwirkzeiten betragen 5, 15, 30, 60 und 120 Minuten.

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR zeigte eine starke Wirkung auf die immunologische Reaktivität des HBsAg. Die 1,0 %ige Lösung reduzierte die initialen Counts (4175 cpm, 5008 cpm und 4945 cpm) nach 60 Minuten Einwirkzeit auf 117 cpm, 354 cpm und 393 cpm. Nach 120 Minuten betragen die Werte 76

cpm, 321 cpm und 340 cpm (Tabelle 1). Somit ergibt sich für die 1,0 %ige ENDO STAR-Lösung eine HBV-Wirksamkeit ohne Eiweißbelastung nach 60 Minuten.

Um auch eine Wirksamkeit in Gegenwart von Serumalbumin und FKS zu demonstrieren, wurde die Konzentration des Instrumentendesinfektionsmittels auf 2,0% erhöht. Die erhaltenen Daten finden sich in der Tabelle 2. Daraus ist ersichtlich, dass in allen drei Ansätzen eine Wirksamkeit nach 15 Minuten zu erzielen war. Die Counts betragen 115 cpm, 141 cpm und 139 cpm.

Eine Erhöhung der Konzentration auf 3,0% ergab eine weitere Verkürzung der Einwirkzeit (Tabelle 3). Nach fünf Minuten fanden sich Counts, die unter den Grenzwerten lagen. Sie betragen 132 cpm, 134 cpm und 153 cpm.

Zusammenfassend kann nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen im Antigentest empfohlen werden das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR zur HBV-Inaktivierung wie folgt einzusetzen:

ohne Eiweißbelastung

1,0 %	60 Minuten
2,0 %	15 Minuten
3,0 %	5 Minuten

mit Eiweißbelastung

2,0 %	15 Minuten
3,0 %	5 Minuten

Mit der weiteren Verbreitung von AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) ist wiederholt die Frage diskutiert worden, welche Stabilität das HIV (Human Immunodeficiency Virus) aufweist und mit welchen Maßnahmen eine Inaktivierung dieses Erregers erreicht werden kann. Mittlerweile existieren eine Reihe von experimentellen Studien, die die Inaktivierung von HIV durch chemische und physikalische Noxen behandeln. Diese Ergebnisse sind in einem Bericht der Kommission für Fragen der Virusdesinfektion in der Humanmedizin der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und des Bundesgesundheitsamtes (BGA) zusammengefaßt worden (Deutsches Ärzteblatt 84, Heft 18, S. B 874 vom 30.04.1987).

Darin wird zu diesem Fragenkomplex eindeutig Stellung bezogen. Der Schlußsatz dieses Artikels lautet: "Da Hepatitis B-Virus wie HIV übertragen wird, jedoch stabiler und infektiöser als HIV ist, sind alle Vorsichtsmaßnahmen gegen eine Übertragung von Hepatitis B auch präventiv gegen HIV".



Dr. J. Steinmann

Ausgewählte Literatur

1. Richtlinien des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren.
Bundesgesundheitsblatt 25, 1982, 397-398
2. Kommentar zur Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren.
Bundesgesundheitsblatt 26, 1983, 413-414
3. Deinhardt, F., K.-O. Habermehl, E. Kuwert und G. Spicher:
Stellungnahme zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegenüber dem Hepatitis B-Virus.
Bundesgesundheitsblatt 26, 1983, 222

Tabelle 1: Hepatitis B-inaktivierende Eigenschaften von ENDO STAR (1,0%) im Antigentest.

Dargestellt sind die cpm. Erläutert werden die Ansätze in der beiliegenden Legende.

Einwirkzeit (Minuten)	HBsAg- Kontrollen			Desinfektionsmittel- Kontrollen			Inaktivierungsansatz ENDO STAR (1,0%)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
5	-	-	-	-	-	-	n.d.	n.d.	n.d.
15	-	-	-	-	-	-	n.d.	n.d.	837
30	-	-	-	-	-	-	487	515	494
60	-	-	-	-	-	-	117	354	393
120	4175	5008	4945	118	120	117	76	321	340

Verdünnungsmittel-Kontrolle : 154,0

Untere Nachweisbarkeitsgrenze des HBsAg I : 247,8
in den einzelnen Ansätzen (cut off) II : 252,0
III : 245,7

n.d. = nicht durchgeführt

Tabelle 2: Hepatitis B-inaktivierende Eigenschaften von ENDO STAR (2,0%) im Antigentest.

Dargestellt sind die cpm. Erläutert werden die Ansätze in der beiliegenden Legende.

Einwirkzeit (Minuten)	HBsAg- Kontrollen			Desinfektionsmittel- Kontrollen			Inaktivierungsansatz ENDO STAR (2,0%)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
5	-	-	-	-	-	-	257	n.d.	n.d.
15	-	-	-	-	-	-	115	141	139
30	-	-	-	-	-	-	103	121	135
60	-	-	-	-	-	-	105	117	128
120	4175	5008	4945	105	120	113	109	98	126

Verdünnungsmittel-Kontrolle : 154,0

Untere Nachweisbarkeitsgrenze des HBsAg I : 220,5
in den einzelnen Ansätzen (cut off) II : 252,0
III : 237,3

n.d. = nicht durchgeführt

Tabelle 3: Hepatitis B-inaktivierende Eigenschaften von ENDO STAR (3,0%) im Antigentest.

Dargestellt sind die cpm. Erläutert werden die Ansätze in der beiliegenden Legende.

Einwirkzeit (Minuten)	HBsAg- Kontrollen			Desinfektionsmittel- Kontrollen			Inaktivierungsansatz ENDO STAR (3,0%)		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
5	-	-	-	-	-	-	132	134	153
15	-	-	-	-	-	-	121	119	141
30	-	-	-	-	-	-	n.d.	n.d.	n.d.
60	-	-	-	-	-	-	n.d.	n.d.	n.d.
120	4175	5008	4945	125	137	120	n.d.	n.d.	n.d.

Verdünnungsmittel-Kontrolle : 154,0

Untere Nachweisbarkeitsgrenze des HBsAg I : 262,5
in den einzelnen Ansätzen (cut off) II : 287,7
III : 252,0

n.d. = nicht durchgeführt

Erläuterung der Ansätze:

HBsAg-Kontrollen

- I Serum + Aqua bidest. + Aqua bidest.
- II Serum + 2% Albumin + Aqua bidest.
- III Serum + FKS + Aqua bidest.

Desinfektionsmittel-Kontrollen

- I Aqua bidest. + Aqua bidest. + Desinfektionsmittel
- II Aqua bidest. + 2% Albumin + Desinfektionsmittel
- III Aqua bidest. + FKS + Desinfektionsmittel

Verdünnungsmittel-Kontrolle

- I 10 %iges FKS in PBS

Inaktivierungsansatz

- I Serum + Aqua bidest. + Desinfektionsmittel
- II Serum + 2% Albumin + Desinfektionsmittel
- III Serum + FKS + Desinfektionsmittel

DR. JOCHEN STEINMANN

Direktor am Landesuntersuchungsamt
für Chemie, Hygiene und Veterinärmedizin
Fachbereich Med. Mikrobiologie und Hygiene

28205 Bremen
St.-Jürgen-Straße

Tel.: (0421) 361-6119
Fax.: (0421) 361-15666

19.05.2000
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

Hepatitis B-Wirksamkeit von ENDO STAR im Antigentest

GUTACHTERLICHE BEURTEILUNG UND ZUSAMMENFASSUNG

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR der Firma Laboratorium Dr. Deppe wurde gemäß Auftrag im Antigentest auf seine Hepatitis B-inaktivierenden Eigenschaften geprüft. Dabei ist die Prüfung hinsichtlich der Volumenverhältnisse und der Eiweißbelastung nach der "Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes (BGA) und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren" vorgenommen worden. Im Antigentest gilt als Maß für die HBV-Wirksamkeit die Zerstörung der immunologischen Reaktivität des Hepatitis B-Oberflächenantigens (HBsAg). Eine komplette Zerstörung wurde bei den hier beschriebenen Versuchen immer dann angenommen, wenn nach Einwirkung des Desinfektionsmittels die Radioaktivität unter dem 2,1fachen Wert der Desinfektionsmittel-Kontrollen lag.

ENDO STAR wurde bei diesen Versuchen als 1,0%, 2,0% und 3,0 %ige Lösung untersucht. Die Einwirkzeiten betragen 5, 15, 30, 60 und 120 Minuten.

Zusammenfassend kann nach den Ergebnissen im Antigentest empfohlen werden das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR zur HBV-Inaktivierung wie folgt einzusetzen:

ohne Eiweißbelastung

1,0 %	60 Minuten
2,0 %	15 Minuten
3,0 %	5 Minuten

mit Eiweißbelastung

2,0 %	15 Minuten
3,0 %	5 Minuten


Dr. J. Steinmann

Literatur

1. Arbeitskreis für Krankenhaushygiene: Hygienemaßnahmen bei der Endoskopie. Stand: 15.09.1988. Hyg. + Med. 13 (1988) 354 - 356
2. KOLLER, W. und E. LESSKY: Evaluierung eines automatischen Verfahrens zur Reinigung und chemothermischen Desinfektion flexibler Endoskope. Vortrag anlässlich des 10. Symposiums "Sterilisation - Desinfektion - Krankenhausreinigung", Wien, 1988
3. SCHÖN, K. und H.-P. WERNER: Die vollautomatische Reinigung und Desinfektion flexibler Endoskope. Hyg. + Med. 13 (1988) 309 - 312
4. WERNER, H.-P.: Infektionsrisiko durch flexible Endoskope. Hyg. + Med. 13 (1988) 306 - 308