

RIVM rapport 605148011/2003

**Bepalingsmethode voor aldehyde-residuen in  
flexibele endoscopen**

AW van Drongelen<sup>1</sup>, TJH Orzechowski<sup>1</sup>,  
ACP de Bruijn<sup>1</sup>, EA Hogendoorn<sup>2</sup>, C Wassenaar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Werkzaam bij het centrum voor Biologische Geneesmiddelen en Medische Technologie

<sup>2</sup> Werkzaam bij het Laboratorium voor Analytische Chemie

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie voor de Gezondheidszorg en de beleidsdirectie Geneesmiddelen en Medische Technologie van VWS, in het kader van project V/605148 “Onderzoek Medisch Technologische Producten”

## Abstract

The Dutch National Institute for Public Health and the Environment has developed a method for the extraction of formaldehyde and glutaraldehyde residues on flexible endoscopes and for the analysis of these extraction samples. This method was used on 38 gastroscopes in 13 hospitals to gain an insight into the amount of aldehyde residues on endoscopes used in daily routine.

The extraction of the distal end of endoscopes was performed at 40 °C in a jacketed glass tube using water as the extraction fluid. The aldehydes combined with the reagent DNPH, allowing these compounds to be separated and detected using HPLC techniques. The method is sensitive enough to detect and quantify residues of formaldehyde and glutaraldehyde found at the distal end of flexible endoscopes.

The maximum amounts of formaldehyde and glutaraldehyde on a gastroscope during this investigation came to  $11.0 \pm 4.4 \mu\text{g}$  and  $68.0 \pm 27.2 \mu\text{g}$ , respectively. There were significant differences between the amount of residual formaldehyde and glutaraldehyde on the endoscopes, depending on the hospital it came from. Moreover, there was a significant difference between amount of residual formaldehyde on endoscopes that had been disinfected using different disinfectants.

This method can be used for process development of endoscope washer-disinfectors, when there is doubt about the condition of an endoscope and to compare the levels of residual aldehydes when using different disinfectants.

## Voorwoord

De auteurs bedanken:

De directie en medewerkers van de betrokken ziekenhuizen voor de gastvrije ontvangst, de welwillende medewerking, de geboden praktische hulp van medewerkers en het gebruik van de endoscopen.

Fujinon Medical Holland B.V. voor het beschikbaar stellen van een endoscoop.

Maxxim Medical Europe B.V. voor het beschikbaar stellen van het desinfectans voor de validatie.

De firma Wassenburg & Co B.V. voor de gastvrije ontvangst, de welwillende medewerking en het gebruik van een endoscoopedesinfector.

De bij het onderzoek betrokken analisten van LAC, met name V.M. 't Hart-de Klein en E. Dijkman, voor hun inzet.

R. Hoogerbrugge (LAC) voor de statistische evaluatie van de resultaten.

G.W.M. Peters-Volleberg voor het reviewen van het manuscript.

# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1. Inleiding</b>	<b>6</b>
1.1 Achtergronden	6
1.2 Aanleiding voor het onderzoek	6
1.3 Reiniging- en desinfectieproces	7
1.4 Doelstelling	7
<b>2. Materialen en methode</b>	<b>8</b>
2.1 Opzet van het onderzoek	8
2.2 Extractie	8
2.2.1 <i>Extractiekolom</i>	8
2.2.2 <i>Extractiemethode</i>	9
2.2.3 <i>Validatie</i>	9
2.3 Analysemethode	10
2.4 Ziekenhuisbezoeken	10
2.5 Statistische evaluatie resultaten	10
<b>3. Resultaten</b>	<b>12</b>
3.1 Validatie extractiemethode en pilot-ondezoek	12
3.1.1 <i>Concentraties</i>	12
3.1.2 <i>Temperatuurmetingen</i>	12
3.2 Extractie in ziekenhuizen	13
3.2.1 <i>Concentraties</i>	13
3.2.2 <i>Meetonzekerheid</i>	16
3.2.3 <i>Significantie verschillen</i>	17
<b>4. Discussie, conclusie en aanbevelingen</b>	<b>18</b>
4.1 Discussie	18
4.1.1 <i>Validatie extractiemethode en pilot-ondezoek</i>	18
4.1.2 <i>Extractie- en analysemethode</i>	18
4.1.3 <i>Extractie in ziekenhuizen</i>	19
4.2 Conclusies	21
4.3 Aanbevelingen/vervolgonderzoek	21
<b>Literatuur</b>	<b>22</b>
<b>Bijlage 1: Extractieprocedure</b>	<b>22</b>
<b>Bijlage 2: Details van de analysemethode</b>	<b>24</b>
<b>Bijlage 3: Resultaten extractieproeven in ziekenhuizen</b>	<b>26</b>

## Samenvatting

Het RIVM heeft een extractiemethode ontwikkeld voor de bepaling van formaldehyde- en glutaaraldehyderesiduen op flexibele endoscopen. De methode diende ter plaatse in een ziekenhuis en in korte tijd te kunnen worden uitgevoerd. Daarnaast is een analysemethode voor de verkregen extracten uitgewerkt. De ontwikkelde methode is in dertien ziekenhuizen toegepast om een inzicht te krijgen in de hoeveelheid extraheerbare aldehyden op endoscopen uit de dagelijkse praktijk.

Voor de extractie is een glazen buis, lengte 40 cm, met een verwarmingsmantel ontworpen, waarin de meest gangbare gastroscopen konden worden geëxtraheerd. Als extractievloeistof is water gekozen. Voor de analyse is gekozen voor een methode waarbij de aldehyden in de waterige monsters met het reagens DNPH worden gederivatiseerd, waarna de verbindingen middels vloeistofchromatografie konden worden gescheiden en aangetoond.

De combinatie van de extractiemethode en de analysemethode is gevoelig genoeg om formaldehyde- en glutaaraldehyderesiduen op het distale einde van endoscopen aan te tonen en te kwantificeren. Wanneer de extractie bij 37 °C gedurende 20 minuten plaatsvond, bleek de opbrengst ruim 90% te bedragen van de hoeveelheid die in drie stappen van 20 minuten kon worden geëxtraheerd. De gekozen extractiemethode was derhalve een goede middenweg tussen een hoge opbrengst en een korte extractietijd en bleek eenvoudig ter plekke uit te voeren.

In dertien ziekenhuizen zijn 38 gastroscopen geëxtraheerd. De maximale hoeveelheden formaldehyde en glutaaraldehyde per endoscoop bedroegen respectievelijk  $11,0 \pm 4,4$  µg en  $68,0 \pm 27,2$  µg. Gemiddeld per ziekenhuis is er minimaal  $1,0 \pm 0,6$  µg formaldehyde en  $1,5 \pm 1,0$  µg glutaaraldehyde op endoscopen aangetoond en maximaal  $9,0 \pm 5,4$  µg formaldehyde en  $44,0 \pm 28,6$  µg glutaaraldehyde. De minimale waarden worden hoofdzakelijk bepaald door de analysegrens van 0,02 µg/ml. De hoeveelheid formaldehyde en glutaaraldehyde op endoscopen in de bezochte ziekenhuizen loopt sterk uiteen en de verschillen tussen de hoeveelheden zijn statistisch significant. Mogelijke oorzaken voor deze aanzienlijke verschillen zijn het type, de staat en de leeftijd van de endoscopen, de tijd tussen desinfectie en extractie en de verschillende desinfectieprocessen in de ziekenhuizen. In de bezochte ziekenhuizen zijn vier verschillende desinfectantia aangetroffen. Per type desinfectans zijn gemiddelde waarden voor de hoeveelheden aldehyden berekend. Er zijn statistisch significante verschillen gevonden in de hoeveelheden geëxtraheerde formaldehyde tussen endoscopen die met verschillende desinfectantia waren gedesinfecteerd.

De ontwikkelde methode is geschikt om te worden toegepast bij de procesontwikkeling van endoscopendesinfectoren, bij twijfel over de staat van een endoscoop en om de hoeveelheden residuen bij toepassing van verschillende desinfectantia met elkaar te vergelijken. De methode kan door gebruikers niet worden toegepast om de naspoeling van een endoscopendesinfector te optimaliseren, omdat deze processtap in de desinfectieprogramma's is vastgelegd.

# 1. Inleiding

## 1.1 Achtergronden

In de ziekenhuizen wordt tegenwoordig steeds vaker gebruik gemaakt van flexibele endoscopen voor diagnostische en therapeutische doeleinden. Flexibele endoscopen worden met name toegepast bij verrichtingen in het maagdarmkanaal en de longen, maar ook in de urologie en de KNO-heelkunde worden ze gebruikt. In de eenvoudigste vorm is de endoscoop een lange buigzame kijker, waarin fiberbundels worden gebruikt voor de beeldvorming. In veel gevallen bevat de endoscoop ook kanalen waardoor onder andere lucht en water kunnen worden gevoerd. Sommige endoscopen bieden tevens de mogelijkheid om een biopsie te nemen. De laatste jaren hebben getoond dat de techniek van endoscopen steeds verder wordt ontwikkeld. Moderne endoscopen zijn vaak ingewikkelde instrumenten met een netwerk van kanalen, verbindingskanalen en diverse in- en uitgangen. Het ene uiteinde van de endoscoop wordt in de patiënt gebracht, terwijl het andere deel wordt aangesloten op de beeldvormende apparatuur en eventuele aansluitingen voor bijvoorbeeld lucht en water. Tussen beide uiteinden van een uitgebreide endoscoop bevindt zich een manipulatieblok, waarmee de endoscoop bediend kan worden en via welke eventueel een biopsie genomen kan worden.

Tijdens het gebruik kunnen flexibele endoscopen gecontamineerd raken met diverse ziekteverwekkers. Wanneer reiniging en desinfectie voor het hergebruik niet adequaat worden uitgevoerd kunnen kruisinfecties optreden (1-3). Wanneer flexibele endoscopen worden gebruikt voor het nemen van biopsies, kunnen als gevolg van onvoldoende reiniging en desinfectie ook (maligne) cellen en weefselresten achterblijven in de endoscoop. Dit kan leiden tot foutieve diagnoses bij de volgende patiënten. Vanwege de complexe structuur van flexibele endoscopen is het reinigen en desinfecteren van endoscopen niet eenvoudig. Gezien de thermolabele aard van de toegepaste materialen kunnen flexibele endoscopen bovendien niet worden geautoclaveerd. Na de introductie van de endoscopen werden ze in eerste instantie handmatig gereinigd en gedesinfecteerd. Dit bleek erg arbeidsintensief te zijn en de handmatige processen waren moeilijk te beheersen. In de loop van de jaren is er apparatuur ontwikkeld voor de reiniging en desinfectie van endoscopen. Deze apparatuur garandeert een hoger niveau van reproduceerbaarheid van de reinigings- en desinfectieprocessen dan de handmatige opwerking. De Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) is van mening dat handmatige opwerking van flexibele endoscopen niet meer moet plaatsvinden (4).

## 1.2 Aanleiding voor het onderzoek

Bij de desinfectie van flexibele endoscopen worden krachtige chemische desinfectantia gebruikt. Een nadeel van deze middelen is dat zij door de mantel van de endoscoop kunnen worden geabsorbeerd. Wanneer dit geabsorbeerde desinfectans weer vrijkomt in de patiënt kan dit schadelijke effecten geven. Zo meldde in 1996 een Nederlands ziekenhuis dat er bij tientallen patiënten na een colonoscopie colitis<sup>1</sup> was opgetreden. Vanwege een uitgebreid registratiesysteem was het ziekenhuis in staat na te gaan in welke endoscopiedesinfectator de gebruikte endoscopen waren gedesinfecteerd. Het bleek dat het probleem optrad nadat de fabrikant van de desinfectator de naspoeling van de endoscoop had aangepast (vanwege de verscherpte eisen die aan de drinkwateraansluiting werd gesteld, was de instroom van spoelwater verplaatst van onder- naar bovenaan de buis waar de endoscoop in hing). Naar aanleiding van dit incident heeft de fabrikant de machine aangepast en is ook een ander desinfectans toegepast (4). In de literatuur zijn meerdere gevallen van post-endoscopische colitis beschreven, die waarschijnlijk zijn veroorzaakt door residuen van desinfectans (5-8).

---

<sup>1</sup> Ontsteking van de dikke darm die gepaard kan gaan met buikpijn en diarree.

Hoewel het mechanisme voor het ontstaan van de colitis niet exact bekend is, is aannemelijk dat dit wordt bepaald door de hoeveelheid residueel desinfectans dat bij de scopie vrijkomt, de aard van het desinfectans en de gevoeligheid van de individuele patiënt. De eerste twee technische factoren kunnen gekwantificeerd worden, maar de laatste factor is minder eenvoudig te bepalen.

In de periode 1998/1999 heeft de IGZ onderzoek gedaan naar de reiniging en desinfectie van flexibele endoscopen in de Nederlandse ziekenhuizen. Eén van de aanleidingen voor dit onderzoek was het bovengenoemde probleem van post-endoscopische colitis. Het doel van het onderzoek was om “inzicht te krijgen in de vraag of bij de reiniging en desinfectie van flexibele endoscopen voldoende maatregelen zijn getroffen om de kwaliteit van de desinfectie te waarborgen en daarmee verantwoorde zorg mogelijk te maken”. Uit dit onderzoek bleek onder andere dat de werking van endoscopendesinfectoren niet werd gevalideerd (4).

Gezien het voorval met post-endoscopische colitis en de bevindingen tijdens de inspectieronde over de validatie van endoscopendesinfectoren heeft de IGZ het RIVM verzocht om een testmethode te ontwikkelen voor de bepaling van de concentratie van residuen desinfectans op de mantel van een flexibele endoscoop. In samenhang met dit onderzoek heeft de IGZ het RIVM ook verzocht een testmethode te ontwikkelen voor de reiniging van endoscopen. Dit onderzoek is gerapporteerd in een separaat RIVM-rapport (9).

### 1.3 Reiniging- en desinfectieproces

Het machinale proces voor de reiniging en desinfectie van flexibele endoscopen kan grofweg in de volgende stappen worden onderverdeeld:

- reinigingsfase;
- tussenspoeling;
- desinfectiefase;
- naspoeling.

In de eerste fase wordt de bevuiling van de endoscoop zoveel mogelijk verwijderd. De reiniging is onder andere noodzakelijk omdat achterblijvende bevuiling de effectiviteit van de desinfectiefase kan verminderen en om kruiscontaminatie van weefsels te voorkomen. De tussenspoeling na de reinigingsfase wordt toegepast om resten van de chemicaliën van de reinigingsfase te verwijderen, omdat deze een negatief effect kunnen hebben op de desinfectiefase. In de desinfectiefase worden alle delen van de endoscoop blootgesteld aan het vloeibare desinfectans. De momenteel meeste gebruikte desinfectantia zijn gebaseerd op een combinatie van glutaaraldehyde en formaldehyde of alleen glutaaraldehyde. De naspoeling wordt toegepast om de hoeveelheid residueel desinfectans te verminderen. De volgende parameters zullen naar verwachting invloed hebben op de hoeveelheid residueel desinfectans op de mantel van een endoscoop:

- het materiaal, de leeftijd, de afwerking en de staat van het buitenoppervlak van de endoscoop;
- de reinigings-, desinfectie- en spoelprocessen: aantal en duur van de diverse stappen en de temperatuur waarbij deze plaatsvinden;
- de samenstelling en concentratie van het desinfectans.

### 1.4 Doelstelling

Het doel van het onderzoek was het ontwikkelen van een extractiemethode voor glutaaraldehyde en formaldehyde die in korte tijd ter plaatse in de instelling is uit te voeren én het uitwerken van een analysemethode voor het extract. Een tweede doel van het onderzoek was het verkrijgen van inzicht in de hoeveelheid extraheerbare residuen op flexibele endoscopen uit de dagelijkse praktijk.

## 2. Materialen en methode

### 2.1 Opzet van het onderzoek

Het onderzoek is in verschillende delen opgesplitst.

In het eerste deel van het onderzoek werden de volgende stappen uitgevoerd:

- ontwerp van de extractiekolom;
- ontwikkeling en validatie van de extractiemethode;
- ontwikkeling van analysemethode.

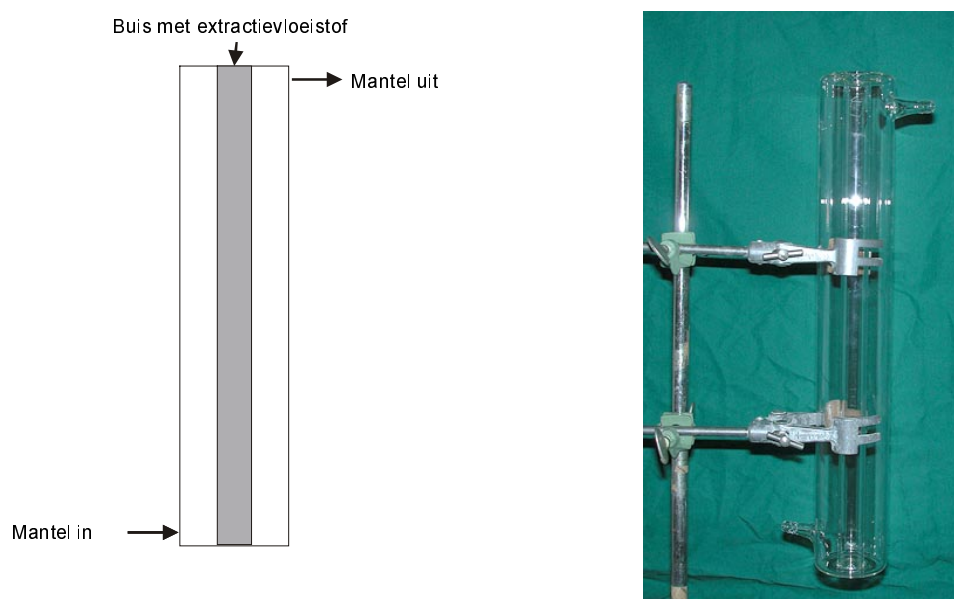
In het tweede deel van het onderzoek is de bruikbaarheid van de ontwikkelde methode middels een pilotonderzoek bij een fabrikant van endoscopendesinfectoren nader onderzocht. Na een evaluatie van de ervaringen bij de validatie en het pilotonderzoek is de methode in ziekenhuizen toegepast om de praktische toepasbaarheid verder te onderzoeken en een beeld te krijgen van de hoeveelheid residuen op endoscopen die in instellingen worden gebruikt.

In dit hoofdstuk worden verder de extractiekolom, de eerste opzet van de extractiemethode en het principe van de analysemethode beschreven.

### 2.2 Extractie

#### 2.2.1 Extractiekolom

De extractiekolom is uit glas vervaardigd om adsorptie van aldehyden in het materiaal van de extractiekolom te voorkomen. De meest eenvoudige vorm van een extractiekolom is een buis. Om extractie onder verhoogde temperatuur mogelijk te maken is besloten om deze glazen buis te voorzien van een mantel (zie figuur 1). Om de hoeveelheid te gebruiken extractievloeistof te beperken is gekozen voor een interne diameter van 18 mm voor de buis, waarin vrijwel alle moderne endoscopen passen. Om voldoende verwarmende capaciteit te hebben, rekening houdend met de hanteerbaarheid van de kolom, is gekozen voor een uitwendige diameter van 6 cm. Om het vervoer van de kolom te vereenvoudigen en de kans op breuk te beperken is besloten om de lengte te beperken tot 40 cm.



*Figuur 1: Schema van de extractiekolom en afbeelding van de gebruikte kolom.*



### 2.2.2 Extractiemethode

Eén van de uitgangspunten was dat de extractiemethode de omstandigheden in het lichaam zoveel mogelijk moest nabootsen.

Er is voor gekozen om water te gebruiken als extractievloeistof, omdat water ook in de met de endoscoop te onderzoeken lichaamsholten voorkomt en zowel glutaaraldehyde als formaldehyde goed oplossen in water. Bovendien zal het gebruik van water in plaats van een ‘exotisch’ extractiemiddel de toepassing van de methode in de ziekenhuizen vergemakkelijken. De extractie wordt bij verhoogde temperatuur (circa 37 °C) uitgevoerd, omdat een verhoogde temperatuur de extractie zal versnellen en een constante extractietemperatuur het vergelijken van resultaten vergemakkelijkt. Om de temperatuur van de extractie constant te kunnen houden is gebruik gemaakt van een waterbad (Thermo Haake C10). De extractietijd is beperkt tot 20 minuten, omdat dit ongeveer de maximale verblijfsduur is van een gastroscop in het lichaam tijdens een medisch onderzoek.

In bijlage 1 is de toegepaste extractieprocedure van een endoscoop opgenomen.

### 2.2.3 Validatie

Voor de validatie van de methode is gebruik gemaakt van een gastroscop. Het distale einde<sup>2</sup> van deze endoscoop is gedurende 10 minuten in een desinfectans gehangen, waarna de endoscoop is afgeveegd en ongeveer 35 cm van het distale einde is geëxtraheerd. Wanneer de endoscoop meerdere keren achtereenvolgend is geëxtraheerd, is deze tussendoor afgeveegd.

Om inzicht te krijgen in de opwarmingssnelheid van het systeem van waterbad en extractiekolom zijn temperatuurmetingen in de volgende situaties uitgevoerd:

1. opwarming van 50 ml extractievloeistof bij een start vanaf kamertemperatuur;
2. opwarming van 50 ml extractievloeistof (kamertemperatuur) in een opgewarmde extractiebuis;
3. opwarming van 50 ml ijswater in een opgewarmde extractiebuis;
4. opwarming van de mantel van een gastroscop (kamertemperatuur) in 50 ml opgewarmde extractievloeistof;
5. idem als 4, echter met een starttemperatuur van de endoscoop van 1°C.

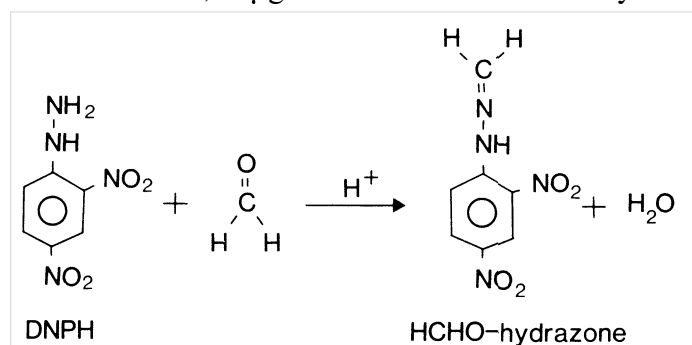
---

<sup>2</sup> Het uiteinde van de endoscoop dat de patiënt ingaat.

## 2.3 Analysemethode

Dit onderdeel van het onderzoek is uitgevoerd door het Laboratorium voor Analytische Chemie (LAC) van het RIVM. De toegepaste methode is ontwikkeld voor de analyse van formaldehyde en glutaraaldehyde in waterige extracten.

Zowel formaldehyde als glutaraaldehyde zijn reactieve polaire (hydrofiele) verbindingen. De methode is erop gericht om deze aldehyden om te zetten naar meer stabiele en minder polaire producten. Voor dit onderzoek is de reactie met dinitrophenylhydrazine (DNPH) toegepast. Deze methode wordt veelvuldig toegepast voor sporenanalyse van aldehyden in luchtmonsters. In een mengsel van water-acetonitril (60:40; v/v) verloopt deze reactie snel waarbij onder afsplitsing van water de overeenkomstige aldehyde-DNPH-derivaten worden gevormd (figuur 2). Bovendien absorberen deze reactieproducten licht bij een relatief hoge golflengte. Dit maakt gevoelige en selectieve analyse van de aldehyde-DNPH-derivaten mogelijk. Reversed-phase vloeistofchromatografie (RPLC) is als scheidingstechniek toegepast met UV-detectie (360 nm). De toegepaste analytische procedure was qua uitvoering eenvoudig en vereiste slechts een beperkt aantal handelingen. De detectielimiet van de methode was 0,02 µg/ml voor zowel formaldehyde als glutaraaldehyde.



Figuur 2: Reactie van DNPH met formaldehyde

Verdere details over de analysemethode zijn opgenomen in bijlage 2.

## 2.4 Ziekenhuisbezoeken

De ziekenhuisbezoeken voor dit onderzoek zijn gecombineerd met de bezoeken voor het onderzoek van de reinigingstest voor endoscopen (9), waarbij de nadruk op gastro-enterologie lag. Tijdens dat onderzoek zijn 18 instellingen bezocht, maar door omstandigheden, zoals tijdsdruk en beschikbaarheid, zijn in slechts veertien instellingen endoscopen geëxtraheerd. Om de gang van zaken op de bezochte afdelingen zo min mogelijk te verstoren zijn endoscopen die gereed waren voor gebruik geëxtraheerd. Gegevens over de aanwezige reinigings- en desinfectiemethode (merk en type machine, gebruikt desinfectans, werkingstemperatuur) zijn genoteerd. De bezochte ziekenhuizen gebruikten allen desinfectantia op basis van de te analyseren aldehyden.

De monsters werden dezelfde dag nog aangeleverd bij het LAC voor analyse. Voor een aantal monsters is de derivatiseringsreactie ook reeds in het ziekenhuis uitgevoerd, om na te gaan of de tijd tussen extractie en derivatisering aanleiding gaf tot vermindering van de aantoonbare hoeveelheden aldehyden.

## 2.5 Statistische evaluatie resultaten

Bij de berekening van de spreiding in de analyseresultaten is rekening gehouden met de herhaalbaarheid (duplo/triplo-bepaling van hetzelfde monster), binnenlabspreiding (de spreiding van de analysemethode binnen het laboratorium in de loop van de tijd, bepaald door

middel van recovery-experimenten) en de verschillende tijdstippen van derivatisering (zie ook bijlage 2).

Bij het bepalen van het gemiddelde van de hoeveelheid residuen per ziekenhuis en per desinfectans is de standaarddeviatie berekend. De standaarddeviatie werd uitgedrukt als Relatieve StandaardDeviatie (RSD). De RSD is de standaarddeviatie gedeeld door het gemiddelde. Er is voor gekozen om de RSDs te middelen over de dertien ziekenhuizen en de vier desinfectantia, zodat er meer gegevens beschikbaar waren om inzicht in de spreiding te krijgen. De RSD per groep is berekend door de wortel uit het gemiddelde van de kwadraten van de RSDs uit de groep te trekken. De spreiding voor het gemiddelde per groep is berekend door de RSD te vermenigvuldigen met een factor 2 (95 % betrouwbaarheidsinterval) en te delen door de wortel uit het aantal endoscopen per ziekenhuis of het aantal ziekenhuizen per desinfectans. De spreiding binnen een set concentraties die (nagenoeg) allemaal onder de aantoonbaarheidsgrens lagen is niet meegenomen. Aangezien de spreiding tussen endoscopen in ziekenhuizen en tussen de desinfectiemethoden aanzienlijk groter was dan de spreiding in de analyseresultaten, is bij verdere berekeningen niet gecorrigeerd voor de spreiding in de analyseresultaten.

Om te toetsen of er significante verschillen zijn is gebruikt gemaakt van de niet-parametrische Kruskal-Wallis-toets. Bij deze toets wordt er gekeken of er in de populatie significante verschillen zijn zonder dat er een uitspraak wordt gedaan over welke subpopulaties het betreft. Het voordeel van een dergelijke toets is dat er geen aanname over de verdeling van de spreiding hoeft te worden gemaakt. In het algemeen zijn niet-parametrische toetsen minder gevoelig dan toetsen die bijvoorbeeld uitgaan van een normale verdeling. Indien de Kruskal-Wallis-toets een significant verschil aantoont zal dat bij een berekening uitgaande van een normale verdeling daarom ook het geval zijn. De berekeningen zijn uitgevoerd met de statistische toolbox van het computerprogramma Matlab. Bij de berekening wordt  $p$  (de kans dat resultaten niet significant van elkaar verschillen) bepaald. Wanneer deze kans kleiner is dan 0,05 is er een significant verschil (95% betrouwbaarheid).

## 3. Resultaten

### 3.1 Validatie extractiemethode en pilot-onderzoek

#### 3.1.1 Concentraties

Om na te gaan of de gekozen extractiemethode voldoet is een gastroscoop, na 10 minuten in een desinfectans ondergedompeld te zijn geweest, verscheidene malen geëxtraheerd. Deze extractiestappen zijn zowel bij kamertemperatuur als bij 37 °C uitgevoerd. Het toegepaste desinfectans bevatte volgens het etiket 5 g formaldehyde en 2,5 g glutaaraldehyde per liter gebruiksooplossing. Bovendien is bij een leverancier van endoscopendesinfectoren deze gastroscoop geëxtraheerd na een keer in een endoscopendesinfector te zijn opgewerkt. In tabel 1 zijn de analyseresultaten weergegeven.

Tabel 1: Concentraties (µg/ml) tijdens het validatie -en pilotonderzoek

Monster	Formaldehyde <sup>1</sup>	Glutaaraldehyde <sup>1</sup>
<i>Laboratoriumextractie bij kamertemperatuur</i>		
HPLC-water	0,02	0,02
1° extract	8,4	4,1
2° extract	0,42 (20)	0,17 (24)
3° extract	0,20 (2)	0,05 (3)
<i>Laboratoriumextractie bij 37 °C</i>		
HPLC-water	0,02	0,02
1° extract	11,0	8,8
2° extract	0,43 (26)	0,34 (26)
3° extract	0,08 (5)	0,06 (6)
4° extract	0,03	0,05
<i>Extractie bij leverancier (bij kamertemperatuur)</i>		
Extract	0,03	0,02

<sup>1</sup> De reductiefactoren t.o.v. voorgaande stap staan tussen haken.

Uit tabel 1 blijkt dat na éénmaal extraheren (20 minuten) ruim 90% van de totale hoeveelheid aldehyden, die in drie of vier extractiestappen geëxtraheerd kon worden, is geëxtraheerd. Bovendien verloopt de extractie bij 37 °C beter dan bij kamertemperatuur. Zo is de concentratie in het eerste extract bij verhoogde temperatuur hoger en zijn ook de reductiefactoren in de daaropvolgende stappen ook hoger. Extractie bij verhoogde temperatuur verdient daarom de voorkeur. De proef bij een leverancier is door omstandigheden bij kamertemperatuur uitgevoerd en geeft een indicatie van de te verwachten concentraties van machinaal gedesinfecteerde endoscopen. Uit praktische overwegingen is besloten om het waterbad in het vervolg van het onderzoek op 40 °C in te stellen.

#### 3.1.2 Temperatuurmetingen

In tabel 2 zijn de resultaten van de temperatuurmetingen aan de combinatie waterbad en extractiekolom weergegeven (zie § 2.2.3). Hierbij is de opwarmtijd gedefinieerd als de tijd die nodig is om een temperatuur van 37 °C te bereiken in de vloeistof of op de mantel van de endoscoop. Het waterbad stond ingesteld op 40 °C.

*Tabel 2: Opwarmtijden (min) van de combinatie waterbad en extractiekolom*

Beschrijving	Opwarmtijd
1. Opwarming van 50 ml extractievloeistof bij een koude start	7
2. Opwarming van 50 ml extractievloeistof in een opgewarmde extractiebuis	3
3. Opwarming van 50 ml ijswater in een opgewarmde extractiebuis	5
4. Opwarming van de mantel van een gastroscoop in 50 ml warme extractievloeistof*	1
5. Idem als 4, starttemperatuur van gastroscoop van 1°C i.p.v. kamertemperatuur*	2

\* Tijdens de extractietijd liep de temperatuur van de mantel asymptotisch op naar 40 °C.

## 3.2 Extractie in ziekenhuizen

Naast de dertien ziekenhuizen waar gastroscopen zijn geëxtraheerd, zijn in één ziekenhuis bronchoscopen geëxtraheerd. In één ziekenhuis zijn twee endoscopen onderzocht en in de overige ziekenhuizen drie.

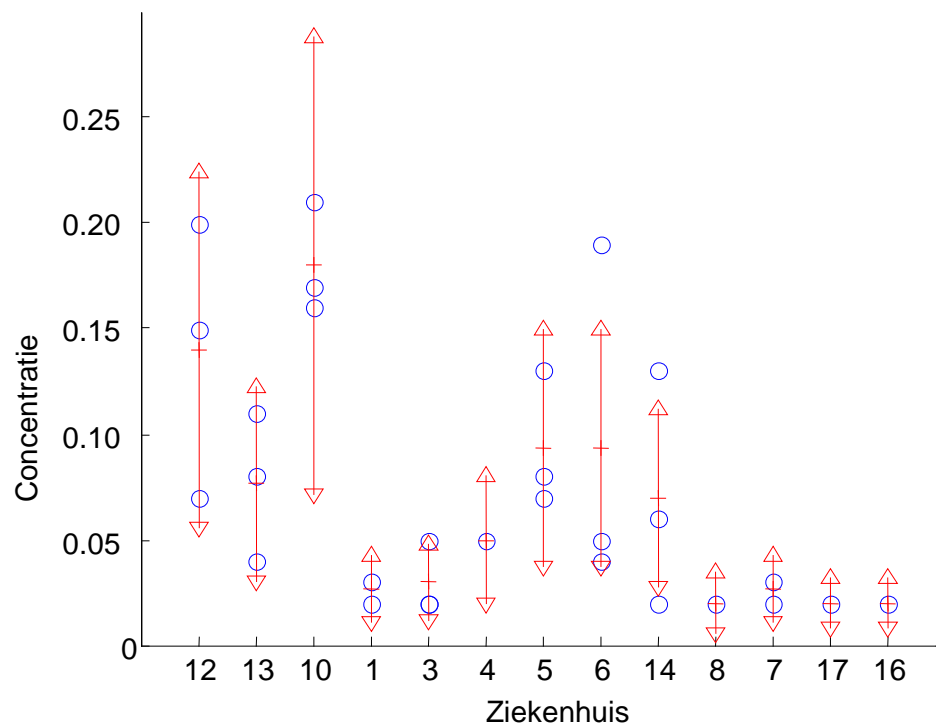
In de praktijk bleek de extractiemethode in het ziekenhuis eenvoudig uit te voeren en de benodigde apparatuur eenvoudig te hanteren en aan te sluiten. Het opzetten van de opstelling vergde weinig tijd en de extractie vergt per scoop in totaal ongeveer 30 minuten.

### 3.2.1 Concentraties

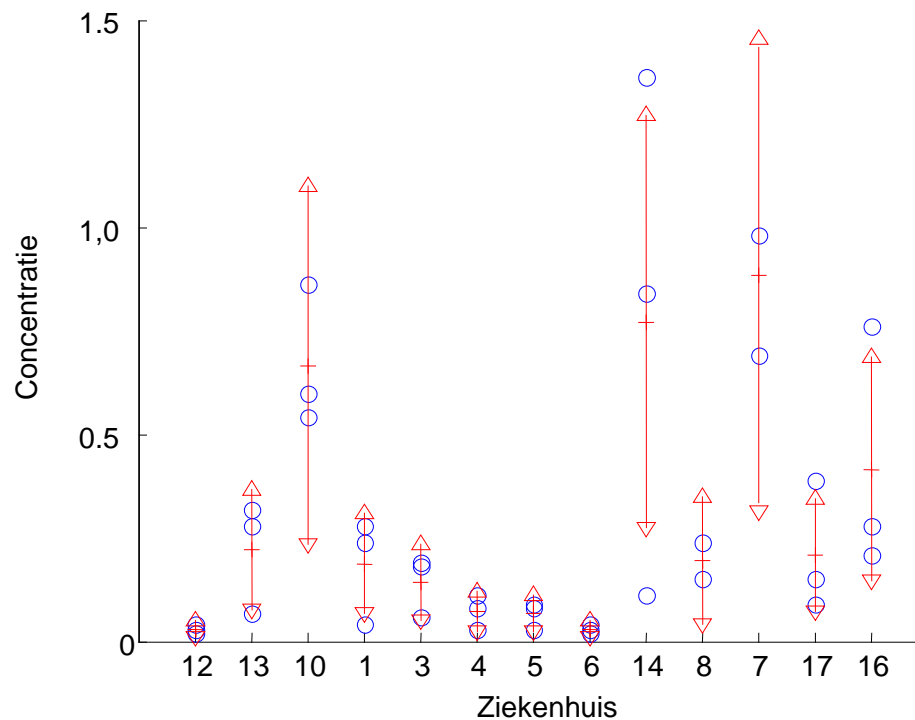
De volledige resultaten van de extractie van de residuen op flexibele endoscopen in de dertien ziekenhuizen waarin gastroscopen zijn geëxtraheerd zijn weergegeven in bijlage 3. Voor formaldehyde zijn concentraties van 0,02 – 0,21 µg/ml in de extractievloeistof aangetoond, met een gemiddelde van 0,07 µg/ml. Voor glutaaraldehyde bedroegen de waarden 0,02 – 1,36 µg/ml met een gemiddelde van 0,30 µg/ml. Wanneer de waarde onder de detectielimiet lag (0,02 µg/ml) is de aantoonbaarheidsgrens als waarde genomen.

Het gehalte formaldehyde en glutaaraldehyde was voor de bronchoscopen die in het onderzoek zijn geëxtraheerd onder de detectiegrens (< 0,02 µg/ml). Deze uitkomsten zijn niet meegenomen in de verdere verwerking van de resultaten.

In de figuren 3 en 4 zijn de resultaten grafisch weergegeven voor formaldehyde en glutaraaldehyde.

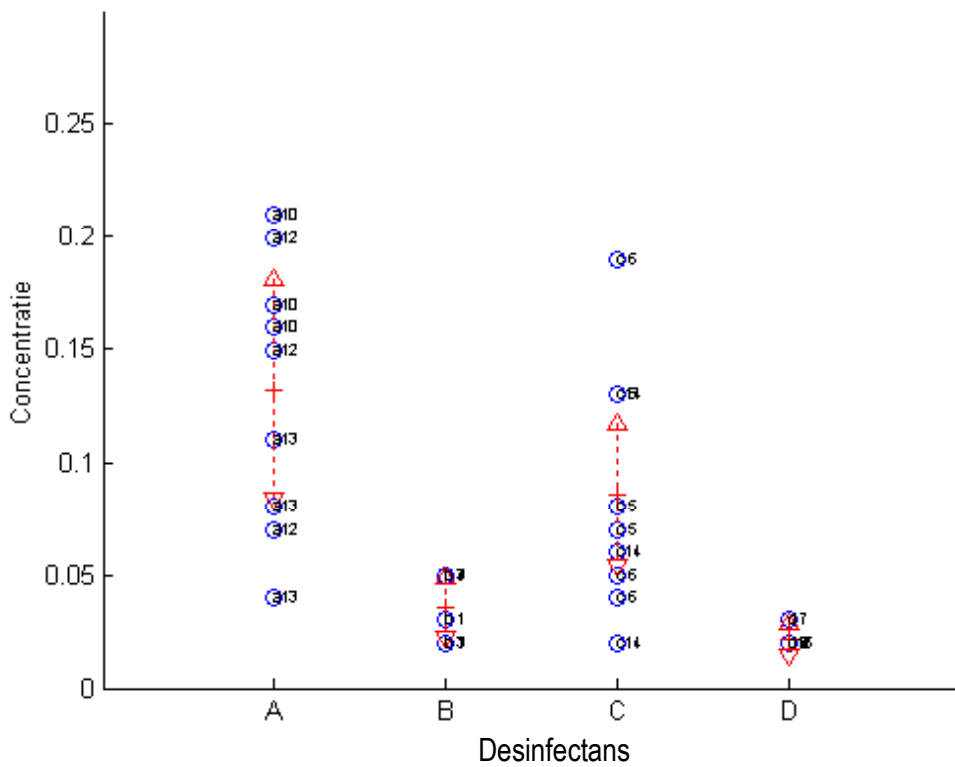


Figuur 3: Weergave van de resultaten voor formaldehyde ( $\mu\text{g/ml}$ ) per ziekenhuis (o: meetwaarde, +: gemiddelde,  $\leftarrow - \rightarrow$ : meetonzekerheid (95%-betrouwbaarheidsinterval)).

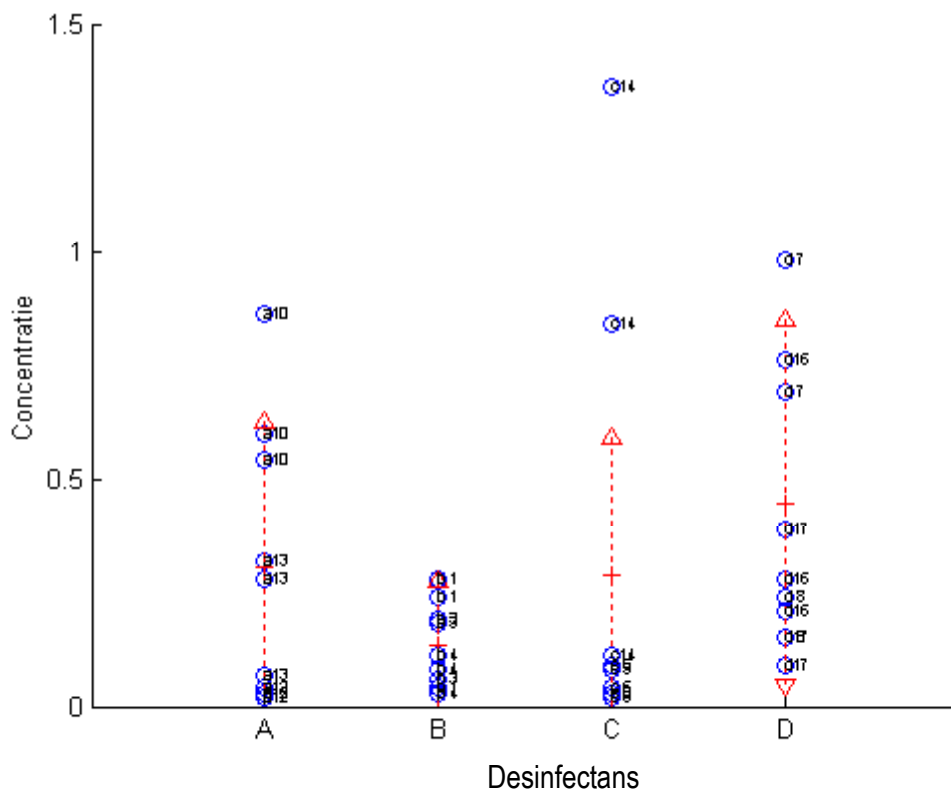


Figuur 4: Weergave van de resultaten voor glutaraaldehyde ( $\mu\text{g/ml}$ ) per ziekenhuis (o: meetwaarde, +: gemiddelde,  $\leftarrow - \rightarrow$ : meetonzekerheid (95%-betrouwbaarheidsinterval)).

In de figuren 5 en 6 zijn de resultaten per desinfectans grafisch weergegeven voor respectievelijk formaldehyde en glutaraaldehyde.



Figuur 5: Weergave van de resultaten voor formaldehyde ( $\mu\text{g/ml}$ ) per desinfectans (o: meetwaarde, +: gemiddelde,  $\leftarrow - \rightarrow$ : meetonzekerheid (95%-betrouwbaarheidsinterval)).



Figuur 6: Weergave van de resultaten voor glutaraaldehyde ( $\mu\text{g/ml}$ ) per desinfectans (o: meetwaarde, +: gemiddelde,  $\leftarrow - \rightarrow$ : meetonzekerheid (95%-betrouwbaarheidsinterval)).

Tabel 3 geeft een overzicht van de gemiddelde waarden voor de endoscopen in elk ziekenhuis en in de vier desinfectansgroepen, inclusief de meetonzekerheden (zie § 3.2.2). Deze gemiddelden zijn ook weergegeven in de figuren 3-6. Een bepaald desinfectans werd soms in verschillende machines toegepast, maar wel bij ongeveer gelijke temperaturen.

*Tabel 3: Gemiddelde concentraties aldehyden in de extracten van endoscopen in de bezochte ziekenhuizen (per ziekenhuis en per desinfectans)*

Desinfectans	Desinfectie temperatuur (°C)	Ziekenhuis	Gemiddeld per ziekenhuis		Gemiddeld per desinfectans	
			Formaldehyde (µg/ml)	Glutaaraldehyde (µg/ml)	Formaldehyde (µg/ml)	Glutaaraldehyde (µg/ml)
A	20	12	0,14 ± 0,08	0,03 ± 0,02		
A	20	13	0,08 ± 0,05	0,22 ± 0,14	0,13 ± 0,05	0,31 ± 0,32
A	20	10	0,18 ± 0,11	0,67 ± 0,44		
B	35	1	0,03 ± 0,02	0,19 ± 0,12		
B	35	3	0,03 ± 0,02	0,14 ± 0,09	0,04 ± 0,01	0,13 ± 0,14
B	35	4	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,05		
C	35	5	0,09 ± 0,05	0,07 ± 0,05		
C	30	6	0,09 ± 0,05	0,03 ± 0,02	0,09 ± 0,03	0,29 ± 0,30
C	41	14	0,07 ± 0,04	0,77 ± 0,50		
D	60	8	0,02 ± 0,01	0,20 ± 0,16		
D	62	7	0,03 ± 0,02	0,88 ± 0,57	0,02 ± 0,01	0,43 ± 0,39
D	60	17	0,02 ± 0,01	0,21 ± 0,14		
D	60	16	0,02 ± 0,01	0,42 ± 0,27		

### 3.2.2 Meetonzekerheid

Voor het gemeten concentratiegebied van formaldehyde (0,02-0,53 µg/ml) bedroeg de RSD 11%. Voor het gemeten concentratiegebied van glutaaraldehyde (0,02-1,36 µg/ml) bedroeg de RSD 18%. Voor de binnenlabspreiding bedroeg de RSD 18% voor zowel formaldehyde als glutaaraldehyde. Voor de monsters die in het ziekenhuis reeds waren gederivatiseerd bedroeg de RSD 7% voor formaldehyde en 12% voor glutaaraldehyde. Dit laatste geeft aan dat de spreiding in de metingen van monsters die ter plekke waren gederivatiseerd binnen de spreiding van de monsters die bij LAC waren gederivatiseerd vielen. Daarom zijn deze monsters beschouwd als extra meetpunten voor hetzelfde monster. De RSD voor de analyse (herhaalbaarheid, lange termijnspreiding en de verschillende tijdstippen van derivatisering) bedroeg maximaal 20% voor beide aldehyden. De bijhorende meetonzekerheid (95% betrouwbaarheidsinterval) bedroeg 40 %.

Voor de gemiddelden per ziekenhuis was de meetonzekerheid voor formaldehyde 60 % voor alle ziekenhuizen, behalve ziekenhuis 8. Voor dit ziekenhuis was de meetonzekerheid 74 %, omdat hier twee in plaats van drie endoscopen waren geëxtraheerd. Voor de gemiddelden per ziekenhuis was de meetonzekerheid voor glutaaraldehyde 65 % voor alle ziekenhuizen, behalve ziekenhuis 8. Voor dit ziekenhuis was de meetonzekerheid 79 %. Voor de gemiddelden per desinfectans was de meetonzekerheid voor formaldehyde 37 % voor alle desinfectantia, behalve desinfectans D. Voor dit desinfectans was de meetonzekerheid 32 %. Voor de gemiddelden per desinfectans was de meetonzekerheid voor glutaaraldehyde 104 % voor alle desinfectantia, behalve desinfectans D. Voor dit desinfectans was de meetonzekerheid 90 %. In de figuren 3-6 en tabel 3 zijn de meetonzekerheden ook aangegeven.



### **3.2.3 Significantie verschillen**

Er zijn significante verschillen tussen de ziekenhuizen met betrekking tot de geëxtraheerde hoeveelheden formaldehyde ( $p = 0,003$ ) en glutaaraldehyde ( $p = 0,005$ ). Wanneer de resultaten van de verschillende desinfectansgroepen met elkaar worden vergeleken blijkt dat er voor formaldehyde significante verschillen zijn tussen de toegepaste desinfectantia ( $p = 0,00001$ ), maar voor glutaaraldehyde niet ( $p = 0,07$ ).

## 4. Discussie, conclusie en aanbevelingen

### 4.1 Discussie

#### 4.1.1 Validatie extractiemethode en pilot-onderzoek

Uit de experimenten die tijdens de validatie zijn uitgevoerd blijkt dat de gekozen extractietijd van 20 minuten een goede middenweg is tussen een hoge opbrengst en een korte extractietijd. Wanneer de extractietijd zou worden verdrievoudigd (één ten opzichte van drie extractiestappen tijdens de validatie) zou de opbrengst minder dan 10% stijgen. De extractie bleek bij een hogere temperatuur aanzienlijk sneller te verlopen dan bij kamertemperatuur. De resultaten geven de indruk dat de extractie van glutaaraldehyde meer afhankelijk is van de temperatuur dan de extractie van formaldehyde. Overigens is de hoeveelheid geëxtraheerd glutaaraldehyde en formaldehyde in de derde extractie bij 37 °C lager dan of ongeveer gelijk aan de derde extractiestap bij kamertemperatuur. Dit wordt hoogstwaarschijnlijk veroorzaakt doordat bij de eerste twee extractiestappen bij 37 °C reeds zoveel is geëxtraheerd dat de opbrengst van de derde stap niet hoger kon worden. Een bijkomende voordeel van extractie bij verhoogde temperatuur ten opzichte van kamertemperatuur is dat de temperatuur constant wordt gehouden door middel van een waterbad, zodat resultaten beter kunnen worden vergeleken.

Uit de temperatuurmetingen aan het gebruikte systeem bleek dat de opwarming van de gebruikte combinatie waterbad en extractiekolom tot de werktemperatuur minder dan 10 minuten in beslag nam. De opwarming van een gastroscop, die op kamertemperatuur in de buis was gehangen, bleek ongeveer één minuut in beslag te nemen. Aangezien deze gastroscop relatief dik en zwaar was, gaf dit een 'worst-case' situatie weer. In relatie tot de extractietijd van 20 minuten wordt een opwarmtijd tot 37 °C van één minuut als acceptabel beschouwd.

#### 4.1.2 Extractie- en analysemethode

De concentraties in de extracten van endoscopen uit de dagelijkse praktijk waren in zijn algemeenheid hoog genoeg om te kunnen worden geanalyseerd met de ontwikkelde analysemethode.

De totale spreiding (95 %-betrouwbaarheidsinterval) in de resultaten van de analyse bedragen ongeveer 40% voor zowel formaldehyde als glutaaraldehyde. De methode is derhalve niet geschikt om kleine verschillen aan te tonen. Bij de vergelijking van de resultaten van monsters die op verschillende tijdstippen waren gederiviseerd bleek het tijdstip van derivatisering geen significant verschil te maken. De monsters lopen tussen extractie en analyse dus slechts weinig in kwaliteit terug. Om de handelingen in het ziekenhuis te beperken is het raadzaam om de derivatisering door het analytisch laboratorium uit te laten voeren. Op basis van het geringere buitenoppervlak is het aannemelijk dat dunnere endoscopen minder aldehyden bevatten dan dikkere endoscopen. In één ziekenhuis zijn dunne en relatief korte bronchoscopen geëxtraheerd. Deze endoscopen zijn lang genoeg om tot onder in de extractiekolom te worden neergelaten, maar de diameter van bronchoscopen bedraagt ongeveer de helft van de diameter van gastroscopen. Voor de drie bronchoscopen waren de waarden voor de aldehyden beneden de detectielimiet. Het is aannemelijk dat dit vooral is veroorzaakt door het geringe oppervlak van de bronchoscopen, hoewel het gebruikte desinfectans en desinfectator hierin ook een rol kunnen spelen. Omdat er slechts in één ziekenhuis bronchoscopen zijn geëxtraheerd, kan hierover verder geen uitspraak worden gedaan. Wanneer alleen bronchoscopen geëxtraheerd gaan worden is het aan te bevelen hiervoor een aangepaste extractiekolom te gebruiken en daardoor de hoeveelheid extractievloeistof in de kolom te verminderen.

### 4.1.3 Extractie in ziekenhuizen

Uitgaande van 50 ml extractievloeistof en de gevonden concentraties kon de hoeveelheid aldehyden op het geëxtraheerde distale einde worden berekend. Uitgaande van de gemiddelde waarden per ziekenhuis (tabel 3) betekent dit dat er minimaal  $1,0 \pm 0,6$   $\mu\text{g}$  formaldehyde en  $1,5 \pm 1,0$   $\mu\text{g}$  glutaaraldehyde op een endoscoop is aangetroffen. Aangezien de minimale waarden ongeveer de detectielimiet van de analysemethode zijn, zal een vermindering van deze waarden met de gebruikte methode niet aan te tonen zijn. De maximale gemiddelde hoeveelheden formaldehyde en glutaaraldehyde gevonden op het distale einde van de endoscoop bedroegen resp.  $9,0 \pm 5,4$   $\mu\text{g}$  en  $44,0 \pm 28,6$   $\mu\text{g}$ . Wanneer wordt uitgegaan van de waarden voor de individuele endoscopen (bijlage 3) dan bedroegen de maximale hoeveelheden formaldehyde en glutaaraldehyde per endoscoop resp.  $11,0 \pm 4,4$   $\mu\text{g}$  en  $68,0 \pm 27,2$   $\mu\text{g}$ . Voor alle gastroscopen uit het onderzoek is een gemiddelde berekend van  $3,5$   $\mu\text{g}$  voor formaldehyde en  $15$   $\mu\text{g}$  voor glutaaraldehyde. Deze waarden kunnen echter niet worden gezien als een gemiddelde voor de Nederlandse situatie, omdat het onderzoek hiervoor niet was opgezet. Hiermee is tijdens de keuze van de bezochte instellingen en de te onderzoeken endoscopen geen rekening gehouden. Bovendien was het onderzoek voor een dergelijke uitspraak te beperkt.

Aangezien de extractie slechts is uitgevoerd voor maximaal 35 cm van het distale uiteinde zal de gehele endoscoop meer aldehyden bevatten. Bovendien betreft het hier direct extraheerbare aldehyden. Het is mogelijk dat bij een langdurige extractie (bijvoorbeeld 24 uur) nog meer aldehyden kunnen worden geëxtraheerd, maar gezien de beperkte onderzoeksduur met flexibele endoscopen is dit niet relevant.

Er zijn alleen endoscopen geëxtraheerd die gereed waren voor gebruik waardoor er geen uitspraak kan worden gedaan over de hoeveelheid aldehyden die zich direct na desinfectie op een endoscoop bevond. Omdat formaldehyde en glutaaraldehyde in meer of mindere mate vluchtig zijn, zullen de hoeveelheden aldehyden op de mantel van een endoscoop in de loop van de tijd afnemen. Het is derhalve aannemelijk dat de hoeveelheden aldehyden direct na desinfectie hoger zijn dan hetgeen in dit onderzoek is aangetroffen. Endoscopen zullen tijdens een vol onderzoeksprogramma in het ziekenhuis vrijwel direct na desinfectie weer worden gebruikt, zodat aannemelijk is dat in de dagelijkse praktijk de hoeveelheid residuen op endoscopen hoger zal zijn dan hetgeen tijdens dit onderzoek is gevonden.

Binnen een afdeling van een ziekenhuis zullen er geen grote verschillen zijn in wijze waarop endoscopen wordt gedesinfecteerd. Wanneer waarden die in één ziekenhuis zijn gevonden worden vergeleken blijkt dat er in de praktijk aanzienlijke verschillen zijn in de mate waarin endoscopen aldehyden afgeven. Hierbij kunnen het type, de leeftijd en de staat van de endoscoop een rol spelen, evenals de tijd tussen desinfectie en extractie. Ondanks de grote spreiding in de gemiddelden per ziekenhuis zijn er toch significante verschillen tussen de ziekenhuizen voor zowel formaldehyde en glutaaraldehyde. Wanneer de gemiddelden per ziekenhuis onderling worden vergeleken zullen naast de hierboven genoemde punten de verschillen in de desinfectieprocessen een rol spelen.

Ondanks de aanzienlijke verschillen in de gemiddelde waarden tussen desinfectansgroepen, bleek er alleen voor formaldehyde een significant verschil te zijn. Dit verschil wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de afwezigheid van formaldehyde in extracten van endoscopen die met desinfectans D zijn gedesinfecteerd. In het algemeen kan worden gesteld dat de verschillen in de resultaten tussen de desinfectansgroepen kunnen zijn veroorzaakt door:

- verschillen in de samenstelling van de desinfectantia;
- de gebruikconcentratie in de machines;
- de toegepaste temperaturen bij desinfectie en naspoeling;
- de hoeveelheid spoelwater;

- technische eigenschappen van de machines die deze desinfectantia gebruiken;
- extractie van verschillende typen endoscopen.

Al deze variabelen maken een verdere analyse van verschillen tussen de desinfectansgroepen onmogelijk.

In de productinformatie van zowel desinfectans B als D wordt gesteld dat deze geen formaldehyde bevatten. Voor desinfectans D zijn de gevonden waarden (0,02-0,03 µg/ml) gelijk of iets hoger dan de detectielimiet van de analysemethode en de resultaten lijken derhalve in overeenstemming met de samenstelling van dit desinfectans. In de groep van desinfectans B werden gehalten aan formaldehyde gevonden (0,02-0,05 µg/ml) die in veel gevallen boven de detectiegrens (0,02 µg/ml) uitkomen. Aangezien hier verder geen onderzoek naar is gedaan, is niet vastgesteld of het desinfectans B toch sporen formaldehyde bevat of dat er sprake is van andere oorzaken, bijvoorbeeld recente overstap op desinfectans B na gebruik van een formaldehyde-houdend desinfectans.

Er zijn geen eenduidige gegevens beschikbaar in de literatuur over de minimale hoeveelheden formaldehyde en glutaaraldehyde die in humane darmen tot ongewenste effecten leiden. Door toepassing van toxicologische schattingsmethoden op literatuurgegevens kan mogelijke wel een uitspraak over acceptabele waarden worden gedaan. Overigens zal de afgifte van aldehyden in het lichaam bepaald worden door de duur van de scopie en de lengte van de endoscoop die in het lichaam wordt gebracht.

#### **4.1.4 Toepassing methode**

De ontwikkelde methode is additioneel aan het meten van fysische parameters van een endoscopendesinfector ter verificatie van het reinigings- en desinfectieproces. In eerste instantie zullen altijd de fysische parameters worden gecontroleerd. Zaken die moeilijk te meten zijn (bijvoorbeeld het adsorptievermogen van de mantel en de effectiviteit van de naspoeling) kunnen met deze methode in kaart worden gebracht.

De ontwikkelde methode kan worden toegepast bij de procesontwikkeling van endoscopendesinfectoren, wanneer er twijfels bestaan over de staat van een endoscoop en om na te gaan of er verschil bestaat tussen verschillende desinfectantia met betrekking tot residuen aldehyden. Wanneer blijkt dat een endoscoop veel residuen absorbeert moet worden overwogen om deze endoscoop niet meer te gebruiken. Aangezien bij dit onderzoek geen gegevens over de geëxtraheerde endoscopen zijn verzameld, kan er geen uitspraak worden gedaan over welke eigenschappen van gastroscopen leiden tot een hoog gehalte aan aldehyden.

De gebruiker kan de instelling van de naspoelingstijd niet aanpassen, zodat deze methode in de ziekenhuizen niet kan worden gebruikt voor optimalisatie van de naspoeling. Bovendien zal de nauwkeurigheid van de methode hiervoor ontoereikend zijn. Wel kan de methode worden toegepast om een referentiewaarde vast te stellen voor een bepaalde combinatie endoscopendesinfector, endoscoop en desinfectans. Wellicht kan een fabrikant een referentiewaarde geven, waarmee gebruikers hun waarden kunnen vergelijken. Wanneer deze referentiewaarde met een enkele waarde bij een volgende (half)jaarlijkse meting wordt vergeleken, kan er vanwege de nauwkeurigheid van de methode en de mogelijke veroudering van het oppervlak van de endoscoop geen eenduidige uitspraak over de performance van de endoscopendesinfector worden gedaan. Alleen wanneer de meting vaak wordt herhaald, bijvoorbeeld wekelijks, kan een eventuele trend worden aangetoond.

## 4.2 Conclusies

- De combinatie van de extractiemethode en de analysemethode is gevoelig genoeg om formaldehyde- en glutaaraldehyderesiduen op het distale einde van endoscopen aan te tonen en te kwantificeren.
- De extractiemethode kan in korte tijd en ter plaatse in het ziekenhuis worden uitgevoerd.
- Extracten hoeven niet ter plaatse te worden gederivatiseerd.
- De hoeveelheid formaldehyde en glutaaraldehyde op endoscopen in de bezochte ziekenhuizen loopt sterk uiteen en de verschillen tussen de hoeveelheden zijn statistisch significant.
- Er zijn statistisch significante verschillen tussen de hoeveelheden formaldehyde die konden worden geëxtraheerd uit endoscopen die met verschillende desinfectantia waren gedesinfecteerd.

## 4.3 Aanbevelingen/vervolgonderzoek

- Het vastleggen en controleren van de specificaties en parameters van de endoscopendesinfector voordat een extractie wordt uitgevoerd. Wanneer de desinfector niet naar behoren functioneert is het uitvoeren van een residubepaling niet zinvol.
- Het gebruik van een referentie-endoscoop voor het uitvoeren van controlemetingen aan de combinatie endoscoop, desinfectieproces en endoscopendesinfector.
- Het extraheren van endoscopen direct na afloop van het desinfectieproces, omdat dit een 'worst-case' situatie is, omdat de tijd tussen desinfectie en extractie wordt geminimaliseerd. De tijd tussen desinfectie dient te worden vastgesteld, zodat altijd een constant tijdsinterval wordt gebruikt bij proeven. Hierbij dient rekening te worden gehouden met de afkoelperiode van een endoscoop na afloop van het desinfectieproces, dat bij verhoogde temperatuur kan plaatsvinden. Op deze manier kunnen gegevens over een langere periode met elkaar vergeleken worden.
- Het onderzoeken van de hoeveelheid achtergebleven aldehyden op oude endoscopen.
- Het gebruik van een andere extractiekolom voor bronchoscopen.
- Het vaststellen van de minimale hoeveelheden formaldehyde en glutaaraldehyde die in de darmen tot ongewenste effecten leiden door toepassing van toxicologische schattingsmethode op gegevens uit de literatuur.

## Literatuur

- 1 Agerton T, Valway S, Gore B, Pozsik C, Plikaytis B, Woodley C et al. Transmission of a highly drug-resistant strain (strain W1) of *Mycobacterium tuberculosis*. Community outbreak and nosocomial transmission via a contaminated bronchoscope. *JAMA* 1997; 278(13):1073-1077.
- 2 Michele TM, Cronin WA, Graham NM, Dwyer DM, Pope DS, Harrington S et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* by a fiberoptic bronchoscope. Identification by DNA fingerprinting. *JAMA* 1997; 278(13):1093-1095.
- 3 Bronchoscopy related Infections and Pseudoinfections New York, 1996 and 1998. *MMWR Weekly* 1999; 48(26):557-560.
- 4 Inspectie voor de Gezondheidszorg. Reiniging en desinfectie van scopen te flexibel? Den Haag: IGZ, 2000.
- 5 Durante L, Zulty JC, Israel E, Powers PJ, Russell RG, Qizilbash AH et al. Investigation of an outbreak of bloody diarrhea: association with endoscopic cleaning solution and demonstration of lesions in an animal model. *Am J Med* 1992; 92(5):476-480.
- 6 Dolce P, Gourdeau M, April N, Bernard PM. Outbreak of glutaraldehyde-induced proctocolitis. *Am J Infect Control* 1995; 23(1):34-39.
- 7 Asselah T, Touze I, Boruchowicz A, Collet R, Maunoury V, Colombel JF. [Acute hemorrhagic colitis induced by glutaraldehyde after colonoscopy]. *Gastroenterol Clin Biol* 1996; 20(2):213-214.
- 8 Jonas G, Mahoney A, Murray J, Gertler S. Chemical colitis due to endoscope cleaning solutions: a mimic of pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1988; 95(5):1403-1408.
- 9 Orzechowski T, de Bruijn A, Wassenaar C. Test ter bepaling van de effectiviteit van reiniging van flexibele endoscopen; thematisch onderzoek endoscopendesinfectie. Report number 605148012/2002. 2002. Bilthoven, RIVM.

## Bijlage 1: Extractieprocedure

### Materialen:

- Extractiekolom: glazen kolom (lengte 40 cm, ID 18 mm) voorzien van een mantel
- Statief met tenminste twee klemmen
- Pipet van circa 25 ml voor het opzuigen van een monster
- Per uit te voeren extractie 50 ml extractievloeistof (HPLC-water (Baker))
- Per uit te voeren extractie een bruin glazen monsterflesje (circa 25 ml) voorzien van een dopje met een teflon lining.
- Een extra monsterflesje voor de blanco (extractievloeistof)
- Stopwatch

### *Indien de extractie bij 40 °C plaatsvindt:*

- Een waterbad met externe circulatie-aansluiting
  - Twee slangen om de kolom op het waterbad aan te sluiten
- 
- De kolom wordt rechtop geplaatst in een statief met tenminste twee klemmen.
  - Wanneer de extractie niet bij kamertemperatuur plaatsvindt: wordt de mantel van de extractiekolom aangesloten (inlaat beneden).
  - De kolom wordt met 50 ml HPLC-water gevuld. Laat het geheel bij het gebruik van een waterbad 10 minuten staan om op temperatuur te komen.
  - Het distale einde van de endoscoop wordt vervolgens in de vloeistof gehangen. De onderkant van de endoscoop dient enkele centimeters van de bodem verwijderd te blijven om beschadigingen te voorkomen. Om te voorkomen dat de endoscoop door knikken beschadigt kan men een extra klem boven de kolom aan brengen waarover het andere deel van de endoscoop kan worden gehangen of kan men het statief op de grond zetten en het andere deel van de endoscoop op een tafel leggen.
  - De endoscoop blijft gedurende 20 minuten in de extractievloeistof hangen, waarbij ongeveer elke minuut de endoscoop een aantal keren  $\pm 3$  cm op en neer wordt bewogen.
  - Na afloop van de extractie wordt de endoscoop uit de kolom genomen en wordt ongeveer 20 ml van de vloeistof in een bruin glazen monsterflesje gedaan met behulp van de pipet. De monsters worden bij kamertemperatuur bewaard.
  - De monsters worden bij voorkeur dezelfde dag nog voor analyse aangeboden. Wanneer dit niet mogelijk is, worden de monsters de volgende dag voor analyse aangeboden.
  - Er wordt ook een monster van de extractievloeistof meegenomen als blanco voor de HPLC-analyse in verband met het achtergrondsignaal van aldehyden.

## Bijlage 2: Details van de analysemethode

### Algemeen

Voor de analyse wordt aan 1 ml van het te onderzoeken watermonster (eventueel na verdunning) 0,4 ml DNPH-reagens in acetonitril toegevoegd, waarbij direct de aldehyde-DNPH-derivaten gevormd worden. Vanwege de beperkte stabiliteit van de derivaten in mengsels van water-acetonitril (60:40, v/v), wordt de instrumentele analyse binnen circa 24 uur na derivatisering uitgevoerd.

Middels een automaat wordt van deze oplossing 100 µl geïnjecteerd op de scheidingskolom van het RPLC-UV systeem. Naast de autosampler bestaat het analytische systeem uit een binaire gradiëntpomp, een UV-detector (360 nm), een kolomoven (35°C), en chromatografie datasysteem. De scheiding wordt verkregen op een 50x4,6 mm (LxID) analytische kolom gevuld met 3 µm Microspher C18 deeltjes met hiervoor geplaatst een 10x3 mm (LxID)voorkolom gepakt met hetzelfde materiaal.

De scheiding van de aldehyde-DNPH-derivaten wordt uitgevoerd met behulp van een binaire water-acetonitril-gradiëntelutie, waarbij het debiet van de mobiele fase 1,0 ml/min bedraagt. Het toegepaste elutieprofiel van de gradiënt is als volgt:

- 0 tot 2 min: acetonitril-water (40:60; v/v)
- 2 tot 5 min: gradiënt naar acetonitril-water (60:40; v/v)
- 5 tot 10 min: acetonitril-water (60:40; v/v)

Na 10 min wordt de kolom gedurende 10 minuten gespoeld met 100% acetonitril en, voorafgaande de volgende injectie, 5 min met acetonitril-water (40:60; v/v).

Onder deze condities zijn de retentietijden voor formaldehyde en glutaaraldehyde respectievelijk 5,0 and 9,2 min (indicatief).

De van de kolom eluërende verbindingen worden met behulp van UV bij een golflengte van 360 nm gedetecteerd. Kwantificering vindt plaats door vergelijking van het signaal met het signaal van een externe aldehyde-DPNH-standaard. Middels omrekeningsfactoren voor de gemaakte verdunning en voor het gevormde derivaat wordt de concentratie van de actieve stof berekend en gerapporteerd.

De onderste analysegrens voor zowel formaldehyde en glutaaraldehyde in waterige extracten bedraagt 0,02 µg/ml.

De methode is beschreven in een procedure (SOP LOC/099/00).



**Kwaliteitsaspecten**

De kwantificering is uitgevoerd met gebruik van oplossingen gemaakt van gecertificeerde standaardstoffen van de DPNH-derivaten van formaldehyde en glutaaraldehyde.

Voor de kwaliteitsborging en validatie van dit onderzoek werden:

- De monsters als 'blinde-monsters' aangeleverd.
- De meeste van de aangeleverde monsters werden in twee-, drie- of in viervoud geanalyseerd. Dit geeft inzicht in de herhaalbaarheid van de analysemethode.
- Per meetserie werden twee recovery-experimenten uitgevoerd op het niveau van de onderste analysegrens (ca 0,02 µg/ml) en het niveau van circa 0,1 µg/ml. Dit verschaft informatie over de spreiding binnen het laboratorium in de loop van de tijd.
- Per meetserie werd minimaal één blanco (extractievloeistof) geanalyseerd.

Bovenstaande gegevens geven informatie over de spreiding van meetresultaten en over de meetonzekerheid aangaande de concentraties van waterextraheerbare aldehyden van endoscopen.

Het onderzoek is uitgevoerd onder het raamwerk van het kwaliteitssysteem van LAC, dat is geaccrediteerd door de Raad voor Accreditatie.

### Bijlage 3: Resultaten extractie in ziekenhuizen

Overzicht van de gevonden concentraties aldehyden in de extractievloeistof ( $\mu\text{g/ml}$ ). In de tabel is tevens (gecodeerd) aangegeven welke desinfectantia in de ziekenhuizen werden gebruikt en bij welke temperatuur de desinfectie werd uitgevoerd.

Ziekenhuis	Desinfectans	Temperatuur ( C)	Formaldehyde	Glutaaraldehyde
12	A	20	0,15	0,03
			0,20	0,04
			0,07	0,02
13	A	20	0,04	0,07
			0,11	0,32
			0,08	0,28
10	A	30	0,17	0,54
			0,16	0,86
			0,21	0,60
1	B	35	0,02	0,24
			0,03	0,28
			0,03	0,04
3	B	35	0,02	0,18
			0,05	0,06
			0,02	0,19
4	B	35	0,05	0,08
			0,05	0,03
			0,05	0,11
5	C	35	0,08	0,08
			0,13	0,09
			0,07	0,03
6	C	30	0,05	0,03
			0,19	0,04
			0,04	0,02
14	C	41	0,13	0,84
			0,02	0,11
			0,06	1,36
8	D	60	0,02	0,15
			0,02	0,24
7	D	62	0,03	0,98
			0,03	0,98
			0,02	0,69
17	D	60	0,02	0,09
			0,02	0,15
			0,02	0,39
16	D	60	0,02	0,21
			0,02	0,28
			0,02	0,76