

Desinfecteren van werkkkanalen van endoscopen met behulp van plasma geactiveerd gas

Een proof-of-concept voor een nieuwe desinfectiemethode

Guido Loopik

Bedrijfsbegeleider: Dhr. T. J. Kea

Eerste examiner: Dr. L. H. Arntzen

Afstudeerscriptie

Technische Natuurkunde

De Haagse Hogeschool

Delft

24 maart 2022



Samenvatting

Het huidige desinfectieproces voor endoscopen kost veel tijd, veroorzaakt veel herbesmettingen en gebruikt veel chemicaliën. Het doel van dit onderzoek is het vinden en testen van een nieuwe desinfectiemethode voor de werkkkanalen van endoscopen die het huidige proces verbetert.

Aan de hand van de literatuur zijn er drie verschillende desinfectiemethodes in kaart gebracht. Deze methodes zijn: ozon, waterstofperoxidedamp en plasma geactiveerd gas (PAG). Deze methodes maken allemaal gebruik van oxidatie voor hun antimicrobiële werking. Twee belangrijke groepen oxidatoren in dit proces zijn reactieve zuurstofcomponenten (ROS) en reactieve stikstofcomponenten (RNS). Er is gekozen om PAG te testen in een proof-of-concept omdat deze als enige voldoet aan alle gestelde eisen en wensen, en het gebruik van plasma in de medische wereld een opkomende en snel groeiende technologie is die veel potentie biedt voor de toekomst.

Het ontworpen proof-of-concept werkt met PAG op basis van perslucht. Perslucht is kosten-efficiënt en in de meeste ziekenhuizen al aanwezig. Het desinfecterende vermogen van PAG is getest op micro-organismen. Er zijn twee verschillende experimenten uitgevoerd waarbij verschillende blootstellingstijden aan het PAG zijn onderzocht. Het eerste experiment is uitgevoerd bij Streeklab Haarlem. Bij dit experiment zijn staphylococcus aureus (ST) bacteriën in een droge situatie blootgesteld aan het PAG voor respectievelijk 30, 60, 120 en 240 seconden. Na blootstelling zijn de overgebleven bacteriën opgekweekt, waarna de bacteriegroei is vergeleken met die van een controlegroep. Bij geen van deze blootstellingstijden is desinfectie waargenomen.

Het tweede experiment is uitgevoerd bij Balis Micro B.V. Bij dit experiment zijn de bacteriën staphylococcus aureus (ST) en pseudomonas aeruginos (PS), in zowel een vochtige als droge situatie 15 en 30 minuten blootgesteld aan het PAG. Hierna zijn de overgebleven bacteriën opgekweekt, waarna de concentratie in KVE/mL is gemeten. Ook van een controlegroep is de concentratie in KVE/mL gemeten waarna een logreductie is berekend. Voor beide bacteriën, in zowel de een droge als de vochtige situatie, is na een blootstellingstijd van 15 en 30 minuten een logreductie van meer dan 6 behaald.

Uit de resultaten van het tweede experiment blijkt dat er met 15 minuten blootstellingstijd aan PAG op basis van perslucht hoogwaardige desinfectie te behalen valt bij de twee onderzochte bacteriën. Hoewel dit duidelijk aangeeft dat PAG potentie biedt als een methode voor het desinfecteren van werkkkanalen van endoscopen, moet er nog veel onderzocht worden voordat dit met zekerheid gezegd kan worden.

PAG op basis van perslucht lijkt op basis van dit onderzoek een veelbelovende techniek te zijn voor het sneller en kostenefficiënter desinfecteren van werkkkanalen van endoscopen.

Inhoudsopgave

1	Inleiding	2
1.1	Desinfectieproces van endoscopen	3
1.2	Onderzoeksdoelstellingen	4
1.3	Programma van eisen	5
2	Theorie	6
2.1	Niveau's van ontsmetten	6
2.2	Desinfectiemethodes	7
2.3	Oxidatie	8
2.3.1	Reactieve zuurstofcomponenten	10
2.3.2	Reactieve stikstofcomponent	11
2.4	Ozon	12
2.5	Waterstofperoxidedamp	13
2.6	Plasma geactiveerd gas	14
2.6.1	Plasma	14
2.6.2	Cold Atmospheric Plasma	16
2.6.3	Plasma geactiveerde media	17
3	Methode	18
3.1	Gekozen methode	18
3.1.1	Plasmagenerator	19
3.2	Ontwerp testopstelling	20
3.3	Meetmethode	21
3.3.1	Streeklab Haarlem	22
3.3.2	Balis Micro B.V.	22
3.3.3	Temperatuur	23
3.3.4	Onzekerheidsanalyse	23
4	Resultaten	25
4.1	Temperatuurverloop	25
4.2	Streeklab Haarlem	25
4.3	Balis Micro B.V.	26
5	Discussie	28
6	Conclusie	30

1 | Inleiding

De gezondheidszorg en geneeskunde zijn een essentieel onderdeel van de maatschappij. De geschiedenis van de geneeskunde is net zo oud als de mensheid zelf, maar pas sinds het ontstaan van de moderne geneeskunde in de 19e eeuw zijn er grote stappen gezet in het begrijpen en verbeteren van de geneeskunde en de gezondheidszorg. Een belangrijke stap in dit proces is de komst van de microbiologie in het laatste kwart van de 19e eeuw, waarbij micro-organismen als voornaamste bron van ziektes en infecties werden ontdekt. Het bestrijden van deze micro-organismen vormt inmiddels een belangrijk deel van de geneeskunde. Twintig jaar voor de ontdekking van micro-organismen als ziekteverwekkers werd het belang van ontsmetten al ontdekt door de arts Ignaz Semmelweis. Hij wist het aantal sterfgevallen door kraamvrouwenkoorts van ruim 15% terug te dringen naar 1% door artsen hun handen te laten wassen met chlooroplossing. De keuze voor chlooroplossing kwam voort uit het feit dat dit het enige middel was dat de rottende stank van de weefsels bij autopsie kon verwijderen. Over de desinfecterende werking van chloor was toen nog niks bekend. Ondanks het terugdringen van het aantal sterfgevallen werden zijn bevindingen niet door de medische gemeenschap erkend. Pas na zijn dood werd het gelijk van Semmelweis aangetoond door onderzoek van Louis Pasteur naar micro-organismen. In 1865 ontdekte de Britse arts Joseph Lister het principe van desinfecterende middelen en het reinigen van wonden. Sindsdien is het desinfecteren en steriliseren van wonden, instrumenten en handen standaardpraktijk geworden in de geneeskunde [1].

Hoewel desinfectie al sinds het eind van de 19e eeuw een standaardpraktijk is, valt er nog steeds veel te verbeteren om verspreiding van ziekteverwekkende micro-organismen via medische instrumenten en apparaten verder terug te dringen. Het verbeteren en veranderen van de huidige desinfectieprocessen met behulp van nieuwe technologieën is een belangrijke stap in deze ontwikkeling. UV Smart is een bedrijf dat hieraan bijdraagt door desinfectiemethoden op basis van UV-C licht te ontwikkelen. Na ongeveer 3 jaar R&D lanceerde UV Smart begin 2020 haar eerste product: de D25. Dit handige mobiele apparaat is speciaal ontwikkeld voor gevalideerde desinfectie van medische instrumenten en apparatuur met speciale UV-C lampen. Begin 2022 lanceerde het bedrijf haar volgende product, de D60, dat kanaallose endoscopen kan desinfecteren. Dit rapport beschrijft het onderzoek naar de mogelijkheid voor het verbeteren van het desinfectieproces van endoscopen mét een werkkanaal. Het dient als grondslag voor een mogelijk volgend UV Smart product, dat endoscopen met een werkkanaal kan ontsmetten.

In het vervolg van hoofdstuk 1 wordt het huidige desinfectieproces van endoscopen, de onderzoeksdoelstellingen en het programma van eisen behandeld. De nodige theorie rondom ontsmetten en de verschillende mogelijke desinfectiemethodes worden in hoofdstuk 2 beschreven.

In hoofdstuk 3 is de gekozen methode en het ontwerp van de testopstelling voor het proof-of-concept te vinden en in hoofdstuk 4 worden de resultaten van het proof-of-concept weergegeven. De discussiepunten van dit onderzoek worden besproken in hoofdstuk 5, tenslotte zal de conclusie in hoofdstuk 6 gepresenteerd worden.

Dit onderzoek is uitgevoerd voor UV Smart en dient als afstudeerproject voor de studie Technische Natuurkunde aan de Haagse Hogeschool te Delft.

1.1 Desinfectieproces van endoscopen

Een gebied binnen de medische industrie waar nog veel winst te behalen valt is het desinfecteren van endoscopen. Endoscopen zijn instrumenten waarmee artsen in het lichaam kunnen kijken. Er zijn diverse soorten endoscopen om verschillende onderdelen van het lichaam te bekijken. Sommige van deze endoscopen hebben een werkkanaal waarmee bijvoorbeeld lucht of water toegevoerd kan worden of waar een gripper in zit voor het uitvoeren van handelingen. Vooral de endoscopen mét werkkanaal leveren veel problemen op met herbesmettingen. Er zijn meer infectie-uitbraken in verband gebracht met inadequaat gedesinfecteerde endoscopen dan met enig ander medisch instrument dat herbruikbaar is [2]. Endoscopen zijn semi-kritische voorwerpen, wat betekent dat ze hoogwaardig gedesinfecteerd moeten worden (zie paragraaf 2.1). Omdat veel endoscopen hittegevoelig zijn, kunnen deze niet gedesinfecteerd worden met conventionele methodes zoals stoomsterilisatie. In het huidige desinfectieproces wordt daarom gebruik gemaakt van vloeibare chemicaliën. Het huidige desinfectieproces bestaat uit 3 stappen [3]:

1. Voorreinigen
2. Wassen & desinfecteren
3. Drogen

In de eerste stap, het voorreinigen, wordt met behulp van een borstel al het organisch afval uit de werkkkanalen verwijderd. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een enzymatisch reinigingsmiddel dat organisch afval zoals bloed, uitwerpselen en slijm afbreekt. Als er sprake is van een hoge besmettingskans of bij kanalen met moeilijk te bereiken stukken, worden endoscopen aansluitend nog eens 20 min ondergedompeld in een enzymatisch reinigingsmiddel [3].

Tijdens de tweede stap, het wassen, worden de endoscopen doorgespoeld met vloeibare chemicaliën. Vaak wordt hiervoor glutaraaldehyde gebruikt, maar ook andere chemicaliën zoals perazijnzuur en ortho-phthalaldehyde kunnen gebruikt worden [4]. De tijd die nodig is om de endoscoop te desinfecteren in deze stap ligt tussen de 20 en 90 minuten. Na het desinfecteren moeten de endoscopen nog nagespoeld worden om alle chemicaliën te verwijderen zodat ze veilig te gebruiken zijn. Dit spoelen gebeurt met steriel gedestilleerd water [3].

Nadat de endoscopen gedesinfecteerd en gespoeld zijn, moeten ze gedroogd worden. Endoscopen zijn semi-kritische instrumenten, wat betekent dat er na het desinfecteren nog enkele sporen achter mogen blijven (zie paragraaf 2.1). Het volledig drogen van de endoscopen is van groot belang, omdat achterblijvend vocht kan leiden tot activatie van sporen en de groei van biofilm, wat herbesmetting van de endoscopen veroorzaakt. De droogtijd van endoscopen varieert en hangt af van het type droogkast. De droogtijd ligt in het algemeen tussen 30 en 120 minuten [5].

Er zijn verschillende nadelen die samenhangen met het huidige desinfectieproces. Zo zijn er meer uitbraken gekoppeld aan niet goed gedesinfecteerde endoscopen dan aan enig ander medisch instrument [2]. Post-proces controleonderzoeken tonen consequent hoge aantallen achtergebleven micro-organismen in endoscopen aan [6]. Oorzaken hiervoor zijn onder andere: niet goed genoeg voorreinigen, (te vaak) hergebruik van chemicaliën en onvolledig drogen van endoscopen [7]. Vooral het onvolledig drogen van de endoscopen is een groot probleem [8]. Uit onderzoek is gebleken dat na het drogen in 49% van de endoscopen nog vocht aanwezig is [9]. Dit kan leiden tot de groei van biofilm en herbesmetting van de endoscopen [5]. Verder zijn de chemicaliën die in het huidige desinfectieproces worden gebruikt schadelijk voor mens en milieu. Bovendien brengen deze chemicaliën hoge gebruikskosten met zich mee omdat ze slechts een beperkt aantal maal gebruikt kunnen worden [10]. Een ander nadeel is de relatief lange tijd die het proces in beslag neemt.

1.2 Onderzoeksdoelstellingen

Het verbeteren van het huidige desinfectieproces van endoscopen is dus van groot belang. De vraag vanuit ziekenhuizen naar betere en snellere desinfectiemethodes voor endoscopen is groot. Voor het desinfecteren van de buitenkant van endoscopen heeft UV Smart al een verbeterde methode met UV-C licht, maar voor het desinfecteren van de werkkkanalen is er nog geen alternatief. Het doel van dit onderzoek is de grondslag leggen voor een product dat endoscopen met een werkkanaal kan ontsmetten en het huidige desinfectieproces verbetert.

Het voornaamste probleem bij het huidige desinfectieproces is de grote hoeveelheid herbesmettingen die optreedt en die te wijten is aan het onvolledig drogen van de endoscopen na het wassen. In dit onderzoek zal daarom gekeken worden naar een desinfectiemethode waarbij niet nagespoeld hoeft te worden en die tijdens het drogen kan worden geïmplementeerd, zodat het wassen en desinfecteren van de endoscopen met behulp van vloeibare chemicaliën overbodig wordt. Dit levert twee belangrijke voordelen op:

1. Endoscopen hoeven na desinfectie niet meer te drogen, wat de kans op herbesmetting verkleint.
2. Het desinfectieproces wordt versneld omdat desinfecteren en drogen tegelijkertijd gebeurt.

Er zal gefocust worden op desinfectiemethodes specifiek voor de werkkkanalen van endoscopen, die gecombineerd kunnen worden met de UV-C desinfectie, omdat de UV-C desinfectie in staat is de buitenkant van de endoscopen te desinfecteren. In paragraaf 1.3 is het programma van eisen opgenomen met alle eisen en wensen waaraan de desinfectiemethode moet voldoen.

Tijdens dit onderzoek zullen aan de hand van literatuur verschillende desinfectiemethodes geanalyseerd worden, waarna één methode met behulp van een proof-of-concept getest zal worden. Dit zal gedaan worden aan de hand van de volgende onderzoeksdoelstellingen:

- **Het in kaart brengen van desinfectiemethodes voor werkkkanalen van endoscopen die voldoen aan het gestelde programma van eisen.**
- **De desinfectiemethode met de meeste potentie testen met behulp van een proof-of-concept.**

1.3 Programma van eisen

Het doel van dit onderzoek is het vinden en testen van een nieuwe desinfectiemethode voor de werkkkanalen van endoscopen waarmee het huidige proces verbeterd wordt. Dit programma van eisen bevat een lijst met eisen en wensen waaraan deze desinfectiemethode moet voldoen.

De desinfectiemethode zal aan een de volgende eisen moeten voldoen:

- levert geen schade op aan endoscopen;
- werkt bij lage temperaturen ($< 60^{\circ}\text{C}$);
- kan geïmplementeerd worden tijdens het drogen van de endoscoop;
- laat geen onveilig residu voor mensen achter waardoor naspoelen niet nodig is;
- kan moeilijk bereikbare plekken bereiken;
- kan gecombineerd worden met UV-C desinfectie voor de buitenkant van de endoscoop.

Daarnaast is een lijst met wensen voor de desinfectiemethode opgesteld. Het doel is om hier zoveel mogelijk aan te voldoen, maar deze zijn niet strikt noodzakelijk:

- werkt snel (< 30 min);
- gebruikt geen (grond)stoffen met hoge kosten;
- gebruikt geen schadelijke stoffen voor mens en milieu;
- vereist geen complexe menselijke handelingen, die de kans op het maken van fouten vergroten.

Het programma van eisen zal gebruikt worden om de mogelijke desinfectiemethodes te beoordelen en de methode met de meest potentie te kiezen.

2 | Theorie

2.1 Niveau's van ontsmetten

In ziekenhuizen worden veel verschillende soorten medische apparaten en instrumenten gebruikt voor allerlei verschillende soorten behandelingen. Sommige van deze behandelingen zijn invasief wat betekent dat de medische apparaten of instrumenten in contact komen met steriel weefsel of slijmvlies van de patiënt. Een groot risico bij invasieve behandelingen is de introductie van ziekteverwekkende micro-organismen in het lichaam die tot infectie kunnen leiden. Het is daarom van groot belang dat medische voorwerpen op een adequate manier ontsmet worden, om de veiligheid van patiënten te kunnen garanderen. De mate van ontsmetting wordt uitgedrukt met behulp van een logreductie. Dit is een maatstaf die aangeeft in welke mate een ontsmettingsproces de concentratie van een verontreinigende stof vermindert. Logreductie is gedefinieerd als de logaritme van de verhouding tussen de verontreinigingsniveaus vóór en na het ontsmettingsproces. Dit betekent dat een toename van 1 in de logreductie overeenkomt met een vermindering van de concentratie met een factor 10. De logreductie van een ontsmettingsproces kan berekend worden met behulp van vergelijking 2.1 [11].

$$R = -\log_{10} \left(\frac{c_n}{c_0} \right) \quad (2.1)$$

Hierin is R de logreductie (dimensieloos), c_n de concentratie na het ontsmettingsproces en c_0 de concentratie voor het ontsmettingsproces. Omdat de concentraties door elkaar gedeeld worden maakt de eenheid van de concentratie niet uit, zolang deze maar hetzelfde zijn. Bij bacteriën wordt de concentratie typisch gemeten in kolonievormende eenheden per milliliter (KVE/mL). Omdat bacteriën niet met het blote oog geteld kunnen worden, wordt de KVE geteld als maatstaf voor het aantal bacteriën.

Welke mate van ontsmetting nodig is voor het hergebruiken van een hulpmiddel of instrument is afhankelijk van de Spaulding classificatie van het voorwerp. Er worden drie klassen onderscheiden, afhankelijk van het gebruik valt een voorwerp in één van de volgende klassen [12]:

1. Kritisch
2. Semi-kritisch
3. Niet-kritisch

Instrumenten en apparaten worden als kritisch geclassificeerd als deze in contact komen met steriel weefsel of het hart- en vaatstelsel in verband met het hoge infectierisico dat zich voordoet als een dergelijk voorwerp besmet is met micro-organismen of bacteriële sporen. Kritische instrumenten dienen gesteriliseerd te worden wat betekent dat alle micro-organismen inclusief bacteriële sporen vernietigd moeten worden. Een voorwerp is steriel als alle micro-organismen op of in een voorwerp gedood of zodanig geïnactiveerd zijn, dat de kans op aanwezigheid van levende organismen per gesteriliseerde eenheid kleiner is dan één op de miljoen. Voorbeelden van kritische instrumenten zijn chirurgische instrumenten, hart- en urine-katheters, implantaten en ultrasone sondes die in steriele lichaamsholten worden gebruikt [12][13].

Semi-kritische voorwerpen zijn voorwerpen die in aanraking komen met slijmvliezen of niet-intacte huid. Deze voorwerpen moeten vrij zijn van alle micro-organismen, maar in tegenstelling tot kritische voorwerpen mogen er wel een klein aantal bacteriële sporen aanwezig zijn. Intacte slijmvliezen, zoals die van de longen of het maag-darmkanaal zijn over het algemeen resistent tegen infectie door bacteriële sporen, maar zijn wel gevoelig voor organismen zoals bacteriën en virussen [12]. Semi-kritische instrumenten moeten hoogwaardig gedesinfecteerd worden volgens een proces dat voldoet aan de relevante (Europese) normen en goedgekeurd zijn door de CEN [14]. Desinfectieprocessen die zijn goedgekeurd halen typisch een logreductie van 5 voor verschillende micro-organismen. Dit kan variëren per proces en is afhankelijk van het type instrument waarvoor dit proces gebruikt wordt [15].

Niet-kritische instrumenten komen alleen in contact met intacte huid en niet met slijmvliezen. Omdat intacte huid goed in staat is micro-organismen te weerstaan is het niet nodig om instrumenten die hiermee in contact komen te steriliseren. Dit soort instrumenten moeten na gebruik gereinigd worden. Reinigen is het voorkomen van het verspreiden, vermeerderen of handhaven van micro-organismen door het verwijderen van zichtbaar vuil en onzichtbaar organisch materiaal. Er zijn twee vormen van reinigen: nat en droog. Welke van deze twee vormen het best gekozen kan worden, is afhankelijk van de aard van de vervuiling [12][13][14].

2.2 Desinfectiemethodes

Er bestaan verschillende mechanismen en processen waarmee medische apparatuur en instrumenten gedesinfecteerd of zelfs gesteriliseerd kunnen worden. Al deze processen kunnen in een van de volgende drie categorieën geplaatst worden [11]:

1. Verwijderen van micro-organismen
2. Veranderen van micro-organismen
3. Inactiveren van micro-organismen

Bij het verwijderen van de micro-organismen worden alle micro-organismen volledig verwijderd om zo een micro-organisme-vrije omgeving te creëren die dus steriel is. Onder het veranderen van

micro-organismen valt het vernietigen of desintegreren van micro-organismen, en het aanpassen of vervormen van de fysieke structuur of biochemische samenstelling van een micro-organisme zodat deze alle functionaliteit verliest. Bij het inactiveren van micro-organismen worden kritieke biochemische en fysiologische eigenschappen permanent verstoord waardoor, het micro-organisme niet meer in staat is een infectie te veroorzaken [11].

In de praktijk zijn er vier hoofdcategorieën van sterilisatie en desinfectie te onderscheiden [11]:

1. Thermisch
2. Chemisch
3. Straling
4. Filtratie

Elke categorie heeft voor- en nadelen, welke het meest geschikt is, is afhankelijk van de toepassing. Filtratie is bijvoorbeeld alleen geschikt voor het ontsmetten van oplossingen. Bij het kiezen van een desinfectiemethode moet rekening gehouden worden met zowel de voor- en nadelen van de gekozen methode als met de eigenschappen van het te desinfecteren voorwerp, te denken valt aan materiaal, vorm, waterbestendigheid en hittebestendigheid. Alle vormen van desinfectie en sterilisatie zullen het materiaal van het te ontsmetten voorwerp in meer of mindere mate aantasten. Veel voorkomende vormen van aantasting zijn veranderingen in materiaalsterkte, materiaalkleur en afsluitend vermogen. De keuze van de beste ontsmettingsmethode is van aanzienlijk belang.

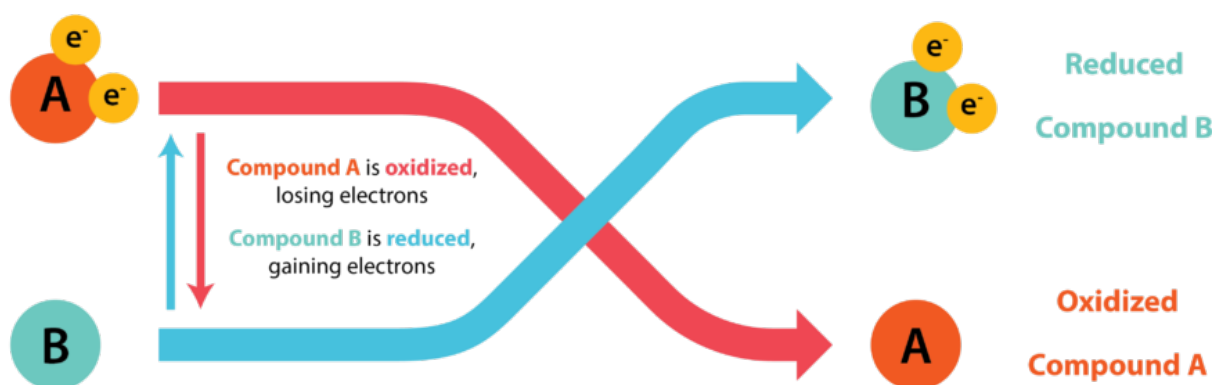
Niet alle vormen van desinfectie zijn geschikt voor endoscopen. Filtratie is alleen geschikt voor oplossingen en veel endoscopen zijn hittegevoelig waardoor thermische desinfectie ook niet mogelijk is. Straling met UV-C licht is zeer geschikt voor het desinfecteren van de buitenkant van endoscopen, zoals de D60 van UV Smart laat zien [16]. UV-C licht is echter niet in staat door te dringen in de werkkanalen waardoor dit geen geschikte vorm van desinfectie is voor deze kanalen. Het desinfecteren van de werkkanalen zal daarom met behulp van chemische desinfectie moeten gebeuren.

2.3 Oxidatie

Veel chemische desinfectiemethodes maken gebruik van vloeibare chemicaliën die na het desinfectieproces verwijderd moeten worden. Dit gebeurt meestal door het te desinfecteren voorwerp na te spoelen met steriel water, waarna het desbetreffende voorwerp gedroogd kan worden. Ondanks het gebruik van steriel water kunnen sporen die zijn achtergebleven in het desinfectieproces voor herbesmetting van het voorwerp zorgen. Vooral bij voorwerpen waarbij het drogen lang duurt, zoals de werkkanalen van endoscopen, is dit een probleem. In dit onderzoek wordt daarom gefocust op desinfectiemethodes waarbij niet nagespoeld of gedroogd hoeft te worden. Daarnaast is rekening gehouden met het programma van eisen zoals weergegeven in

paragraaf 1.3. In paragrafen 2.4 t/m 2.6 worden een aantal van mogelijke desinfectiemethodes besproken. Hoewel deze methodes wel degelijk verschillend zijn en andere voor- en nadelen hebben, maken ze allemaal gebruik van het zelfde antimicrobiële principe: oxidatie.

Oxidatie is een chemisch proces waarbij elektronen van een stof worden weggenomen. De weggenomen elektronen worden door een andere stof opgenomen, dit proces heet reductie. Oxidatie en reductie gaan altijd met elkaar gepaard, de ene stof neemt de elektron van de andere stof over. De stof die elektronen afstaat wordt de reductor genoemd en de stof die de elektronen ontvangt de oxidator. De samengang van oxidatie en reductie wordt een redoxreactie genoemd. In figuur 2.1 is de redoxreactie visueel weergegeven.



Figuur 2.1: Visuele weergave van een redoxreactie. stof A wordt geoxideerd door elektronen af te staan aan stof B. Stof B wordt dus gereduceerd door stof A [17].

Voor het optreden van een redoxreactie moet er een onevenredigheid in redoxpotentiaal tussen twee stoffen zijn. De redoxpotentiaal van een stof geeft aan in welke mate die stof elektronen wil opnemen of afstaan. Een positieve redoxpotentiaal betekent dat de stof elektronen wilt opnemen en een negatieve redoxpotentiaal dat de stof elektronen wilt afstaan. Redoxpotentiaal wordt uitgedrukt in volt [17].

Vrije radicalen zijn atomen, moleculen of ionen die te minste één ongepaard elektron hebben. Dit ongepaarde elektron geeft deze vrije radicalen een hoge redoxpotentiaal waardoor deze zeer reactief zijn. Vanwege de hoge redoxpotentiaal zijn vrije radicalen zeer schadelijk voor cellen van (micro-)organismen omdat ze moleculen en atomen in en rondom de cellen kunnen oxideren [18]. Vrije radicalen komen natuurlijk voor in en rondom cellen. Om te voorkomen dat deze vrije radicalen schade aanbrengen aan de cel, hebben cellen een antioxidant-afweermechanisme dat de oxiderende werking van de vrije radicalen tegengaat. Als er echter teveel vrije radicalen of andere oxidatoren in de buurt zijn, komt een cel in een toestand van oxidatieve stress [19]. Oxidatieve stress kan leiden tot oxidatie en beschadiging van alle onderdelen van de cel waaronder lipiden, eiwitten en DNA. Ernstige oxidatieve stress kan celdood veroorzaken [20].

Eiwitten zijn belangrijk voor het goed functioneren van een cel. Eiwitten kunnen verschillende functies binnen een cel hebben: ze komen voor als enzymen, als afweerstoffen of als bouwstoffen [21]. Vrije radicalen en andere oxidatoren kunnen eiwitten aantasten, wat de functie van het eiwit kan ontwrichten. Het oxideren van een eiwit kan leiden tot het ontvouwen van het eiwit en het veranderen van de structuur. Hierdoor kan de werking van het eiwit, en de interactie van het eiwit met de cel veranderen, wat de cel in gevaar kan brengen [19][20].

Lipiden zijn vetachtige stoffen die verschillende doeleinden in de structuur en de functies van organismen kunnen hebben. Lipiden vormen de basis van zowel cellulaire als organellaire membranen [21]. Vrije radicalen en andere oxidatoren kunnen in zowel cellulaire als organellaire membranen lipideperoxidatie veroorzaken. Lipideperoxidatie is een kettingreactie waarbij lipidebeschadiging optreedt. Dit kan resulteren in de inactivatie van membraangebonden receptoren en enzymen, waardoor de normale cellulaire werking wordt aangetast. In het geval van ernstige oxidatieve stress kunnen zowel cellulaire als organellaire membranen zelfs volledig uit elkaar vallen [19][20].

DNA staat voor desoxyribonucleïnezuur en is een nucleïnezuur dat de erfelijke informatie van een organisme bevat. Het is opgebouwd uit twee lange strengen nucleotiden die samen een dubbele helix vormen. Er zijn vier soorten nucleotiden die allemaal een andere nucleobase bevatten. De volgorde van de verschillende nucleotiden in de DNA streng bepaalt de genetische code die het DNA bevat [22]. Vrije radicalen en andere oxidatoren kunnen de nucleotiden in het DNA aantasten. Het aantasten van de nucleotiden kan zowel voor strengbreuken als voor wijzigingen in de nucleobasen zorgen waardoor het DNA beschadigd raakt. Cellen zijn in staat DNA te repareren maar als de oxidatieve stress te hoog is kan permanente DNA-schade optreden. DNA-schade zorgt voor veranderingen in de gecodeerde informatie, wat kan leiden tot celinactivatie en en celdood [19][20].

Het vermogen om zowel eiwitten, Lipiden als DNA aan te tasten en de werking ervan te verstoren maakt oxidatie een uiterst geschikte methode voor desinfectie. Hoe sterk de antimicrobiële werking van een oxiderende stof is hangt af van het aantal reactieve deeltjes in de stof en de redoxpotentiaal van deze deeltjes.

2.3.1 Reactieve zuurstofcomponenten

Reactieve zuurstofcomponenten, afkorting ROS (voor het Engelse ‘reactive oxygen species’) zijn een belangrijke groep oxidatoren met zuurstof als belangrijkste component. Er zijn veel verschillende ROS. De vorming van ROS begint over het algemeen bij de reductie van moleculair zuurstof (O_2) waarbij superoxide ($\bullet O_2^-$) wordt gevormd zoals weergegeven in vergelijking 2.2 [23]:



In een vochtige omgeving kan superoxide vervolgens doorreageren tot waterstofperoxide H_2O_2 volgens de reactie weergegeven in vergelijking 2.3 [23]:



Waterstofperoxide kan op zijn beurt gedeeltelijk worden gereduceerd, waarbij hydroxide-ionen (OH^-) en hydroxylradicalen ($\bullet\text{OH}$) worden gevormd, of volledig worden gereduceerd tot water (H_2O). Vergelijking 2.4 geeft de gedeeltelijke reductie en vergelijking 2.5 de volledige reductie van waterstofperoxide weer [23]:



De reacties weergegeven in vergelijking 2.2, 2.3 en 2.5 kunnen ook omgekeerd plaatsvinden waarbij water wordt geoxideerd tot waterstofperoxide. ROS kunnen onderling verder doorreageren tot andere ROS die niet in de vergelijkingen hierboven zijn opgenomen [23].

ROS komen normaal in kleine hoeveelheden voor in cellen en zijn een natuurlijk bijproduct bij het metabolisme in een cel. Ze spelen een rol bij homeostase en het doorgeven van signalen binnen een cel. Hoge hoeveelheden ROS in een cel leiden tot oxidatieve stress [24].

2.3.2 Reactieve stikstofcomponent

Een andere belangrijke groep oxidatoren zijn reactieve stikstofcomponenten, afkorting RNS (voor het Engelse ‘reactive nitrogen species’). Net zoals ROS zijn deze zeer reactief maar in plaats van zuurstof hebben RNS stikstof als belangrijkste component. RNS en ROS zijn direct met elkaar verbonden. De vorming van RNS gebeurt over het algemeen via peroxynitriet (ONOO^-) dat gevormd wordt via de reactie tussen stikstofmonoxide ($\bullet\text{NO}$) en superoxide ($\bullet\text{O}_2^-$), een ROS. Dit staat weergegeven in vergelijking 2.6 [25]:



Peroxynitriet kan vervolgens via vergelijking 2.7 [25] doorreageren tot peroxysalpeterigzuur (ONOOH):



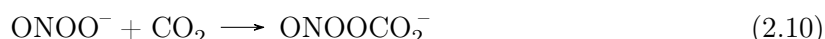
Peroxysalpeterigzuur kan op zijn beurt via vergelijking 2.8 [25] doorreageren tot stikstofdioxide ($\bullet\text{NO}_2$) en hydroxylradicaal:



Stikstofdioxide kan daaropvolgend samen met stikstofmonoxide via vergelijking 2.9 [25] doorreageren tot distikstoftrioxide N_2O_3 :



Peroxynitriet kan ook via vergelijking 2.10 [25] met koolstofdioxide CO_2 reageren tot nitrosoperoxycarbonaat ONOOCO_2^- :



RNS komen vaak voor in combinatie met ROS. Zowel ROS als RNS zijn in grote hoeveelheden zeer schadelijk voor cellen. De schade die RNS aan cellen creëren wordt nitrosatieve stress genoemd en is vergelijkbaar met oxidatieve stress [26].

In de paragrafen 2.4 tot en met 2.6 worden drie mogelijke desinfectiemethodes (ozon, waterstofperoxidedamp en plasma geactiveerd gas) besproken.

2.4 Ozon

Ozon (O_3) is een uit drie zuurstofatomen opgebouwde stof die in de natuur voorkomt. Ozon wordt gevormd wanneer zuurstof wordt blootgesteld aan elektrische ontladingen met hoge energieën of UV-C straling met een golflengte van 240 nm. In de natuur ontstaat ozon tijdens onweer (elektrische ontlading) en in de stratosfeer, de bovenste lagen van de atmosfeer, waar zuurstof wordt blootgesteld aan UV-C straling. Ozon is instabiel en valt terug naar zuurstofmoleculen en -atomen met een halfwaardetijd van 22 minuten bij kamertemperatuur [27].

Ozon is een sterke oxidator met een redoxpotentiaal van 2.07 mV [28] waardoor het een desinfecterende werking heeft. Ook de zuurstofatomen die bij het verval van ozon ontstaan zijn sterk oxiderend. Het desinfecterende proces van ozon bestaat uit twee processen. Ten eerste gaat ozon een reactie aan met het microbiële celmembraan. Hierbij wordt de membraanstructuur beschadigd wat verstoring van het metabolisme veroorzaakt. Daarnaast infiltreert ozon het celmembraan, waarna het lipoproteïne en lipopolysaccharide vernietigt en de permeabiliteit van

de celwand aantast, wat resulteert in cytolyse en celdood [29]. Naast de ozon zelf hebben de zuurstofatomen die ontstaan bij het verval van ozon ook een desinfecterende werking. De zuurstofatomen reageren met de nucleïnezuren in de cel. Dit resulteert in schade aan het DNA en RNA, wat inactivatie van de cel veroorzaakt. De aanwezigheid van water kan het desinfecterende vermogen van ozon versterken. De ozon kan met het water reageren waarbij verschillende ROS kunnen vormen [30].

Hoewel ozon sterk oxiderend is, zijn relatief hoge concentraties nodig voor het behalen van desinfectie. Voor het behalen van een log 6 reductie in 90 minuten is een concentratie van 500 ppm nodig. Uit onderzoek blijkt dat in combinatie met waterstofperoxide lagere concentraties ozon volstaan bij kortere blootstellingstijden [31].

Het gebruik van ozon voor desinfectie is niet nieuw en wordt al in meerdere toepassingen gebruikt. In 2003 heeft de Food and Drug Administration (FDA) in de VS een sterilisatieproces voor medische apparatuur voor gebruik goedgekeurd. Dit proces duurt 4 uur en 15 minuten bij 30 à 35 °C en is geschikt voor een breed assortiment materialen waaronder: aluminium, keramiek, glas, PVC, teflon, siliconen, en polyethyleen [27]. Ozon wordt ook gebruikt in waterzuiveringsinstallaties. Hiervoor wordt ozon via kleine bubbels (<3 mm) in water opgelost waarna het kan reageren met de micro-organismen in het water. [30].

Hoewel ozon al in meerdere desinfectieprocessen gebruikt wordt heeft het een aantal nadelen. Ozon is zeer giftig en langdurige blootstelling aan ozon kan ernstige gezondheidsproblemen veroorzaken. Relatief lage concentraties van rond de 0,3-0,5 ppm kunnen al pijn doen op de borst en hoesten, kortademigheid en irritatie van de keel veroorzaken. Daarnaast kan ozon ook chronische aandoeningen van de luchtwegen zoals astma veroorzaken, en het vermogen van het lichaam om infecties aan de luchtwegen te bestrijden in gevaar brengen [32]. Bij het gebruik van ozon als desinfectiemiddel is zorgvuldige controle van de ozonconcentraties noodzakelijk. Verder kan ozon niet getransporteerd of opgeslagen worden omdat het zeer instabiel is. De productie van ozon moet dus altijd ter plekke gebeuren [33].

2.5 Waterstofperoxidedamp

Waterstofperoxidedamp is een gasvormige toestand van waterstofperoxide (H_2O_2), een ROS. Het wordt gebruikt als een antimicrobieel gas bij lage temperatuur voor de ontsmetting van ruimtes die afgesloten en verzegelde kunnen worden zoals laboratorium-isolatoren, cleanrooms en interieurs van vliegtuigen [34].

Waterstofperoxidedamp kan op twee manieren worden gecreëerd: als niet-condenserende damp en als aerosolen. Bij niet-condenserende damp wordt in een ruimte 35% H_2O_2 verdampt onder gecontroleerde omstandigheden van temperatuur, luchtvochtigheid en druk, zodat er geen condensatie optreedt. De ruimte met niet-condenserende waterstofperoxidedamp wordt voor

bepaalde tijd afgesloten zodat deze wordt ontsmet. De concentratie waterstofperoxide in de ruimte is in de orde van 200 ppm wat zeer gevaarlijk is voor mensen. Na een bepaalde tijd wordt de kamer doorgeblazen met lucht totdat de concentratie waterstofperoxide laag genoeg is en de ruimte veilig geopend kan worden. Bij het gebruik van aerosolen wordt een nevel met deeltjes van 8 tot 10 μm groot gecreëerd. De nevel bestaat uit 5% H_2O_2 en katalysatoren <50 ppm zilverionen, <50 ppm fosforzuur, <1 ppm arabische gom, in lucht. Na verloop van tijd barsten de aerosolen uiteen en kan de waterstofperoxide reacties aangaan en vervolgens vervallen tot zuurstof en water. Deze methode is nog weinig gebruikt in ziekenhuissituaties en er is nog relatief weinig over bekend [34]. Omdat er verschillende chemicaliën nodig zijn bij het creëren van de aerosolen is naspoelen nodig en voldoet het gebruik van aerosolen niet aan het programma van eisen.

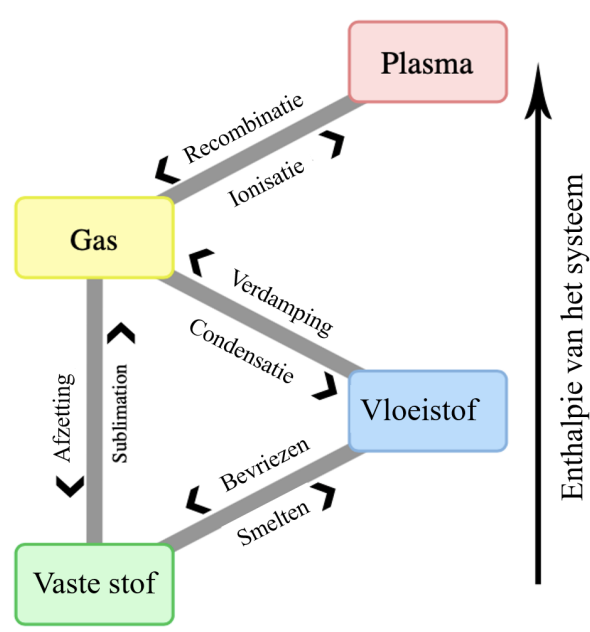
Ontsmetten met waterstofperoxidedamp heeft verschillende voordelen: waterstofperoxidedamp vervalt na verloop van tijd tot water en zuurstof, stoffen die niet toxisch zijn en gemakkelijk kunnen worden verwijderd; het is geschikt voor een breed assortiment materialen; het is relatief goedkoop; en het is effectief tegen veel verschillende micro-organismen [34]. Daarentegen heeft het gebruik van waterstofperoxidedamp ook nadelen: de concentratie nodig voor desinfectie ligt ver boven de 75 ppm, wat als een onmiddellijk gevaar voor de menselijke gezondheid wordt gezien [35]; het creëren van niet-condenserende waterstofperoxidedamp luistert zeer nauw en moet onder gecontroleerde omstandigheden van temperatuur, luchtvochtigheid en druk gebeuren; en het kan alleen worden gebruikt in hermetisch afgesloten ruimtes [34].

2.6 Plasma geactiveerd gas

Plasma geactiveerd gas, afkorting PAG (voor het Engelse ‘plasma activated gas’) is gas dat met behulp van plasma in een aangeslagen toestand is gebracht. Voordat de desinfecterende werking van PAG wordt besproken zal eerst uitgelegd worden wat plasma is en hoe PAG opgewekt kan worden.

2.6.1 Plasma

Plasma is een fase waarin de deeltjes van een gasvormige stof gedeeltelijk of volledig geïoniseerd zijn. Hierdoor bevat plasma een significante hoeveelheid ionen en losse elektronen. Plasma wordt vaak de vierde aggregatietoestand genoemd. Plasma onderscheidt zich van de drie traditionele aggregatietoestanden (gas, vloeistof, vaste stof) door de aanwezigheid van grote hoeveelheden geladen ionen en losse elektronen. In tegenstelling tot de drie traditionele aggregatietoestanden is de faseovergang tussen gas en plasma continu en kan plasma alleen vanuit gas gevormd worden. In figuur 2.2 zijn de drie traditionele aggregatietoestanden en plasma met bijbehorende faseovergangen weergegeven. Plasma is de meest voorkomende aggregatietoestand in het heelal en wordt vaak geassocieerd met sterren en de zon [36].



Figuur 2.2: De vier aggregatietoestanden en de faseovergangen ertussen [37].

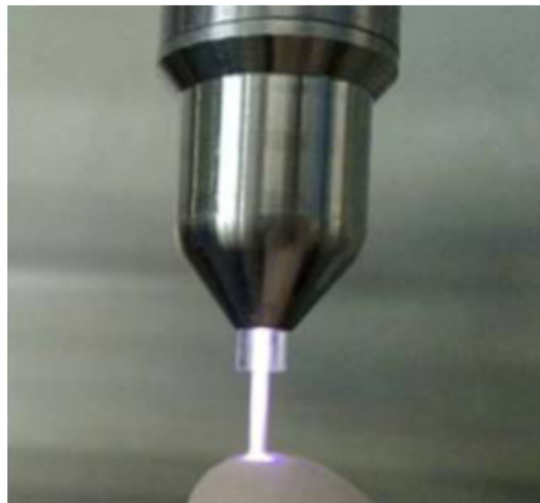
Een stof in de gasfase is het neutraal en elk atoom heeft een gelijk aantal positieve protonen en negatieve elektronen. De protonen bevinden zich in de kern van het atoom en de elektronen bewegen daar omheen. In een plasma is bij een deel van de atomen een of meerdere elektronen losgeslagen en die kunnen vrij door de ruimte bewegen. Een atoom of molecuul waarvan een of meerdere elektronen zijn losgeslagen heet geïoniseerd. Als er zoveel atomen en/of moleculen geïoniseerd zijn dat het elektrische karakter van het gas waarneembaar veranderd is, spreek men van plasma. Er zijn veel verschillende soorten plasma's te onderscheiden die allemaal hun eigen karakteristieken hebben. Hierbij spelen onder andere het type atomen, de energie van de deeltjes en de verhouding tussen het aantal neutrale en geïoniseerde atomen een rol [36].

Er zijn twee types plasma te onderscheiden: thermisch en niet-thermisch. In thermisch plasma is het gas volledig geïoniseerd waardoor de temperatuur van het gas en de elektronen gelijk zijn. Dit type plasma bereikt zeer hoge temperaturen tussen de 10.000 en 100.000 K en komt bijvoorbeeld voor bij kernfusie in de zon. Bij niet-thermische plasma is een gas gedeeltelijk geïoniseerd en ver van thermodynamisch evenwicht. De temperatuur van de elektronen is vergelijkbaar met die van thermisch plasma, maar de temperatuur van het gas ligt tussen de 300 en 1000 K. Op macroschaal is alleen de gastemperatuur meetbaar. Over het algemeen kunnen niet-thermische plasma's in twee categorieën worden verdeeld: lage druk plasma's en atmosferische druk plasma's [36]. Lage druk plasma's kunnen langer blijven bestaan omdat er minder deeltjes per volume aanwezig zijn, waardoor er minder botsingen plaatsvinden. Hierdoor zullen de geïoniseerde deeltjes minder reacties aangaan waarbij deze deeltjes terug vallen naar hun neutrale toestand en zal de plasma langer blijven bestaan. Bij zowel atmosferische als lage druk plasma is niet meer dan 0,1% van deeltjes geïoniseerd [38] Het nadeel van lage druk plasma's is dat deze alleen kunnen vormen in drukkamers met zeer lage druk, dicht bij vacuüm [36].

2.6.2 Cold Atmospheric Plasma

Cold Atmospheric Plasma (CAP) is een subgroep van niet-thermische plasma die bestaat bij atmosferische druk en temperaturen lager dan van 150 °C [39]. CAP wordt opgewekt door het ioniseren van een stabiel gas met behulp van elektrische energie. Vaak worden edelgassen zoals argon of helium voor CAP gebruikt, maar ook lucht kan als gas gebruikt worden. Er zijn verschillende methodes waarmee CAP opgewekt kan worden. Enkele methodes zijn: ‘corona discharge’, ‘glow discharge’ en ‘arc discharge’. Hoewel deze methodes wel degelijk van elkaar verschillen werken ze allemaal met hetzelfde principe waarbij de ontlading van een zeer hoge spanning het gas ioniseert [40]. De onderlinge verschillen zullen niet in dit rapport besproken worden.

Een veel voorkomende techniek om CAP toe te passen is via een ‘Atmospheric pressure plasma jet’ (APPJ). Dit is een techniek waarbij de CAP in een zogeheten plasma-pen wordt opgewekt en onder druk uit de pen wordt geschoten. Hierbij ontstaat een lichtgevende plasma-jet die in de openlucht enkele centimeters lang kan zijn. In figuur 2.3 is foto van een APPJ weergegeven. APPJ's worden onder andere toegepast in materiaalbewerking en geneeskunde, waar deze voor verschillende applicaties worden gebruikt, bijvoorbeeld voor desinfectie [41].



Figuur 2.3: Een foto van een ‘Atmospheric pressure plasma jet’ (APPJ) [42].

De interactie van geïoniseerde atomen en moleculen en vrije elektronen met neutrale atomen en moleculen in zowel de lucht als plasma resulteert in de vorming van vrije radicalen, ROS en RNS [43]. De aanwezigheid van vrije radicalen, ROS en RNS geeft CAP een antimicrobiële werking (zie paragraaf 2.3). De antimicrobiële werking van CAP is zo sterk dat er mee gesteriliseerd kan worden en dat resistentie van micro-organismen tegen CAP nog niet is waargenomen [44]. Het vermogen om bij lage temperaturen en atmosferische druk te werken, en de antimicrobiële en celdodende werking geven CAP een breed scala aan mogelijke toepassingen in de medische wereld. Het gebruik van plasma in de geneeskunde is een opkomend gebied. Toepassingen waarbij CAP

gebruikt wordt zijn onder andere het desinfecteren en steriliseren van medische apparatuur, het behandelen van wonden en het bestrijden van kanker [43].

2.6.3 Plasma geactiveerde media

Omdat CAP bij atmosferische druk werkt kan het maar kort bestaan voordat het terugvalt naar de gastoestand. Hierdoor kan de plasma zelf maar op een kleine afstand (<5 cm) gebruikt worden. CAP is echter wel in staat te reageren met deeltjes in andere media waarbij reactieve componenten zoals ROS en RNS ontstaan. Zulke media worden plasma geactiveerde media (afkorting PAM voor het Engelse ‘plasma activated medium’) genoemd. PAM heeft net zoals CAP een antimicrobiële werking al is deze door een lagere concentratie reactieve deeltjes minder sterk [45]. Met behulp van PAM kan de desinfecterende werking van CAP ook op grotere afstanden worden gebruikt. Twee belangrijke vormen van PAM zijn plasma geactiveerd gas (PAG) en plasma geactiveerd water (PAW).

Wanneer een CAP terugvalt naar de gastoestand zijn er niet meer genoeg geïoniseerde atomen en moleculen aanwezig om te spreken van een plasma maar er zijn nog steeds ROS, RNS en vrije radicalen in het gas aanwezig. Dit gas wordt plasma geactiveerd gas genoemd [46]. Hoewel er verschillende ROS, RNS en vrije radicalen aanwezig zijn in PAG is het relatief veilig te gebruiken, omdat de concentraties van de individuele stoffen laag zijn en in open lucht snel vervallen en diffuseren. Wanneer CAP in aanraking komt met water vormen er ROS in het water. Als er genoeg ROS in het water zijn is er sprake van PAW. Naast het vormen van ROS in het water daalt dan ook de pH-waarde van het water [47]. PAW kan ook indirect via PAG gevormd worden. Hierbij reageren de reactieve deeltjes in het PAG met de atomen en moleculen in het water en vormen ROS waardoor er PAW ontstaat [46].

Zowel PAG en PAW hebben een antimicrobiële werking waardoor ze voor desinfectie kunnen worden gebruikt. Door de grotere werkafstand is PAG mogelijk geschikt voor werkanalen van endoscopen. Het PAG kan met behulp van de CAP uit een APPJ worden opgewekt en door het werkkanaal van een endoscoop geleid worden. Een mogelijk bijkomend voordeel van het toepassen van PAG tijdens het drogen van de endoscoop is dat het nog aanwezige water voor PAW kan zorgen, wat de desinfecterende werking versterkt. Uit onderzoek blijkt dat PAG opgewekt met argon-CAP binnen 9 minuten een logreductie van meer dan 8 kan behalen [46].

3 | Methode

3.1 Gekozen methode

Aan de hand van het literatuuronderzoek is gekozen om desinfectie met behulp van ‘plasma activated gas’ (PAG) op basis van perslucht verder te onderzoeken. De in hoofdstuk 2 besproken desinfectiemethodes zijn in tabel 3.1 uitgezet tegen de gestelde eisen en wensen zoals beschreven in paragraaf 1.3. Hierin is te zien dat PAG het meest voldoet aan de gestelde eisen en wensen. Daarnaast is het gebruik van plasma in de medische wereld een opkomende en snel groeiende technologie met potentie voor de toekomst. Het is daarom interessant het gebruik van deze technologie verder te onderzoeken.

Tabel 3.1: De drie onderzochte desinfectiemethodes en de gestelde eisen en wensen uit het programma van eisen.

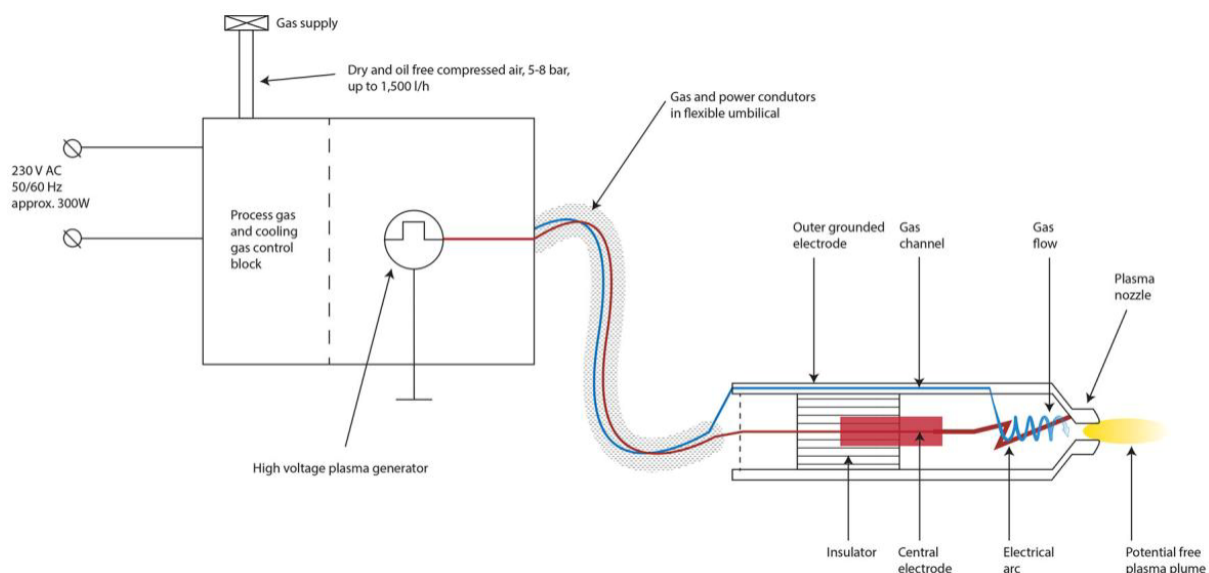
	Ozon	H ₂ O ₂	PAG
Eisen			
levert geen schade op aan endoscopen	✓	✓	✓
werkt bij lage temperaturen (< 60 °C)	✓	✓	✓
kan geïmplementeerd worden tijdens het drogen van de endoscoop	✓		✓
laat geen onveilig residu voor mensen achter waardoor naspoelen niet nodig is	✓	✓	✓
kan moeilijk bereikbare plekken bereiken	✓	✓	✓
kan gecombineerd worden met UV-C desinfectie voor de buitenkant van de endoscoop	✓	✓	✓
Wensen			
werkt snel (< 30 min)			✓
gebruikt geen (grond)stoffen met hoge kosten	✓	✓	✓
gebruikt geen schadelijke stoffen voor mens en milieu			✓
vereist geen complexe menselijke handelingen, die de kans op het maken van fouten vergroot			✓

Eerder onderzoek heeft laten zien dat PAG op basis van argon geschikt is voor het desinfecteren van werkkkanalen van endoscopen [46]. In dit onderzoek wordt gekeken of PAG op basis van lucht ook geschikt is voor het desinfecteren van werkkkanalen. Dit wordt gedaan omdat lucht gratis is waardoor het desinfecteren met PAG op basis van lucht kostenefficiënter is dan PAG op basis

van argon. Daarnaast is perslucht in de meeste ziekenhuizen al aanwezig. De methode wordt getest aan de hand van een proof-of-concept. Het doel van deze proof-of-concept is beoordelen of PAG op basis van lucht een geschikte methode is voor het desinfecteren van werkanalen van endoscopen en of deze methode interessant is om verder te onderzoeken.

3.1.1 Plasmagenerator

Het ontwerpen van een plasmagenerator is een onderzoek an sich, daarom is er voor dit onderzoek gekozen om gebruik te maken van een op de markt beschikbare plasmagenerator. Voor dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van de ‘Cirrus Atmospheric Plasma System’ van Henniker plasma. Dit is een plasma APPJ systeem op basis van perslucht. In figuur 3.1 staat een schematische weergave van de Cirrus Atmospheric Plasma System.

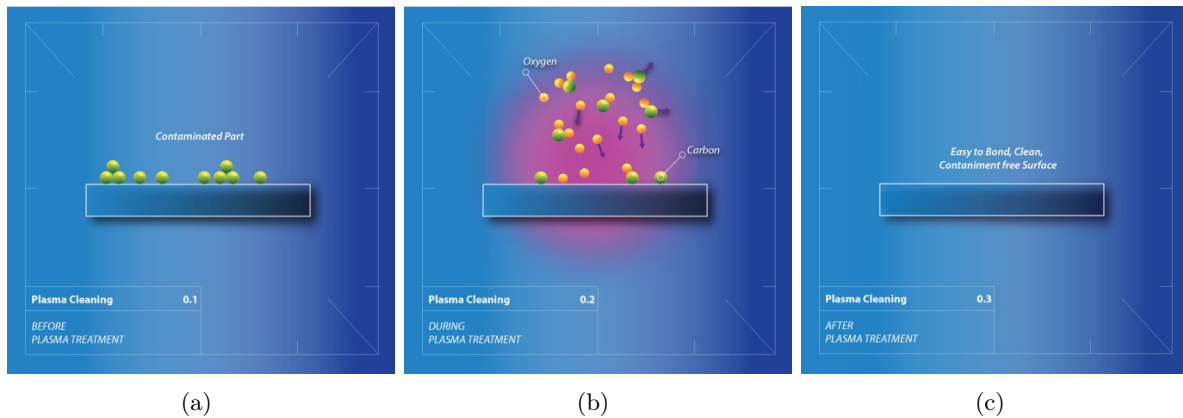


Figuur 3.1: Schematische weergave van de ‘Cirrus Atmospheric Plasma System’ [48].

Het plasma wordt opgewekt in de plasma-pen met behulp van ‘arc discharge’. Op de ‘central electrode’ wordt een wisselspanning van enkele kilovolts aangebracht met een frequentie van 40 kHz. De central electrode wordt vervolgens via een ‘electrical arc’ ontladen naar de ‘outer grounded electrode’. De perslucht stroomt langs deze electrical arc waarbij plasma gevormd wordt dat vervolgens in de vorm van een plasma-jet uit de ‘plasma nozzle’ stroomt [48]. Het vermogen van de plasmagenerator is 300 W.

De Cirrus Atmospheric Plasma System is ontworpen voor ‘Plasma Surface Activation’ en ‘Plasma Cleaning’ en niet voor desinfectie. Plasma cleaning werkt echter volgens hetzelfde principe als plasma desinfectie: met behulp van oxidatie. Bij plasma cleaning gaan ROS en RNS een reactie aan met koolstofatomen op het oppervlak waardoor de binding van deze atomen aan het oppervlak verbroken en meegenomen wordt door de lucht [48]. In figuur 3.2 wordt het proces

van plasma cleaning schematisch weergegeven. In de CAP van de Cirrus Atmospheric Plasma System vormen ROS en RNS waardoor deze ook voor desinfectie geschikt zou moeten zijn.



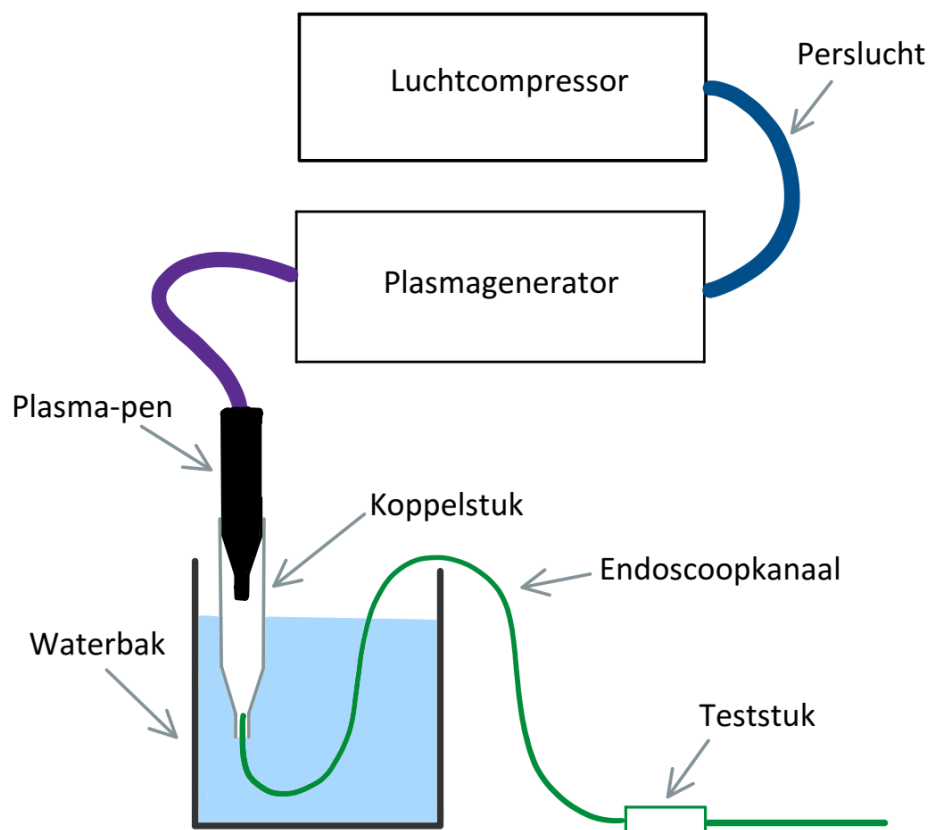
Figuur 3.2: Visuele weergave van plasma cleaning. (a) Vóór plasma cleaning, (b) tijdens plasma cleaning en (c) na plasma cleaning [48].

3.2 Ontwerp testopstelling

Voor het uitvoeren van het proof-of-concept is een testopstelling ontworpen. In figuur 3.3 is de testopstelling schematisch weergegeven. De testopstelling bestaat uit zeven onderdelen:

1. Luchtcompressor
2. Plasmagenerator
3. Plasma-pen
4. Koppelstuk tussen plasma-pen en endoscoopkanaal
5. Endoscoopkanaal
6. Waterbak
7. Teststuk

In de luchtcompressor wordt lucht samengeperst tot perslucht met een druk van 8 bar. Met de drukregelaar op de compressor wordt perslucht met een druk van 6 bar aan de plasmagenerator gekoppeld. In de plasmagenerator wordt met behulp van de plasma-pen een CAP-jet opgewekt. De CAP die uit de plasma-pen komt creëert PAG die met behulp van een aluminium koppelstuk het endoscoopkanaal in wordt geleid. Het koppelstuk en een stuk van het endoscoopkanaal hangen in een bak met water die dient als koelmechanisme, dit omdat de CAP in dit onderzoek relatief warm is: circa 130 °C en dat is in strijd met de 60 °C gesteld in het programma van eisen. Via het endoscoopkanaal stroomt het PAG naar het teststuk dat besmet is met micro-organismen. Na het teststuk komt een tweede stuk endoscoopkanaal om het PAG af te voeren.



Figuur 3.3: Schematische weergave van de gebruikte testopstelling.

De in dit onderzoek gebruikte luchtcompressor is een ‘Airpress HL 310-25 compressor’. De plasmagenerator die wordt gebruikt is een ‘Cirrus Single Nozzle Atmospheric Plasma System’ van Henniker plasma, de werking hiervan wordt beschreven in paragraaf 3.1.1. Als benadering van het endoscoopkanaal wordt gebruik gemaakt van een PTFE (Teflon) slang van ‘Tameson’ met een binnendiameter van 5 mm en een lengte van 1 m. Het koppelstuk is van aluminium, op maat gedraaid en zelfontworpen. Er worden twee verschillende teststukken gebruikt, één voor de metingen in een vochtige situatie en één voor de metingen in een droge situatie (meer hierover in paragraaf 3.3). Voor de vochtige metingen wordt gebruik gemaakt van steriele 250 mL laboratoriumflessen. Voor de droge metingen is een kunststof (PLA) teststuk ontworpen en 3D-geprint waar een microscoopglasje in geplaatst kan worden.

3.3 Meetmethode

Het proof-of-concept is getest met micro-organismen waarbij de tijd dat de micro-organismen blootgesteld worden aan het PAG gevarieerd is. Dit is gedaan bij twee verschillende laboratoria. Eerst is er bij Streeklab Haarlem gemeten, een laboratorium voor de medische microbiologie, maar na een moeizame samenwerking is gekozen om de samenwerking stop te zetten en verder te

testen bij Balis Micro B.V., een laboratorium gespecialiseerd in microbiologische en chemische analyse. De meetmethodes toegepast bij de twee laboratoria worden hieronder toegelicht.

3.3.1 Streeklab Haarlem

Het proof-of-concept is bij Streeklab Haarlem getest in een droge situatie. Dit wil zeggen dat er geen vocht in het endoscoopkanaal of teststuk aanwezig was. Bij deze metingen is gebruik gemaakt van het teststuk waar een microscoopglasje in kan. Voor deze test zijn vijf verschillende microscoopglasjes op twee losse gebieden besmet met *staphylococcus aureus* (ST) bacteriën. Vier van de glasjes zijn blootgesteld aan het PAG, elk voor een andere tijd. Het vijfde glasje is niet blootgesteld aan het PAG en is gebruikt als controlegroep. De geteste blootstellingstijden bij Streeklab Haarlem zijn 30, 60, 120 en 240 seconden.

Na het blootstellen aan het PAG werden de besmette gebieden van zowel de behandelde glasjes als het controleglasje afgenomen met een vochtig wattenstaafje en uitgestreken op een bloed-agar voedingsbodem. Elk besmet gebied is uitgestreken op één helft van een voedingsbodem zodat de twee gebieden van een microscoopglasje op één voedingsbodem zitten. De voedingsbodems worden vervolgens gedurende drie dagen opgekweekt bij een temperatuur van 30 °C. Na het opkweken wordt gekeken of er een verschil is in bacteriegroei tussen de behandelde plaatjes en het controleplaatje. De resultaten van deze test zijn weergegeven in paragraaf 4.2.

3.3.2 Balis Micro B.V.

Het proof-of-concept is bij Balis Micro B.V. bij langere blootstellingstijden van 15 en 30 minuten getest. Hier is het proof-of-concept in een droge en een vochtige situatie getest om het effect van water in in het endoscoopkanaal te onderzoeken. Daarnaast is ervoor gekozen om het proof-of-concept met twee verschillende bacteriën te testen: *staphylococcus aureus* (ST) en *pseudomonas aeruginosa* (PS). Een overzicht van de testen is weergegeven in tabel 3.2.

Tabel 3.2: De met het proof-of-concept uitgevoerde testen.
ST is *staphylococcus aureus* en PS is *pseudomonas aeruginosa*

situatie	Vochtig				Droog			
bacterie	ST		PS		ST		PS	
tijd (min)	15	30	15	30	15	30	15	30

Van zowel de ST als de PS is een bacteriesuspensie in fysiologische zoutoplossing gemaakt. Voor de vochtige metingen zijn zes steriele flessen van 250 mL met 100 µL suspensie besmet. Drie flessen zijn besmet met ST en drie met PS. Twee van de drie flessen van zowel de ST als de PS worden vervolgens aan de PAG blootgesteld. De derde fles wordt als controle gebruikt voor het berekenen van de logreductie.

Voor de droge metingen is 100 μ L van de bacteriesuspensie aangebracht op zes steriele microscoopglasjes. Vervolgens zijn deze glasjes ingedroogd bij 37 °C gedurende 30 minuten. Drie van de microscoopglasjes zijn besmet met ST en drie met PS. Van zowel de ST als de PS worden twee van de drie glasjes aan het PAG blootgesteld. Het derde glasje wordt als controle gebruikt voor het berekenen van de logreductie.

Zowel de flessen als de microscoopglasjes worden, nadat deze zijn blootgesteld aan het PAG, gespoeld met 9 mL pepton fysiologische zoutoplossing om de oplossing te kunnen uitplaten op een voedingsbodem. Dit is gedaan met behulp van een ‘spiral plater’. De voedingsbodem is vervolgens gedurende 3 dagen opgekweekt bij 30 °C. Na het opkweken worden de kolonievormende eenheden (KVE) geteld en de concentratie in KVE/mL berekend. De logreductie behaald bij de verschillende blootstellingstijden kan dan met behulp van vergelijking 2.1 berekend worden. De resultaten van de metingen zijn weergegeven in paragraaf 4.3. De bij deze testen gebruikte voedingsbodems zijn tryptone soya agar in 9 cm petrischalen. De gebruikte spiral plater is een Eddy Jet 2W van IUL.

3.3.3 Temperatuur

Een van de eisen voor de nieuwe desinfectie methode is dat de temperatuur onder de 60 °C blijft. Daarom is, naast het testen van het proof-of-concept met micro-organismen, het temperatuurverloop in het teststuk voor de droge test (microscoopglasjes) gemeten voor een periode van 30 minuten. Dit is gedaan met behulp van een Westmark digitale kernthermometer. De temperatuursensor wordt in het teststuk geplaatst en de tijd die het kost om de temperatuur met twee graden Celsius toe te laten nemen wordt genoteerd. Als die tijd langer dan 1 minuut is wordt de temperatuur na elke minuut genoteerd. Het gemeten temperatuurverloop is weergegeven in paragraaf 4.1. De temperatuur in het teststuk voor de vochtige meting is tijdens het testen van het proof-of-concept gemeten. Hierbij is alleen de maximale temperatuur in het teststuk genoteerd.

3.3.4 Onzekerheidsanalyse

De metingen uitgevoerd bij Streeklab Haarlem hebben een grote en niet kwantificeerbare onzekerheid omdat dit een visuele test betreft. De concentraties gemeten bij Balis Micro B.V. hebben een onzekerheid van $\pm 10\%$ met een minimum meetbare concentratie van 100 KVE [49]. Met behulp van de calculusmethode [50] kan een vergelijking opgesteld worden waarmee de onzekerheid van de logreductie berekend kan worden op basis van de onzekerheid van de concentraties. De vergelijking voor het berekenen van de onzekerheid in de logreductie is weergegeven in vergelijking 3.1.

$$\alpha_R = \frac{\sqrt{\left(\frac{\alpha_{c_n}}{c_n}\right)^2 + \left(\frac{\alpha_{c_0}}{c_0}\right)^2}}{\ln(10)} \quad (3.1)$$

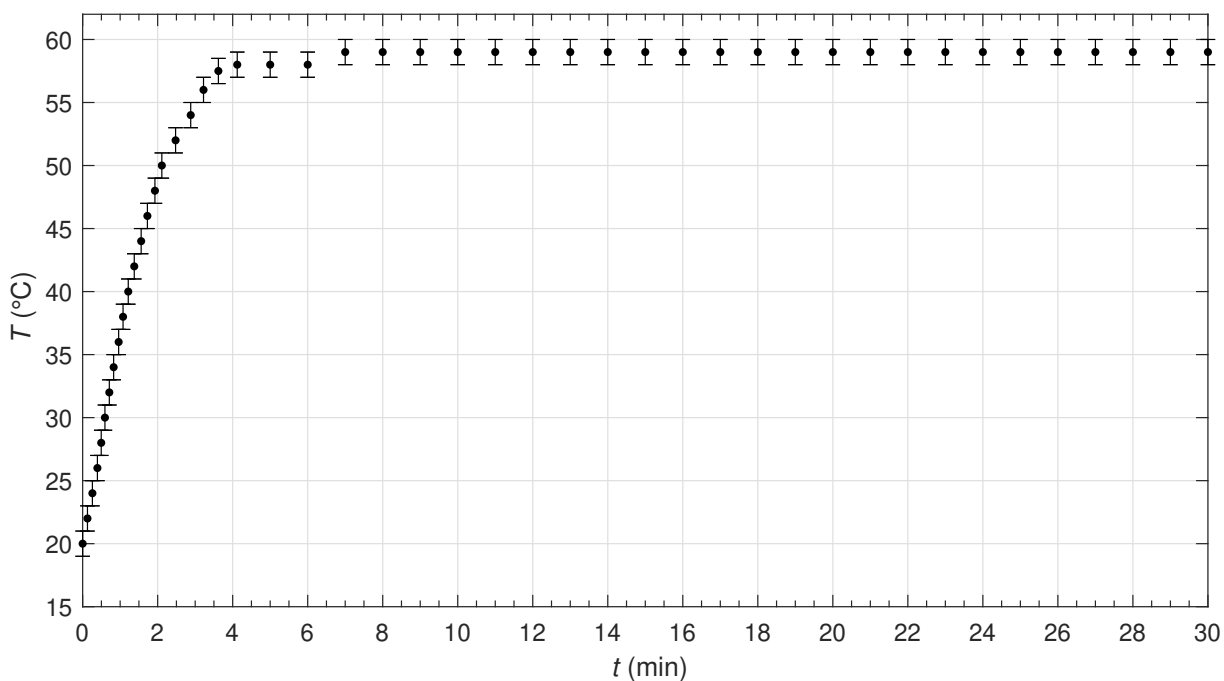
Hierin is α_R de onzekerheid in de logreductie, c_n de concentratie na het ontsmettingsproces en α_{c_n} de bijbehorende onzekerheid, c_0 de concentratie voor het ontsmettingsproces α_{c_0} de bijbehorende onzekerheid. De concentraties zijn in kolonievormende eenheden per milliliter (KVE/mL) en de onzekerheden zijn dimensieloos.

De onzekerheid van de Westmark digitale kernthermometer is niet bekend vanuit de literatuur. Het kleinste verschil dat de thermometer kan geven is 1 °C, de onzekerheid van deze thermometer wordt daarom geschat op ± 1 °C.

4 | Resultaten

4.1 Temperatuurverloop

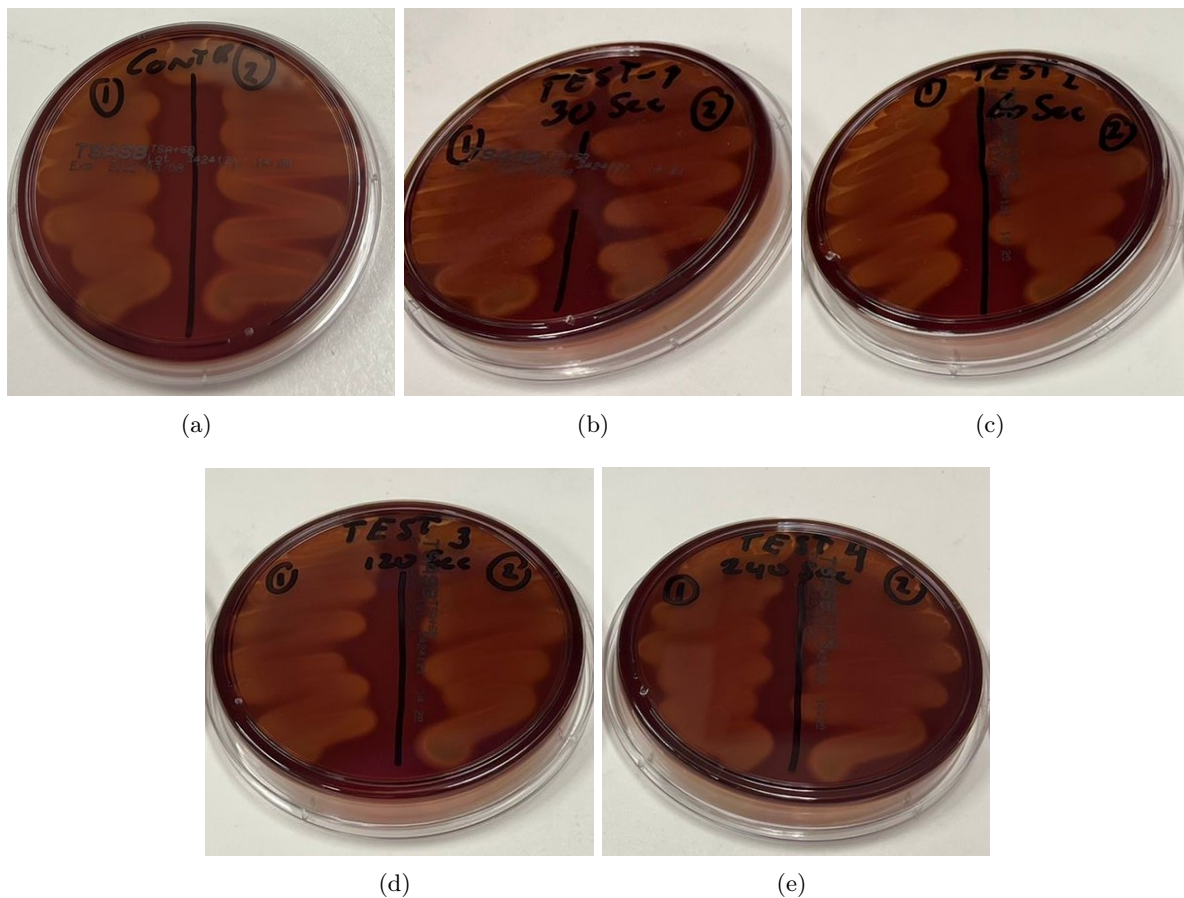
Het temperatuurverloop binnen het teststuk is weergegeven in figuur 4.1. Hierin is te zien dat de temperatuur in de eerste 5 minuten toeneemt tot een temperatuur van 59 ± 1 °C en daarna op deze temperatuur stabiliseert. De temperatuur blijft dus onder de 60 °C zoals gesteld in het programma van eisen.



Figuur 4.1: Temperatuurverloop binnen het teststuk gedurende 30 minuten. T is de temperatuur in °C en t de tijd in minuten.

4.2 Steeklab Haarlem

De resultaten van de metingen bij Steeklab Haarlem zijn weergegeven in figuur 4.2. Hierin is te zien dat er geen significant verschil is in de bacteriegroei tussen de controlegroep en de verschillende blootstellingstijden. Bij blootstellingstijden tot 240 seconden wordt geen desinfectie behaald.



Figuur 4.2: De opgekweekte voedingsbodems na de bij Streeklab Haarlem uitgevoerde testen. (a) De controle groep, (b) 30 s blootstellingstijd, (c) 60 s blootstellingstijd, (d) 120 s blootstellingstijd en (e) 240 blootstellingstijd.

4.3 Balis Micro B.V.

De resultaten van het proof-of-concept in de vochtige situatie zijn weergegeven in tabel 4.1. Hierin is te zien dat er vanaf 15 minuten een logreductie van meer dan 6 plaatsvindt voor zowel de ST als de PS bacterie. Daarmee is sprake van hoogwaardige desinfectie bij een blootstellingstijd van meer dan 15 minuten. Er is geen significant meetbaar verschil in logreductie tussen 15 en 30 minuten blootstellingstijd. Onder de 100 KVE/mL kan de concentratie niet nauwkeurig bepaald worden, maar er kan wel met zekerheid gezegd worden dat deze concentratie onder de 100 KVE/mL ligt. Dit geldt zowel voor de meting van 15 minuten als voor die van 30 minuten. De maximale temperatuur tijdens de vochtige meting is 57 ± 1 °C en voldoet daarmee aan de gestelde eis in het programma van eisen.

Tabel 4.1: De in de vochtige situatie gemeten concentratie (c) in KVE/mL en bijbehorende log reductie (R) bij verschillende blootstellingstijden (t) aan het PAG voor zowel de staphylococcus aureus (ST) als de pseudomonas aeruginosa (PS) bacterie.

	ST		PS	
t (min)	c (KVE/mL)	R (-)	c (KVE/mL)	R (-)
0	$(4,9 \pm 0,5) \times 10^8$	-	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^8$	-
15	< 100	$> 6,7$	< 100	$> 6,0$
30	< 100	$> 6,7$	< 100	$> 6,0$

De resultaten van het proof-of-concept in de droge situatie zijn weergegeven in tabel 4.2. Net zoals bij de vochtige situatie wordt bij een blootstellingstijd van 15 minuten een logreductie van meer dan 6 gemeten voor zowel de ST als de PS bacterie. Ook in de droge situatie is er bij een blootstellingstijd van meer dan 15 minuten sprake van hoogwaardige desinfectie. Er is geen significant meetbaar verschil in logreductie tussen 15 en 30 minuten blootstellingstijd, net zoals bij de vochtige situatie. Onder de 100 KVE/mL kan de concentratie niet nauwkeurig bepaald worden, maar er kan wel met zekerheid gezegd worden dat deze concentratie onder de 100 KVE/mL ligt. Dit geldt zowel voor de meting van 15 minuten als voor die van 30 minuten.

Tabel 4.2: De in de droge situatie gemeten concentratie (c) in KVE/mL en bijbehorende log reductie (R) bij verschillende blootstellingstijden (t) aan het PAG voor zowel de staphylococcus aureus (ST) als de pseudomonas aeruginosa (PS) bacterie.

	ST		PS	
t (min)	c (KVE/mL)	R (-)	c (KVE/mL)	R (-)
0	$(4,9 \pm 0,5) \times 10^8$	-	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^8$	-
15	< 100	$> 6,7$	< 100	$> 6,0$
30	< 100	$> 6,7$	< 100	$> 6,0$

In de vochtige en in de droge situatie is met een blootstellingstijd van 15 minuten hoogwaardige desinfectie te behalen voor zowel de ST als de PS bacterie.

5 | Discussie

Er zijn een aantal dingen die opvallen in de behaalde resultaten. Uit de eerste testen bij Streeklab Haarlem bleek dat een blootstellingstijd van 4 minuten (240 seconden) niet voldoende was om desinfectie te behalen. De foto's van deze metingen suggereren zelfs dat er geen enkele reductie heeft plaatsgevonden. Bij de tweede set metingen bij Balis Micro B.V. is er daarom voor gekozen om langere blootstellingstijden te testen. De resultaten behaald bij Balis Micro B.V. laten zien dat er met 15 minuten blootstellingstijd hoogwaardige desinfectie te behalen valt. Vermoedelijk zit er een omslagpunt tussen de 4 en 15 minuten waar de PAG antimicrobieel begint te werken. Er zijn een aantal redenen die dit kunnen verklaren. Het aantal reactieve deeltjes in het PAG zal zodra de plasmagenerator aangaat vanaf nul toenemen, tot er een chemisch evenwicht in het PAG wordt bereikt. De lagere concentratie reactieve deeltjes in het begin, voordat het evenwicht bereikt wordt, zal voor een minder sterke antimicrobiële werking zorgen. De lengte van het endoscoopkanaal kan deze vertraging versterken omdat het bereiken van het evenwicht aan het einde van het kanaal langer kan duren.

Een andere mogelijke reden is de temperatuur van het PAG. In figuur 4.1 is te zien dat de temperatuur in de eerste 5 minuten toeneemt tot 59 ± 1 °C. Een hogere temperatuur zorgt voor een hogere reactiesnelheid [51] en een hogere reactiesnelheid zou de antimicrobiële werking van het PAG kunnen versterken. Dit zou betekenen dat de antimicrobiële werking van PAG pas na 5 minuten goed op gang komt. Er zal meer onderzoek gedaan moeten worden om te kunnen zeggen of er daadwerkelijk een omslagpunt tussen de 4 en 15 minuten ligt, waar de antimicrobiële werking begint. Door de logreductie bij verschillende blootstellingstijden tussen de 0 en 20 minuten te meten kan een verband tussen logreductie en blootstellingstijd gevonden worden.

In de resultaten is geen verschil tussen de behaalde logreducties in de vochtige en de droge situatie. Vanuit de theorie werd echter verwacht dat de aanwezigheid van water de vorming van ROS zou versterken en daarmee de antimicrobiële werking van het PAG. Bij een blootstellingstijd van 15 minuten is geen meetbaar verschil gevonden in het desinfecterende vermogen van PAG tussen een vochtige en droge situatie. Of bij kortere blootstellingstijden wel een meetbaar verschil is kan niet gezegd worden. Hiervoor zullen meer metingen met blootstellingstijden tussen de 0 en 15 minuten gedaan moeten worden voor zowel de vochtige en als droge situatie.

In dit onderzoek is PAG alleen getest op de bacteriesoorten *staphylococcus aureus* en *pseudomonas aeruginosa*. De resultaten behaald in dit onderzoek kunnen dus niks zeggen over het effect van PAG op andere micro-organismen. Het effect van PAG op andere micro-organismen

zoals virussen, schimmels en sporen zal daarom nog onderzocht moeten worden.

Naast meer verschillende micro-organismen zal er ook met een grote steekproefomvang gemeten moeten worden om de reproduceerbaarheid van de resultaten te garanderen. Door het meerdere keren herhalen van elke meting en het berekenen van de bijbehorende standaarddeviatie kan een betrouwbaar resultaat verkregen worden.

Tenslotte zullen de verschillende parameters die invloed kunnen hebben op de antimicrobiële werking van het PAG onderzocht moeten worden. Parameters die invloed kunnen hebben zijn onder andere:

- de blootstellingstijd
- de temperatuur
- de aanwezigheid van water in het kanaal
- de luchtvochtigheid
- de lengte van het endoscoopkanaal
- de diameter van het endoscoopkanaal

Daarnaast kan het effect van een andere plasmagenerator op perslucht onderzocht worden.

Als er na vervolgonderzoek meer duidelijkheid is verkregen over de hierboven genoemde discussiepunten kan gekeken worden naar een ontwerp voor een desinfectie-apparaat met PAG voor de werkanalen van endoscopen samen met UV-C licht voor de buitenkant van de endoscopen.

6 | Conclusie

Tijdens dit onderzoek zijn aan de hand van literatuur verschillende desinfectiemethodes onderzocht, waarna één methode met behulp van een proof-of-concept getest is. Dit is gedaan aan de hand van de volgende onderzoeksdoelstellingen:

- **Het in kaart brengen van desinfectiemethodes voor werkkanalen van endoscopen die voldoen aan het gestelde programma van eisen.**
- **De desinfectiemethode met de meeste potentie testen met behulp van een proof-of-concept.**

Aan de hand van de literatuur zijn er drie verschillende desinfectiemethodes in kaart gebracht. Deze methodes zijn: ozon, waterstofperoxidedamp en plasma geactiveerd gas (PAG). Deze methodes maken allemaal gebruik van oxidatie voor hun antimicrobiële werking. Er is gekozen om PAG op basis van perslucht te testen in een proof-of-concept omdat deze methode als enige voldoet aan alle in dit onderzoek gestelde eisen en wensen. Daarnaast is het gebruik van plasma in de medische wereld een opkomende en snel groeiende technologie die veel potentie biedt voor de toekomst.

Het desinfecterende vermogen van PAG is getest op micro-organismen. Er zijn twee experimenten uitgevoerd waarbij verschillende blootstellingstijden aan het PAG zijn onderzocht. Bij het eerste experiment zijn staphylococcus aureus (ST) bacteriën in een droge situatie blootgesteld aan het PAG voor 30, 60, 120 en 240 seconden. Na blootstelling zijn de overgebleven bacteriën opgekweekt, waarna de bacteriegroei is vergeleken met een die van een controlegroep. Bij geen van deze blootstellingstijden is desinfectie waargenomen.

In het tweede experiment zijn twee verschillende bacteriën, staphylococcus aureus (ST) en pseudomonas aeruginos (PS), in zowel een vochtige als een droge situatie voor 15 en 30 minuten blootgesteld aan het PAG. Na blootstelling aan het PAG zijn de overgebleven bacteriën opgekweekt, waarna de concentratie in kolonievormende eenheden per milliliter (KVE/mL) is gemeten. Ook van een controlegroep is de concentratie gemeten waarna een logreductie is berekend. Voor de beide bacteriën was de concentratie in zowel de vochtige als de droge situatie na een blootstellingstijd van 15 minuten minder dan 100 KVE/mL. De concentratie na 30 minuten blootstellingstijd is ook minder dan 100 KVE/mL. In zowel de vochtige als droge situatie is na een blootstellingstijd van 15 en 30 minuten een logreductie van meer dan 6 behaald. Omdat er geen concentraties onder de 100 KVE/mL gemeten kunnen worden, kan niet

met zekerheid gezegd worden hoeveel de logreductie exact is, maar wel dat deze meer dan 6 is. Met een blootstellingstijd van 15 minuten kan dus hoogwaardige desinfectie behaald worden.

De resultaten van het tweede experiment geven duidelijk aan dat PAG potentie heeft als methode voor het desinfecteren van werkkanalen van endoscopen moet er nog veel onderzocht worden voordat dit met zekerheid gezegd kan worden. In dit onderzoek is PAG alleen getest op twee soorten bacteriën (ST en PS). Het effect van PAG op andere micro-organismen zoals virussen, schimmels en sporen zal nog onderzocht moeten worden. Ook zal er met een grote steekproefomvang gemeten moeten worden om de reproduceerbaarheid van de resultaten te garanderen. Tenslotte zullen de verschillende parameters die invloed kunnen hebben op de antimicrobiële werking van het PAG onderzocht moeten worden. Denk hierbij aan de blootstellingstijd, de temperatuur, de aanwezigheid van water in het kanaal, de luchtvochtigheid, de temperatuur, de lengte en diameter van het endoscoopkanaal en de plasmagenerator.

Hoewel er nog verder onderzoek nodig is, lijkt PAG een veelbelovende techniek voor het sneller en kostenefficiënter desinfecteren van werkkanalen van endoscopen. PAG heeft de potentie om gebruikt te worden als methode voor een volgend product van UV Smart dat endoscopen met werkkanalen kan ontsmetten en het huidige desinfectieproces verbetert.

Bibliografie

- [1] T. Herremans, “Geschiedenis van de microbiologie – kraamvrouwenkoorts,” *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie*, vol. 19, no. 2, pp. 28–30, juni 2011.
- [2] W. A. Rutala and D. J. Weber, “Reprocessing semicritical items: Current issues and new technologies,” *American Journal of Infection Control*, vol. 44, no. 5, p. e53–e62, mei 2016.
- [3] K.-W. Chiu, L.-S. Lu, and S.-S. Chiou, “High-level disinfection of gastrointestinal endoscope reprocessing,” *World Journal of Experimental Medicine*, vol. 5, no. 1, p. 33–39, februari 2015.
- [4] W. A. Rutala and D. J. Weber, “Disinfection of endoscopes: Review of new chemical sterilants used for high-level disinfection,” *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 20, no. 01, p. 69–76, januari 1999.
- [5] J. Kovaleva, “Endoscope drying and its pitfalls,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 97, no. 4, p. 319–328, juli 2017.
- [6] N. Omidbakhsh, S. Manohar, R. Vu, and K. Nowruzi, “Flexible gastrointestinal endoscope processing challenges, current issues and future perspectives,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 110, p. 133–138, februari 2021.
- [7] W. Ren-Pei, X. Hui-Jun, Q. Ke, W. Dong, N. Xing, and L. Zhao-Shen, “Correlation between the growth of bacterial biofilm in flexible endoscopes and endoscope reprocessing methods,” *American Journal of Infection Control*, vol. 42, no. 11, p. 1203–1206, november 2014.
- [8] C. L. Ofstead, K. M. Hopkins, B. L. Buro, J. E. Eiland, and H. P. Wetzler, “Challenges in achieving effective high-level disinfection in endoscope reprocessing,” *American Journal of Infection Control*, vol. 48, no. 3, p. 309–315, oktober 2020.
- [9] C. L. Ofstead, O. L. Heymann, M. R. Quick, J. E. Eiland, and H. P. Wetzler, “Residual moisture and waterborne pathogens inside flexible endoscopes: Evidence from a multisite study of endoscope drying effectiveness,” *American Journal of Infection Control*, vol. 46, no. 6, p. 689–696, maart 2018.
- [10] U.S. Environmental Protection Agency, “Replacing ethylene oxide and glutaraldehyde,” *Environmental Best Practices for Health Care Facilities*, november 2002.
- [11] T. Sandle, “Sterility, sterilisation and microorganisms,” in *Sterility, Sterilisation and Sterility*

- Assurance for Pharmaceuticals*. Woodhead Publishing, oktober 2013, ch. 1, pp. 1–20.
- [12] W. A. Rutala and D. J. Weber, “Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview,” *American Journal of Infection Control*, vol. 47, pp. A3–A9, 2019.
- [13] RIVM, “Reiniging, desinfectie en sterilisatie in de openbare gezondheidszorg richtlijn,” maart 2017, [Geopend: 16 januari 2022]. [Online]. Available: <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/reiniging-desinfectie-en-sterilisatie-de-openbare-gezondheidszorg>
- [14] Werkgroep Infectie Preventie, *Reiniging, desinfectie en sterilisatie van medische hulpmiddelen voor hergebruik*, RIVM, Leiden, maart 2017.
- [15] T. Sandle, “The european approach to disinfectant qualification,” mei 2020, [Geopend: 22 januari 2022]. [Online]. Available: <https://www.a3p.org/en/the-european-approach-to-disinfectant-qualification-la-vague-52/>
- [16] D. Hoek, “D60 - clinical evaluation report,” UV Smart Technologies B.V., Rijswijk, Tech. Rep. DOC-1583, juni 2021.
- [17] W. Keenleyside, “Microbial catabolism,” in *Microbiology: Canadian Edition*, W. Keenleyside, Ed. Pressbooks, juli 2019, ch. 8.
- [18] onathan Clayden, N. Greeves, and S. Warren, “Radical reactions,” in *Organic Chemistry*. Oxford University Press, 2001, ch. 4, p. 970–1002.
- [19] S. W. Ryter, H. P. Kim, A. Hoetzel, J. W. Park, K. Nakahira, X. Wang, and A. M. Choi, “Mechanisms of cell death in oxidative stress,” *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 9, no. 1, p. 49–89, 2007.
- [20] N. Ghosh, A. Das, S. Chaffee, S. Roy, and C. K. Sen, “Reactive oxygen species, oxidative damage and cell death,” in *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, S. Chatterjee, W. Jungraithmayr, and D. Bagchi, Eds. Academic Press, augustus 2017, ch. 4, pp. 45–55.
- [21] W. Keenleyside, “Microbial biochemistry,” in *Microbiology: Canadian Edition*, W. Keenleyside, Ed. Pressbooks, juli 2019, ch. 7.
- [22] —, “Biochemistry of the genome,” in *Microbiology: Canadian Edition*, W. Keenleyside, Ed. Pressbooks, juli 2019, ch. 11.
- [23] J. F. Turrens, “Mitochondrial formation of reactive oxygen species,” *The Journal of Physiology*, vol. 552, no. 2, p. 335–344, oktober 2003.
- [24] T. Devasagayam, J. Tilak, K. Bloor, K. Sane, S. Ghaskadbi, and R. Lele, “Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects,” *The Journal of the Association of Physicians of India*, vol. 52, pp. 794–804, september 2004.

- [25] G. L. Squadrito and W. A. Pryor, "Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 25, no. 4, pp. 392–403, 1998.
- [26] F. Wang, Q. Yuan, F. Chen, J. Pang, C. Pan, F. Xu, and Y. Chen, "Fundamental mechanisms of the cell death caused by nitrosative stress," *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 9, september 2021.
- [27] W. A. Rutala and D. J. Weber, "Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008," Atlanta, GA, 2008, laatste gewijzigd: 15 februari 2017.
- [28] Z. B. Guzel-Seydim, A. K. Greene, and A. Seydim, "Use of ozone in the food industry," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 37, no. 4, pp. 453–460, 2004.
- [29] T. Sandle, "Gaseous sterilisation," in *Sterility, Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals*. Woodhead Publishing, oktober 2013, ch. 8, pp. 111–128.
- [30] N. F. Gray, "Ozone disinfection," in *Microbiology of Waterborne Diseases*, 2nd ed., S. L. Percival, M. V. Yates, D. W. Williams, R. M. Chalmers, and N. F. Gray, Eds. London: Academic Press, 2014, ch. 33, pp. 599–615.
- [31] D. Zoutman, M. Shannon, and K. Brown, "Effectiveness of a novel ozone and hydrogen peroxide gas-vapour system for the rapid high level disinfection of surfaces and healthcare spaces," *American Journal of Infection Control*, vol. 39, no. 10, pp. 873–879, december 2011.
- [32] National Research Council (US) Committee on Toxicology, "Ozone," in *Emergency and Continuous Exposure Limits for Selected Airborne Contaminants: Volume 1*. Washington (DC): National Academies Press (US), 1984.
- [33] L.-A. Galeano, M. Guerrero-Flórez, C.-A. Sánchez, A. Gil, and M.-Á. Vicente, "Disinfection by chemical oxidation methods," in *Applications of Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Drinking Water Treatment*, A. Gil, L. A. Galeano, and M. Á. Vicente, Eds. Cham, Zwitserland: Springer, december 2017, pp. 257–295.
- [34] T. Sandle, "Hydrogen peroxide vapour sterilisation," in *Sterility, Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals*. Woodhead Publishing, oktober 2013, ch. 9, pp. 129–141.
- [35] H. R. Ludwig, S. G. Cairelli, and J. J. Whalen, *Documentation for Immediately Dangerous To Life or Health Concentrations (IDLHs)*. Cincinnati, Ohio: National Institute for Occupational Safety and Health, mei 1994.
- [36] A. Fridman, "Introduction to theoretical and applied plasma chemistry," in *Plasma Chemistry*. Cambridge University Press, 2008, p. 1–11.

- [37] Flanker and penubag, “Phase change,” *Wikimedia*, oktober 2008, publiek domein.
- [38] L. Bárdos and H. Baránková, “Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications,” *Thin Solid Films*, vol. 518, no. 23, p. 6705–6713, september 2010.
- [39] T. Klämpfl, “Cold atmospheric plasma decontamination against nosocomial bacteria,” Ph.D. dissertation, Fakultät für Medizin der Technischen Universität München, maart 2014.
- [40] M. J. Pavlovich, “Antimicrobial applications of ambient-air plasmas,” Ph.D. dissertation, University of California, Berkeley, 2014.
- [41] J. Winter, R. Brandenburg, and K.-D. Weltmann, “Atmospheric pressure plasma jets: an overview of devices and new directions,” *Plasma Sources Science and Technology*, vol. 24, no. 6, p. 064001, oktober 2015.
- [42] M. Hoentsch, T. von Woedtke, K.-D. Weltmann, and J. Barbara Nebe, “Time-dependent effects of low-temperature atmospheric-pressure argon plasma on epithelial cell attachment, viability and tight junction formation in vitro,” *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 45, no. 2, december 2011.
- [43] T. von Woedtke, A. Schmidt, S. Bekeschus, and K. Wende, “Introduction to plasma medicine,” in *Comprehensive Clinical Plasma Medicine: Cold Physical Plasma for Medical Application*, H.-R. Metelmann, T. von Woedtke, and K.-D. Weltmann, Eds. Cham, Zwitserland: Springer International Publishing, 2018, pp. 3–21.
- [44] G. Daeschlein, “Antimicrobial activity of plasma,” in *Comprehensive Clinical Plasma Medicine: Cold Physical Plasma for Medical Application*, H.-R. Metelmann, T. von Woedtke, and K.-D. Weltmann, Eds. Cham, Zwitserland: Springer International Publishing, 2018, pp. 113–125.
- [45] H. Tanaka and M. Hori, “Plasma activated medium,” in *Comprehensive Clinical Plasma Medicine: Cold Physical Plasma for Medical Application*, H.-R. Metelmann, T. von Woedtke, and K.-D. Weltmann, Eds. Cham, Zwitserland: Springer International Publishing, 2018, pp. 431–440.
- [46] S. Bhatt, P. Mehta, C. Chen, C. L. Schneider, L. N. White, H.-L. Chen, and M. G. Kong, “Efficacy of low-temperature plasma-activated gas disinfection against biofilm on contaminated gi endoscope channels,” *Gastrointestinal Endoscopy*, vol. 89, no. 1, p. 105–114, januari 2019.
- [47] T. Abuzairi, S. Ramadhanty, D. F. Puspohadiningrum, A. Ratnasari, N. R. Poespawati, and R. W. Purnamaningsih, “Investigation on physicochemical properties of plasma-activated water for the application of medical device sterilization,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 1933, no. 1, pp. 040017–1 – 040017–6, 2018.

- [48] Henniker Plasma, *User Manual - cirrus atmospheric plasma system*, Henniker Scientific Ltd, Warrington, England, november 2021.
- [49] H. C. J. G. van Balen, Balis Laboratorium, maart 2022.
- [50] I. G. Hughes and T. P. A. Hase, *Measurements and Their Uncertainties: A Practical Guide to Modern Error Analysis*. Oxford: Oxford University Press, 2010.
- [51] K. J. Laidler, "Influence of temperature on reaction rates," in *Chemical Kinetics*, 3rd ed. Delhi, India: Pearson Education, 1987, pp. 431–440.