

Aus dem Institut für Technische Hygiene
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Vergleich der mikrobiologischen Wasserqualität von
zahnärztlichen Behandlungstühlen und
Arbeitsplätzen mit Phantomkopf

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Viktoria zur Mühlen

aus Potsdam

Datum der Promotion: 05.12.2014

„Das Prinzip aller Dinge ist das Wasser, denn Wasser ist alles und in`s Wasser kehrt alles zurück.“ *Thales von Milet, griechischer Philosoph (um 625 – 547 v. Chr.)*

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung		I
Abstract		III
1	Einleitung	1
1.1	Technische Aspekte	1
1.2	Richtlinien für die Wasserqualität zahnärztlicher Behandlungseinheiten	1
1.3	Hygienemaßnahmen zur Infektionsvorbeugung im Kühl- und Spülwasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten	2
1.4	Mikrobielle Kontamination zahnärztlicher Behandlungseinheiten	4
1.4.1	Ausbildung von Biofilmen	5
1.4.2	Mikroorganismen im Kühl- und Spülwasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten	6
1.5	Infektionsgefahr durch Kühl- und Spülwasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten?	8
1.6	Zielstellung dieser Arbeit	11
2	Material und Methoden	12
2.1	Technische Voraussetzungen	12
2.2	Verwendete Materialien und Geräte	14
2.2.1	Probenentnahme	14
2.2.2	Probenverarbeitung und -auswertung	14
2.2.3	Gramfärbung	14
2.2.4	KOH-Test, Oxidase-/Katalase-Reaktion	15
2.2.5	API 20 E	15
2.2.6	API 20 NE	15
2.3	Methoden	16
2.3.1	Probenentnahme	16
2.3.2	Probenverarbeitung	19
2.3.3	Probenauswertung	20
2.3.4	Differenzierung des Probenmaterials mit der Gramfärbung	22

2.3.5	Differenzierung des Probenmaterials mit dem KOH-Test	22
2.3.6	Differenzierung des Probenmaterials mit dem Oxidase-Nachweis	23
2.3.7	Differenzierung des Probenmaterials mit dem Katalase-Nachweis	23
2.3.8	Differenzierung des Probenmaterials mit der API-Testreihe	23
2.4	Statistische Auswertung	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Auswahl Probenmaterial	26
3.1.1	Aerobes - anaerobes Stoffwechselverhalten	26
3.1.2	<i>Pseudomonas</i> species	26
3.2	Mikrokolonien	26
3.3	Allgemeiner Überblick über die Koloniezahlen an den Simulationseinheiten	32
3.3.1	Koloniezahlen an den Simulationsplätzen	33
3.3.2	Koloniezahlen an den Behandlungsplätzen	34
3.4	Koloniezahlen an den einzelnen Wasserentnahmestellen	34
3.4.1	Koloniezahlen im Trinkwasser	35
3.4.2	Koloniezahlen im Kühlwasser	36
3.4.3	Koloniezahlen im Wasser der Luft-Wasser-Spritze	38
3.4.4	Koloniezahlen im Wasser des Mundglasfüllers	40
3.4.5	Koloniezahlen im Kühlwasser vor und nach dem Spülvorgang	41
3.5	Koloniezahlen der einzelnen Untersuchungsplätze im zeitlichen Verlauf	42
3.5.1	Koloniezahlen bei SP 1 und BP 2 im zeitlichen Verlauf	43
3.5.2	Koloniezahlen bei SP 3 und BP 4 im zeitlichen Verlauf	44
3.5.3	Koloniezahlen bei SP 5 und BP 6 im zeitlichen Verlauf	46
3.5.4	Koloniezahlen bei SP 7 und BP 8 im zeitlichen Verlauf	47
3.6	Differenzierung des gewonnenen Probenmaterials	48
4	Diskussion	53
4.1	Vergleich der Ergebnisse	53
4.1.1	Nachweis von Mikrokolonien	53

4.1.2	Zusammenhang zwischen der Desinfektion des Kühl- und Spülwassers und den Koloniezahlen an den einzelnen Wasserentnahmestellen	54
4.1.3	Einfluss des Spülens auf die Koloniezahlen	57
4.2	Infektionsgefahr durch Kühl- und Spülwasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten!	58
4.3	Allgemeine Hygienerichtlinien	60
4.4	Schlussfolgerungen - Vorkehrungen zur Reduktion der Mikroorganismen an den Simulationseinheiten	61
5	Zusammenfassung	68
6	Literaturverzeichnis	70
Anhang		
	Abbildungsverzeichnis	V
	Tabellenverzeichnis	VIII
	Abkürzungsverzeichnis	IX
	Danksagung	78
	Lebenslauf	79
	Eidesstattliche Versicherung	80

Kurzfassung

Vergleich der mikrobiologischen Wasserqualität von zahnärztlichen Behandlungsstühlen und Arbeitsplätzen mit Phantomkopf

Viktoria zur Mühlen

Die vorliegende Arbeit vergleicht die Koloniezahlen von Wasserproben von Behandlungsplätzen und Simulationsplätzen an vier Simulationseinheiten des Phantomsaales der Zahnklinik der Charité/Berlin.

Untersucht wurden das Trinkwasser, das Kühlwasser vor und nach einem zweiminütigen Spülvorgang, das Wasser der Luft-Wasser-Spritze und das Wasser des Mundglasfüllers. Als Orientierungshilfe für die Höhe der Koloniezahlen ist der Richtwert von 100 KBE/ml maßgeblich. Er beschreibt die in der aktuell gültigen Trinkwasserverordnung maximal zulässige Anzahl der Koloniebildenden Einheiten im Trinkwasser und dient hier als Maßstab für die Einteilung in unbedenkliche und bedenkliche Koloniezahlen.

Die Simulationsplätze weisen generell höhere Koloniezahlen im Vergleich zu den Behandlungsplätzen auf. So treten an den Simulationsplätzen bei 22 °C bei 29% der Proben Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf, bei 36 °C sind es 47 %. Bei den Behandlungsplätzen hingegen sind bei 22 °C keine Koloniezahlen über 100 KBE/ml nachweisbar und bei 36 °C treten sie nur bei 6 % der Proben auf. Dies ist bedingt durch die vorhandene Dauerdesinfektion der Wasserleitungen der Behandlungsplätze mit dem Präparat Alpron®. Die Wasserleitungen der Simulationsplätze erhielten hingegen keine Desinfektion.

Das Kühlwasser (7 % bei 22 °C und 61 % bei 36 °C) und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze (43 % bei 22 °C und 57 % bei 36 °C) sind stärker kontaminiert als das Trinkwasser und das Wasser des Mundglasfüllers. Im Trinkwasser werden nur unbedenkliche Koloniezahlen nachgewiesen. Im Wasser des Mundglasfüllers treten bei 7 % der bei 36 °C-inkubierten Proben Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf.

Außerdem hat sich am Beispiel des Kühlwassers gezeigt, dass sich die Besiedlungen der Agar-Platten deutlich verminderten wenn zuvor eine zweiminütige Spülung der wasserführenden Leitung erfolgte. Bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C zeigten

64 % der Kühlwasserproben vor dem Spülvorgang Koloniezahlen über 100 KBE/ml. Nach dem Spülen fiel der Wert auf 7 %.

Neben den zählbaren Kolonien wurde außerdem das Wachstum von sogenannten Mikrokolonien festgestellt - kleinere nicht entsprechend den Anforderungen der Trinkwasserverordnung für die Koloniezahlbestimmung zählbare Kolonien. Auffallend ist, dass die Mikrokolonien auch im Trinkwasser und im Wasser des Mundglasfüllers nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse verdeutlichen den Nutzen einer konsequenten Dauerdesinfektion der Schlauchsysteme auch an Arbeitsplätzen, an denen keine Patientenbehandlung erfolgt und lediglich Übungen an Phantomköpfen durchgeführt werden. Sie veranschaulichen außerdem die Notwendigkeit einer regelmäßigen Spülung der wasserführenden Systeme. Denn nicht nur Bakterien aus der Mundhöhle eines Patienten können bei der Behandlung übertragen werden. Auch die im Wasser der zahnärztlichen Behandlungseinheiten vorkommenden Mikroorganismen bergen ein nicht zu unterschätzendes Infektionsrisiko.

Abstract

Comparison of the microbiological water quality of dental chairs and simulation chairs

Viktoria zur Mühlen

This study compares the colony counts of dental unit waterlines (DUWLs) between dental chairs and simulation chairs of four simulation units in the dental clinic room of the Charité/Berlin.

Water samples were collected from the drinking water, the high speed handpiece before and after flushing for two minutes, the air-water-syringe and the cup filler. In lean to the guidelines 100 colony forming units per ml (CFU/ml) served as a benchmark for classifying into harmless and alarming results.

The simulation chairs have generally higher colony counts than the dental chairs. At 22 °C 29 % of the samples of the simulation chairs have alarming colony counts, at 36 °C it is an amount of 47 %. The water samples of the dental chairs which were incubated at 22 °C have drinking water quality. 6 % of those which were incubated at 36 °C have colony counts over 100 CFU/ml. That is because of the continuous disinfection of the water lines of the dental chairs with the disinfectant Alpron®. The simulation chairs received no disinfection.

The water of the high speed handpiece (7 % at 22 °C and 61 % at 36 °C) and the water from the air-water-syringe (43 % at 22 °C and 57 % at 36 °C) have the most colony counts. In the drinking water no alarming colony counts were detected. In 7 % of the 36 °C-samples of the water of the cup filler colony counts over 100 CFU/ml were detected.

It has been shown on the example of the high speed handpiece that the colony counts significantly were reduced after a two-minute flushing of the water line. With an incubation temperature of 22 °C in 64 % of the samples alarming colony counts were found. After flushing it were 7 %.

In addition to the countable colonies there were also found so-called microcolonies - to small to count according to the requirements of the Drinking Water Guidelines. The

microcolonies were detected at each water sample point - even in the drinking water and the water of the cup filler.

The results illustrate the benefit of a continuous disinfection of the DUWLs at all dental working places and the need for a regular flushing of the water lines, because water from a dental unit can be heavily contaminated with microorganisms.

1 Einleitung

1.1 Technische Aspekte

Zahnärztliche Behandlungen werden an den sogenannten Behandlungseinheiten durchgeführt. Hierzu gehört ein Behandlungsstuhl mit einer OP-Lampe, einem Speibecken, einem Bedienelement auf der Behandlerseite mit unterschiedlichen schnelllaufenden Mikromotoren und einer Luft-Wasser-Spritze, sowie einem Bedienelement auf der Assistenzseite mit einem Suktur, einem Speichelzieher und einer Luft-Wasser-Spritze [63]. Studierende erlernen die zahnärztliche Behandlung an speziellen Übungseinheiten, diese werden auch „Simulationseinheiten“ genannt. Simulationseinheiten bestehen jeweils aus einem Arbeitsplatz mit Phantomkopf - nachfolgend als Simulationsplatz bezeichnet sowie einem Arbeitsplatz mit Behandlungsstuhl und integriertem Speibecken - nachfolgend als Behandlungsplatz bezeichnet.

1.2 Richtlinien für die Wasserqualität zahnärztlicher Behandlungseinheiten

In der Zahnheilkunde ist die Verwendung von Wasser für fast alle Behandlungsmethoden unerlässlich. Wasser wird in vielfältiger Weise als Kühl- und Spülmedium benötigt, es schützt die Zähne vor Überhitzung beim Bohren, kühlt die Bohrer und spült gleichzeitig Schleifrückstände weg [12, 23, 56, 63, 66].

Zahnärztliche Behandlungseinheiten sind Medizinprodukte [6, 9, 32], die an Leitungen angeschlossen sind, in die Wasser aus dem jeweiligen Wassernetz eingespeist wird [12]. Die Wasserqualität in den Behandlungseinheiten ist dabei unmittelbar abhängig, von der Qualität des in die Behandlungseinheit eingespeisten Wassers [9].

In eine Behandlungseinheit darf nur Wasser eingespeist werden, welches den Anforderungen der aktuell gültigen Trinkwasserverordnung vom 21. Mai 2001 entspricht, die zuletzt durch die Verordnung vom 5. Dezember 2012 geändert worden ist [31, 67]. Die Zuständigkeit der Trinkwasserverordnung bezieht sich auf das Trinkwasser und endet an der Übergabestelle des Wassers in die Behandlungseinheit. Auch wenn sie nicht für das Wasser in der Behandlungseinheit gilt, ist der Anspruch nach einem hygienisch einwandfreien Kühl- und Spülwasser angemessen [6, 12, 47, 48].

Die Trinkwasserverordnung [67] besagt, dass im Trinkwasser Krankheitserreger, die durch Wasser übertragen werden können, im Sinne des § 2 Nummer 1 des Infektionsschutzgesetzes [19], nicht in Konzentrationen enthalten sein dürfen, die eine Schädigung der menschlichen Gesundheit bewirken. Das Trinkwasser für den menschlichen Gebrauch muss außerdem genusstauglich und rein sein. Bei der Gewinnung, der Aufbereitung und der Verteilung des Wassers müssen allgemein anerkannte Regeln der Technik eingehalten werden. Außerdem muss das Wasser den mikrobiologischen und chemischen Anforderungen, sowie den sogenannten Indikatorparametern entsprechen. So darf das Trinkwasser bei 22 °C und bei 36 °C max. 100 Koloniebildende Einheiten (KBE) pro Milliliter (ml) aufweisen und Grenzwerte von 0 KBE/100 ml für *Escherichia coli* oder coliforme Bakterien nicht überschreiten. In Anlehnung an das aktuelle Infektionsschutzgesetz [19] müssen außerdem die Empfehlungen des Robert Koch-Instituts für Legionellen (< 1 KBE/ml) eingehalten werden [12, 67, 72].

1.3 Hygienemaßnahmen zur Infektionsvorbeugung im Kühl- und Spülwasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten

Um den Anspruch nach einem hygienisch einwandfreien Kühl- und Spülwasser gerecht zu werden, gelten nach der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO), folgende durch das aktuelle Infektionsschutzgesetz [19] rechtsgültige Empfehlungen:

Alle wasserführenden Systeme sollen ohne aufgesetzte Übertragungsinstrumente vor Arbeitsbeginn zwei Minuten gespült werden, um die während der Stagnation des Wassers entstandene Ansammlung von Bakterien zu reduzieren. Des Weiteren sollen nach jeder Patientenbehandlung die verwendeten Übertragungsinstrumente für mindestens 20 Sekunden mit Wasser durchgespült werden, um eine mögliche retrograde Kontamination zu verringern. Außerdem sollen die wasserführenden Systeme auch am Ende eines jeden Behandlungstages durchgespült werden [31].

In einer 2001 von TONETTI-EBERLE et al. [66] durchgeführten Studie ist bei zahnärztlichen Behandlungseinheiten das Wasser der Luft-Wasser-Spritze vor und nach einem dreiminütigen Spülvorgang auf Trinkwasserqualität untersucht worden. 95 der insgesamt 175 Behandlungseinheiten befinden sich in Praxen der Stadt

Bern/Schweiz, 80 Behandlungseinheiten stammen aus der Zahnmedizinischen Klinik der Universität Bern. Es zeigt sich, dass von allen Proben vor Spülung nur 17 Proben eine Gesamtkoloniezahl von < 100 KBE/ml aufweisen. Nach Spülung beträgt hingegen die Gesamtkoloniezahl bei 48 Proben < 100 KBE/ml. Insgesamt führt die Spülung in allen Fällen zu einem Rückgang der Koloniezahlen. BARBEAU et al. [4] haben an 121 Behandlungseinheiten der Zahnklinik in Montréal/Kanada Wasserproben vom Kühlwasser, vom Wasser der Luft-Wasser-Spritze und vom Trinkwasser vor und nach einem zweiminütigen Spülvorgang untersucht. Es zeigt sich, dass es nach einem zweiminütigen Spülen der wasserführenden Leitungen zu einer bis zu 96 %igen Reduktion der Koloniezahlen kommt. Die amerikanische Studie von COBB et al. [8] aus dem Jahre 2002 zeigt, dass ein zwei-, drei- und vierminütiges Spülen der wasserführenden Leitungen zahnärztlicher Behandlungseinheiten im Vergleich zum Ausgangswert zu einer deutlichen Reduktion der Koloniezahlen führt. Dabei verstärkt sich dieser Effekt, von Minute zu Minute, je länger gespült wird. Dennoch überschreiten hier die Werte auch nach einer Spüldauer von vier Minuten den damals von der American Dental Association (ADA) [2] vorgegebenen Richtwert von maximal 200 KBE/ml. Der von der ADA seit 2004 empfohlene Richtwert für das Wasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten bei nicht-chirurgischen Eingriffen beträgt ≤ 500 KBE/ml [2, 30].

Während der täglichen Nutzung der Behandlungseinheiten werden unterstützend zum Spülen der Wasserleitungen Desinfektionssysteme verwendet, um die Anforderungen an die einwandfreie Wasserqualität innerhalb der Behandlungseinheit zu erfüllen. Dazu werden Desinfektionsmittel in einer definierten Konzentration in das Wasser der Behandlungseinheit gegeben. Verschiedene Studien untersuchen die Wirksamkeit der auf dem Markt vorhandenen Präparate zur Desinfektion des Kühl- und Spülwassers [31, 49, 70]. Desinfektionsmittel auf Basis von Phenoxyethanol, Biguanid und Natriumtosylchloramid, wie z. B. Alpron® (Alpro Medical GmbH), oder Dentosept P® (METASYS Medizintechnik GmbH), ein Präparat auf der Basis von Wasserstoffperoxid, finden hierbei Anwendung [56, 70]. Das Desinfektionsmittel Dentosept P® wird hierbei von Sirona Dental Systems, einem der weltweit führenden Hersteller zahnärztlicher Behandlungseinheiten empfohlen. In der Studie von WALKER et al. [70] wird die Wirkung verschiedenster Desinfektionsmittel auf die Verringerung eines zwei Wochen alten Biofilms getestet. Untersucht werden u. a. die Präparate Alpron®, Chlorhexidin

0,2 %, Grotanat Bohrerbad® (Kalziumhydroxid, Propanol, Ethylhexanol), Sanosil® (Wasserstoffperoxid und Silber) und Sterilex Ultra® (Wasserstoffperoxid). Dabei zeigt sich, dass es bei Anwendung von Alpron®, Grotanat Bohrerbad®, Sanosil® und Sterilex Ultra® zu einer > 95 %igen Biofilmreduktion kommt. Chlorhexidin 0,2 % hingegen ist nicht in der Lage den Biofilm zu reduzieren. SCHEL et al. [56] haben in einer europaweiten Studie die desinfizierende Wirkung von Alpron®, Bioblue® (Ethanol und Chlorhexidin), Dentosept P®, Oxygenal® (Wasserstoffperoxid und Silber), Sanosil®, Sterilex Ultra® und Ster4Spray® (Natriumperborat und EDTA) auf das Kühl- und Spülwasser getestet. Dabei zeigen über einen Versuchszeitraum von 6 - 8 Wochen 91 % der mit Dentosept P® und Oxygenal® behandelten Wasserproben Werte unterhalb der von der ADA geforderten Gesamtkoloniezahl von ≤ 200 KBE/ml [2]. Mit Alpron® erreichen 87 % den ADA-Richtwert, mit Sanosil® 83 %, mit Bioblue® 74 %, mit Sterilex Ultra® 68 % und mit Ster4Spray® erreichen 60 % den ADA-Richtwert [2].

Eine zusätzliche Maßnahme zur Desinfektion des Kühl- und Spülwassers ist die sogenannte Intensiventkeimung (Biofilm-Removing). Wenn die Behandlungseinheit über die Möglichkeit einer solchen Intensiventkeimung verfügt, kann zusätzlich auch damit eine Reduktion der Mikroorganismen erreicht werden [12]. Bei der Intensiventkeimung werden alle wasserführenden Systeme der Behandlungseinheit über mindestens 30 Minuten mit einem geeigneten Präparat behandelt. Bewährt hat sich dabei die Verwendung eines Desinfektionsmittels in höherer Konzentration, wie z. B. Alpron® (Alpro Medical GmbH) oder Wasserstoffperoxid [56]. Generell gilt, dass sich der Betreiber der Behandlungseinheit mit dem Hersteller in Bezug auf die notwendigen Desinfektionsmaßnahmen zu beraten hat. Hierbei sind die Angaben des Herstellers bezüglich der Art des empfohlenen Desinfektionsmittels und der zeitliche Abstand zwischen den möglichen Intensiventkeimungsmaßnahmen zu beachten [12, 49].

1.4 Mikrobielle Kontamination zahnärztlicher Behandlungseinheiten

Trotz Empfehlung der oben genannten Maßnahmen belegt eine Vielzahl von Studien aus den letzten Jahrzehnten [1, 4, 11, 32, 35, 47, 56, 58, 69], dass das aus den Übertragungsinstrumenten einer Behandlungseinheit austretende Wasser hohe Koloniezahlen aufweisen kann. Bereits seit Anfang der 60er Jahre des letzten

Jahrhunderts ist durch BLAKE [7] bekannt, dass das Wasser der Behandlungseinheiten bakteriell kontaminiert sein kann.

1.4.1 Ausbildung von Biofilmen

Die Behandlungseinheiten verfügen über ein komplexes System von Wasserleitungen, welches zur Kühlung und Reinigung der Übertragungsinstrumente, wie z. B. der Mikromotoren und der Luft-Wasser-Spritzen dient. Dabei wird das Wasser durch englumige Leitungen geführt, die in der Regel aus Kunststoffschläuchen bestehen, welche wiederum besonders empfindlich für die Ausbildung von Biofilmen sind [4, 5, 6, 42, 66]. Verschiedene Untersuchungen belegen das Vorkommen von Biofilmen in nahezu allen wässrigen Systemen, so auch an Grenzflächen in technischen Installationen wie den Trinkwasserleitungen [7, 32].

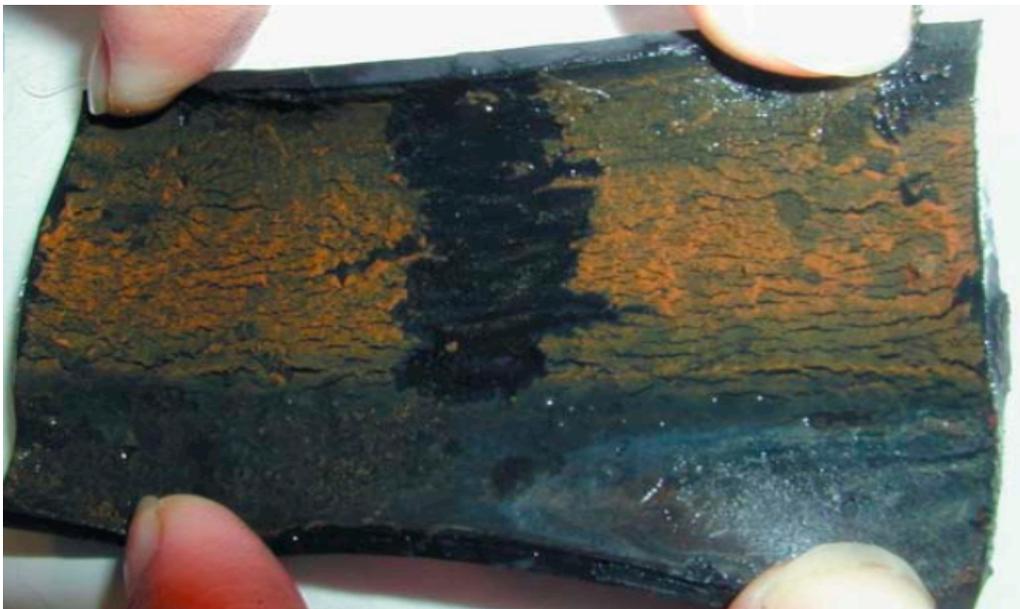


Abb. 1-1: Biofilm auf der Innenseite eines Duschschlauchs nach 14-tägigem Durchströmen mit Trinkwasser [57].

Der in der Abbildung 1-1 dargestellte Biofilm ist ein Beispiel dafür, dass Biofilme an allen Grenzflächen in der Natur und in technischen Systemen entstehen können, wo ausreichend Wasser enthalten ist [60].

Bei einem Biofilm handelt es sich um eine komplexe, gut organisierte Gemeinschaft von miteinander kommunizierenden Mikroorganismen, die durch die feste Bindung an eine Oberfläche charakterisiert sind [13, 49, 60]. Biofilme sind aufgebaut aus den Zellen der

darin enthaltenen Mikroorganismen, z. B. Bakterien, Protozoen, Algen und Pilzen [49, 59, 60]. Diese Zellen sind wiederum umhüllt von einer Schleimmatrix - genannt EPS (extrazelluläre polymere Substanzen) - bestehend vor allem aus Polysacchariden [49, 60]. Biofilme stellen die wichtigste Lebensweise von vielen Mikroorganismen dar [60]. Sie bieten bessere Überlebenschancen im Vergleich zu den frei beweglichen, sogenannten planktonischen Bakterien. So sind die in Gemeinschaft lebenden Mikroorganismen widerstandsfähiger gegen äußere Einflüsse und zeigen eine erhöhte Resistenz gegenüber antimikrobiell wirkenden Mitteln [4, 40, 49, 50, 69]. Ein weiterer Überlebensvorteil besteht in der besseren Bereitstellung von organischen Nährstoffen für die einzelnen Spezies innerhalb eines Biofilms im Vergleich zu den frei beweglichen Mikroorganismen [49].

Biofilme sind in ihrem Aufbau sehr heterogen, ihre Kommunikation untereinander ist jedoch einzigartig [13, 60, 65]. „Quorum sensing“, sogenannte Zell-zu-Zell Signale spielen u. a. eine Rolle beim Wachstum des Biofilms. So werden innerhalb der Gemeinschaft bestimmte Gene aktiviert, wenn eine gewisse Zelldichte über- oder unterschritten wird. Das „Quorum sensing“ wird demnach von den Bakterien genutzt, um das Anheften und Loslösen vom Biofilm zu koordinieren. Dieser Prozess wäre ineffizient, wenn er nur von einzelnen Zellen durchgeführt werden würde und hilft beim Aufbau des Biofilms [13, 71].

Durch die Stagnation des Wassers in den englumigen Schläuchen, insbesondere in den Ruhephasen nachts, am Wochenende oder in Urlaubszeiten, kann es zur verstärkten Ausbildung von Biofilmen kommen [5, 10, 12, 31, 49]. Bei anschließender Inbetriebnahme der Behandlungseinheit und Strömung des Wassers durch die Schläuche, kommt es zu einer Aufwirbelung und dem Loslösen von Mikroorganismen aus dem Verbund, was zu hohen Koloniezahlen im Wasser der Behandlungseinheit führen kann.

1.4.2 Mikroorganismen im Kühl- und Spülwasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten

Wasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten beherbergt eine Vielzahl von Bakterien, Hefen, Pilzen, Viren, Protozoen und einzelligen Algen [32]. Bei den nachgewiesenen Mikroorganismen handelt es sich vorwiegend um gramnegative Bakterien, darunter auch humanpathogene Legionellen und Pseudomonaden [6].

Gramnegative Bakterien sind eine bedeutende Quelle für Endotoxine. Dieser Bestandteil der äußeren Zellmembran wird beim Absterben von gramnegativen Bakterien freigesetzt und kann beim Menschen, beim Kontakt mit Schleimhäuten und beim Übertritt ins Blut entzündliche Reaktionen hervorrufen und gesundheitsschädigend wirken [6, 25]. Folgende Bakterienspezies können verstärkt nachgewiesen werden:

In ihrer Studie untersuchte SZYMAŃSKA [62] an einer polnischen Zahnklinik das Wasser aus dem Reservoir von Behandlungseinheiten mit geschlossenem Wasserkreislauf. Hier ist, isoliert von der kommunalen Wasserversorgung, ein Wasserbehälter an der Behandlungseinheit angeschlossen, in welchen destilliertes Wasser manuell eingefüllt wird. Bei jeder Wasserprobe wurde hier das gramnegative Stäbchen *Ralstonia pickettii* nachgewiesen. Ferner macht *Ralstonia pickettii* mit einem prozentualen Anteil von 96 % den Großteil aller nachgewiesenen Bakterien aus.

Bei denen in der Studie von BARBEAU et al. [4] am häufigsten nachgewiesenen Mikroorganismen aus den wasserführenden Systemen der Behandlungseinheiten einer Zahnklinik in Montréal/Kanada handelt es sich um gramnegative Stäbchen, insbesondere um *Pseudomonas*-Spezies.

WALKER et al. [69] beschreiben, dass keine der in ihrer britischen Studie untersuchten zahnärztlichen Behandlungseinheiten als „sauber“ zu bezeichnen ist. Bei der Mehrzahl der dort nachgewiesenen Bakterien handelt es sich um gramnegative Bakterien, die nur eine geringe Pathogenität aufweisen. Bei 16 % von ihren 55 untersuchten Behandlungseinheiten konnten auch *Pseudomonas*-Spezies nachgewiesen werden. Eine weitere Studie belegt das Vorkommen von humanpathogenen *Pseudomonas*-Spezies im Wasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten. Die Untersuchung von AL-HIYASAT et al. [1] zeigt, dass bei 86,7 % ihrer untersuchten Behandlungseinheiten einer Zahnklinik *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden konnte.

Laut BECKER [6] liegt die Nachweishäufigkeit von Legionellen in zahnärztlichen Behandlungseinheiten zwischen 0 und 68 %. Natürlicher Wirt der Legionellen sind freilebende Amöben, die zur Gattung der Protozoen gehören [24, 32, 57, 68]. Sie weisen zwei verschiedene Stadien auf, das Fressstadium (= Trophozoit) und das Überdauerungsstadium (= Zyste). Die Zysten sind doppelwandig und extrem widerstandsfähig. Legionellen sind u. a. angreifbar durch Chlorung. In den Zysten der Amöben können sich die Legionellen jedoch der Chloreinwirkung entziehen [24, 32, 57]. Nach OPPENHEIM et al. [44] und ATLAS et al. [3] besteht in Hinblick auf Legionellen

ein Infektionsrisiko in Zusammenhang mit zahnärztlichen Behandlungen. OPPENHEIM et al. [44] finden bei der Untersuchung eines Kühlsystems von zahnärztlichen Turbinen heraus, dass die beim Arbeiten entstehende Aerosolwolke verantwortlich ist, für eine Kontamination des zahnärztlichen Arbeitsplatzes mit *Legionella pneumophila*.

Des Weiteren zeigt die Untersuchung von FOTOS et al. [17], dass bei Zahnärzten, Helferinnen und Zahntechnikern einer Zahnklinik mit nachgewiesenen Legionelleninfektionen, im Vergleich zu einer nichtmedizinisch arbeitenden Kontrollgruppe, ein stark erhöhter Antikörpertiter gegen Legionellen auftritt. Die Höhe des Titers ist dabei u. a. auch abhängig von der Aufenthaltsdauer in der Klinik. Daher ist davon auszugehen, dass die bei der zahnärztlichen Behandlung entstehenden Aerosole, die wahrscheinliche Quelle der in dieser Klinik nachgewiesenen Legionelleninfektionen waren.

1.5 Infektionsgefahr durch Kühl- und Spülwasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten?

Die Qualität des Wassers in den Behandlungseinheiten stellt sowohl für die Patienten als auch das Praxispersonal eine zentrale Frage dar, da sie unmittelbar - im Falle des Personals - sogar regelmäßigem Kontakt ausgesetzt sind [46]. Das gilt auch für Techniker, die Service-Arbeiten (Wartungs-, Reinigungs- und Reparaturarbeiten) an den Behandlungseinheiten durchführen [12].



Abb. 1-2: Eigenes Foto vom Sprühnebel eines Rotringwinkelstücks (Schnellläufer)

Insbesondere auf Grund der aus einer Biofilmbildung resultierenden Kontamination des Kühl- und Spülwassers ist für das Behandlungsteam und die Patienten ein Infektionsrisiko vorhanden. Ein gesundheitliches Risiko besteht außerdem in Form von kontaminierten Aerosolen. Aerosol - die Bildung von Sprühnebel - lässt sich während der zahnärztlichen Behandlung nicht vermeiden. Wie in der Abbildung 1-2 dargestellt, entsteht Aerosol z. B. dann, wenn schnelllaufende rotierende Instrumente mit Wasserkühlung betrieben werden [22, 27, 62].

Beim Aerosol handelt sich um flüssige oder feste in der Luft schwebende Partikel, die kleiner sind als 50 µm im Durchmesser. Aerosole können lange Zeit in der Luft verbleiben, bevor sie sich auf Oberflächen in der Umgebung absetzen. Während der zahnärztlichen Behandlung können sie in den Respirationstrakt gelangen. Partikel, mit einer mittleren Größe von max. 0,5 bis 10 µm können sogar in noch kleinere Lungenabschnitte - die Alveolen eindringen und dort Infektionen hervorrufen [21, 22, 41, 63]. Sogenannte „Spritzer“ sind ein Gemisch aus Luft und Wasser kombiniert mit festen Substanzen, wie z. B. kariösem Gewebe, Füllungswerkstoffen oder auch Polierpasten. Sie sind definiert als Partikel zwischen 50 µm bis hin zu mehreren Millimetern im Durchmesser und sind mit bloßem Auge sichtbar. Im Gegensatz zum Aerosol setzen sich „Spritzer“ schnell auf den Oberflächen in der Umgebung ab [22, 41, 63]. Aerosol und „Spritzer“ können Blut bzw. Blutbestandteile beladen mit Viruspartikeln enthalten [21].

Die Zusammensetzung des Aerosols variiert zum einen je nach Art der zahnärztlichen Behandlung, z. B. Kariesentfernung, Zahnsteinentfernung oder Parodontalbehandlung. Zum anderen variiert sie auch von Patient zu Patient [28, 63]. Wobei laut mehreren Studien die intensivste Aerosolbildung beim Arbeiten mit der Turbine oder dem Ultraschallscaler auftritt [22, 33, 51, 61]. Nach MUZZIN [43] sind daher seitens des Personals im eigenen Interesse neben der Verwendung von Handschuhen weitere Schutzvorkehrungen zu treffen. Hierzu gehören das Anlegen eines Mund- und Nasenschutzes, einer Schutzbrille oder einem Visier und, je nach Aerosolbildung, ggf. die Bedeckung der Haare.

Ein weiterer Risikofaktor existiert durch retrograde Kontamination der Übertragungsinstrumente. Von OZAWA et al. [45] wird eingehend beschrieben wie zahnärztliche Turbinen funktionieren: Durch Betätigung des zugehörigen Fußschalters kommt es zum Antrieb im Laufrad des Turbinenkopfes. Wird der Fußschalter

losgelassen, stoppt auch die nötige Energiezufuhr. Das Laufrad dreht sich noch für ein paar Sekunden vor dem endgültigen Anhalten. Während dieses Nachlaufens arbeitet das Laufrad wie ein Abluftventilator und zieht Luft der äußeren Umgebung in die Luftkanäle der Turbine und somit in die angeschlossene Behandlungseinheit. Dabei können auch Speichel, Blut und Blutbestandteile aus der Mundhöhle eingesaugt werden [6, 45]. Dadurch ist eine Übertragung von Infektionserregern von Patient zu Patient möglich.

Aus dem Absaugschlauch können kontaminierte angesaugte Flüssigkeiten in den Mund eines nachfolgenden Patienten zurückfließen und so ein Infektionsrisiko darstellen. Wenn Absaugschläuche durch angesaugte Weichgewebe, wie z. B. der Wangenschleimhaut verschlossen werden, kann es so zu einem Rücksog von abgesaugten Kühlwasser, Blut und Speichel in den Mund des Patienten kommen [12, 27, 31].

Dieses Problem tritt auch allein durch die Schwerkraft auf, wenn der Absaugschlauch über das Niveau des Patientenkopfes geführt wird und die Saugleistung zu gering ist [38].

Die geschilderten Aspekte spielen insbesondere für immunsupprimierte, bereits geschwächte, Patienten eine große Rolle [6, 14, 26, 34, 52, 55, 56, 64]. Als Risikopatienten gelten z. B. Patienten nach Organtransplantation, Patienten während einer Chemotherapie, Patienten mit Autoimmunerkrankungen, an Mukoviszidose erkrankte Patienten sowie Patienten mit allgemein stark geschwächter Abwehrlage [31]. Wird Wasser aus zahnärztlichen Anlagen zur Behandlung von hochgradig immunsupprimierten Patienten genutzt, so gilt die nachdrückliche Empfehlung, dass dieses frei von Pseudomonaden, Kryptosporidien und Legionellen sein muss (Kategorie IB) [6, 31]. Zur Beurteilung des Risikos ist eine Zusammenarbeit mit den Ärzten, welche die Grunderkrankung behandeln, empfehlenswert. Bei Patienten mit erhöhtem Infektionsrisiko sind zur Kühlung der rotierenden Instrumente sterile Lösungen zu benutzen. Da in der Regel die Luft-Wasser-Spritzen der Behandlungseinheiten nicht an sterile Spüllösungen angeschlossen sind, sollte wenn möglich, eine Behandlung unter Kofferdam (Spanngummi) erfolgen, um die zu behandelnden Zähne vom restlichen Mundraum abzuschirmen [31].

1.6 Zielstellung dieser Arbeit

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, das Vorkommen von Mikroorganismen im Kühl- und Spülwasser zahnärztlicher Simulationseinheiten nachzuweisen. Diese bestehen aus einem Arbeitsplatz mit Phantomkopf (Simulationsplatz) und einem Arbeitsplatz mit Behandlungsstuhl und integriertem Speibecken (Behandlungsplatz). Es soll untersucht werden, ob die Arbeitsplätze zur Übung an Phantomköpfen und die Arbeitsplätze für die Patientenbehandlung unterschiedliche Desinfektionsmaßnahmen benötigen.

Daraus resultiert die Frage, ob Studierende der Zahnmedizin bereits während der Ausbildung am Phantomkopf möglichen Krankheitserregern in den wasserführenden Systemen ihrer Arbeitsplätze ausgesetzt sind.

Das mikrobiologische Vorgehen gliedert sich dazu in zwei Schritte:

1. In einem studentischen universitären Behandlungsraum werden Wasserproben an Simulationseinheiten gewonnen. Die mikrobiologische Qualität des Wassers der Simulationsplätze und der Behandlungsplätze wird untersucht und miteinander verglichen.
2. Anschließend erfolgt die Differenzierung eines Teiles der im ersten Studienabschnitt gewonnenen Mikroorganismen.

2 Material und Methoden

2.1 Technische Voraussetzungen

Als Untersuchungsobjekte dienen vier Simulationseinheiten „Premium“, Baujahr 2003 (Typ C4⁺, Sirona Dental Systems GmbH) aus dem Phantomsaal der Zahnklinik Süd an der Charité Berlin (s. Abb. 2-1).



Abb. 2-1: Simulationseinheit „Premium“, Baujahr 2003 (Typ C4⁺, Sirona Dental Systems GmbH) aus dem Phantomsaal der Zahnklinik Süd der Charité Berlin

Es handelt sich um sogenannte Übungseinheiten, welche den Studierenden einen nahtlosen Übergang zur späteren „realen“ Patientenbehandlung bieten. Die Simulationseinheiten bestehen jeweils aus einem Arbeitsplatz mit Behandlungsstuhl und integriertem Speibecken - im Folgenden als „Behandlungsplatz“ bezeichnet - sowie einem Arbeitsplatz mit Phantomkopf - nachfolgend als „Simulationsplatz“ bezeichnet (s. Abb. 2-2). An den Behandlungsplätzen ist sowohl eine gegenseitige Behandlung der Studierenden als auch die Behandlung von Patienten möglich. An den Simulationsplätzen können nahezu alle konservierenden Behandlungsabläufe an sogenannten Phantommodellen simuliert und geübt werden. Dies wird ermöglicht durch

eine dem „echten“ Patienten nachempfundene Höhen- und Neigungsverstellung des Phantomkopfes und eine in den Simulationsplatz integrierte Nassabsaugung.



Abb. 2-2: Links Arbeitsplatz mit Behandlungsstuhl (Behandlungsplatz) und rechts Phantomkopf eines Simulationsplatzes der Simulationseinheit „Premium“

Während der gesamten Versuchsreihe erfolgt an den Behandlungsplätzen die herstellerseitig empfohlene Desinfektion des Kühl- und Spülwassers mit Alpron® (Alpro Medical GmbH), einem Präparat auf der Basis von Phenoxyethanol, Biguanid und Natriumtosylchloramid. Den wasserführenden Leitungen der Behandlungsplätze wird dabei automatisch, kontinuierlich Alpron® in einer Konzentration von 1 % zugeführt. Im Unterschied zu den Behandlungsplätzen erhalten die Simulationsplätze keine Desinfektion des Kühl- und Spülwassers.

Das gesamte Inventar des Phantomsaales wird seit April 2007 von der Zahnklinik Süd der Charité Berlin genutzt und befand sich von 2003 bis 2006 in den Räumlichkeiten der damaligen Zahnklinik Nord. Die Wasserproben sind zwischen Juli 2007 und März 2008 immer dienstags vor dem klinischen Betriebsbeginn in der Zeit von 6.00 - 7.45 Uhr entnommen worden.

Untersucht wird das den Behandlungseinheiten zugeführte Trinkwasser, das Kühlwasser, das Wasser aus dem Mundglasfüller und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze (s. Kap. 2.3.2). Die Probenentnahme erfolgt dabei ohne Aufsätze an Mikromotoren und Luft-Wasser-Spritzern, um eine Ergebnisverfälschung durch eventuell kontaminierte Winkelstücke oder Sprayvit-Aufsätze zu vermeiden.

2.2 Verwendete Materialien und Geräte

2.2.1 Probenentnahme

20 ml RG	Schott AG, Mainz
Kolbenhubpipette	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen 100 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Na ₂ S ₂ O ₃ -Lösung 0,05 %ig	Merck KGaA, Darmstadt
sterile Adapter für die Trinkwasserentnahme an den Arbeitsplätzen	

2.2.2 Probenverarbeitung und -auswertung

Trypticase Soja Agar-Platten	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Cetrimid-Agar-Platten	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Drigalski-Spatel	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Kolbenhubpipette	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen 500 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Brutschrank Typ B 5060	Heraeus GmbH, Hanau
Inkubationsbehälter GasPak EZ	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Anaerobierbeutel	Oxoid GmbH, Hampshire; UK
Anaerobier-Indikatorstreifen	Oxoid GmbH, Hampshire; UK
Wasserbad	Köttermann GmbH, Uetze/Hänigsen
Bunsenbrenner und Impfösen	WLD-Tec GmbH, Göttingen
Koloniezählgerät Typ 50971	Bioblock; Taiwan
Aqua destillata aus der hauseigenen Anlage	

2.2.3 Gramfärbung

Objektträger	Menzel-Gläser GmbH, Braunschweig
Pasteurpipette	Vitlab GmbH, Großostheim
Bunsenbrenner und Impfösen	WLD-Tec GmbH, Göttingen
NaCl-Lösung 0,9 %ig	Merck KGaA, Darmstadt
Färbegestell und Glaskasten	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Kristallviolett-Lösung	Kallies Feinchemie AG, Sebnitz

Safranin-Lösung	Kallies Feinchemie AG, Sebnitz
Lugolsche-Lösung	Kallies Feinchemie AG, Sebnitz
Entfärbelösung	Kallies Feinchemie AG, Sebnitz
Mikroskop	Zeiss AG, Jena
Aqua destillata	aus der hauseigenen Anlage

2.2.4 KOH-Test, Oxidase-/Katalase-Reaktion

KOH-Lösung 3 %ig	Merck KGaA, Darmstadt
Oxidase-Teststreifen	Merck KGaA, Darmstadt
Bunsenbrenner und Impfösen	WLD-Tec GmbH, Göttingen
Objektträger	Menzel-Gläser GmbH, Braunschweig
H ₂ O ₂ -Lösung 3 %ig	Merck KGaA, Darmstadt

2.2.5 API 20 E

Mac-Conkey-Agar-Platten	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
System API 20 E	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Reagenzien-Kit API 20 E	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Analytischer Profil Index API 20 E	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Pasteurpipette	Vitlab GmbH, Großostheim
Brutschrank Typ B 5060	Heraeus GmbH, Hanau
Aqua destillata	aus der hauseigenen Anlage

2.2.6 API 20 NE

Trypticase Soja Agar-Platten	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
System API 20 NE	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Reagenzien-Kit API 20 NE	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Analytischer Profil Index API 20 NE	Biomérieux GmbH, Nürtingen
Pasteurpipette	Vitlab GmbH, Großostheim
Brutschrank Typ B 5060	Heraeus GmbH, Hanau
Aqua destillata	aus der hauseigenen Anlage

2.3 Methoden

2.3.1 Probenentnahme

An den insgesamt acht untersuchten Arbeitsplätzen - jeweils vier Simulationsplätze und vier Behandlungsplätze - werden an ausgewählten Wasseraustrittsstellen Proben gewonnen. Für die Wasserproben von den Behandlungsplätzen werden zur Deaktivierung des Desinfektionsmittels Alpron® je 100 µl 0,05 %ige Na₂S₂O₃-Lösung in sterile Reagenzgläser vorgelegt.

Die Auswahl der Arbeitsplätze erfolgte willkürlich. Entsprechend der in der Abbildung 2-3 aufgeführten räumlichen Anordnung der Arbeitsplätze im Phantomsaal sind die Plätze Nr. 1/2, Nr. 17/18, Nr. 31/32 und Nr. 21/22 ausgewählt worden.

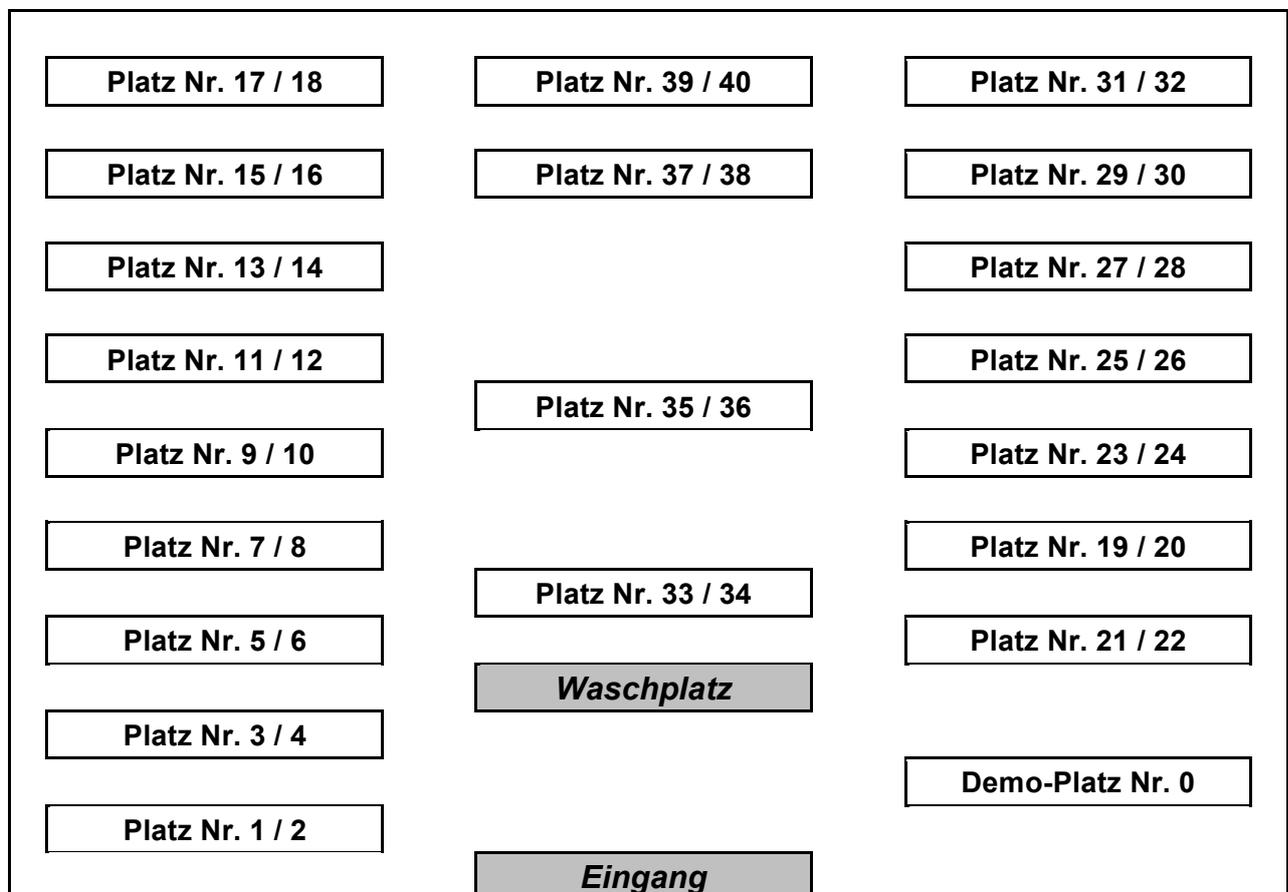


Abb. 2-3: Schema der räumlichen Anordnung der Arbeitsplätze im Phantomsaal der Zahnklinik Süd der Charité Berlin

Für die mikrobiologischen Untersuchungen der Behandlungsplätze werden jeweils das der Einheit zugeführte Trinkwasser (TW), das Kühlwasser (KW), das Wasser der

Luft-Wasser-Spritze (LWS) und das Wasser des Mundglasfüllers (MGF) gewonnen. Die Probenentnahme an einem Behandlungsplatz gestaltet sich gemäß dem in der Abbildung 2-4 dargestellten Ablaufschema wie folgt:

Zunächst erfolgt entsprechend den Empfehlungen des Robert Koch-Instituts (RKI) [31] und dem im Hygieneplan der Zahnklinik festgelegten „Ablaufenlassen“ des Stagnationswassers ein zweiminütiges Spülen von Kühlwasser, Wasser aus der Luft-Wasser-Spritze und Wasser aus dem Mundglasfüller. Danach wird die Trinkwasserleitung 20 Sekunden gespült. Hierzu wird der Arbeitsplatz ausgeschaltet, die Außenverkleidung entfernt, der Trinkwasserverschluss abgeschraubt und ein steriler Entnahmeadapter an der Trinkwasserentnahmestelle aufgeschraubt. (s. Abb. 2-5). Anschließend wird der Arbeitsplatz erneut angeschaltet und für 20 Sekunden Trinkwasser in einen Eimer abgelassen. Danach wird ein Reagenzglas mit dem Trinkwasser gefüllt und verschlossen. Der Entnahmeadapter wird entfernt, der Trinkwasserverschluss wieder aufgeschraubt und die Verkleidung wieder angebracht. Anschließend werden Kühlwasser, Wasser der Luft-Wasser-Spritze und das Wasser des Mundglasfüllers entnommen und in die vorbereiteten Reagenzgläser gefüllt.

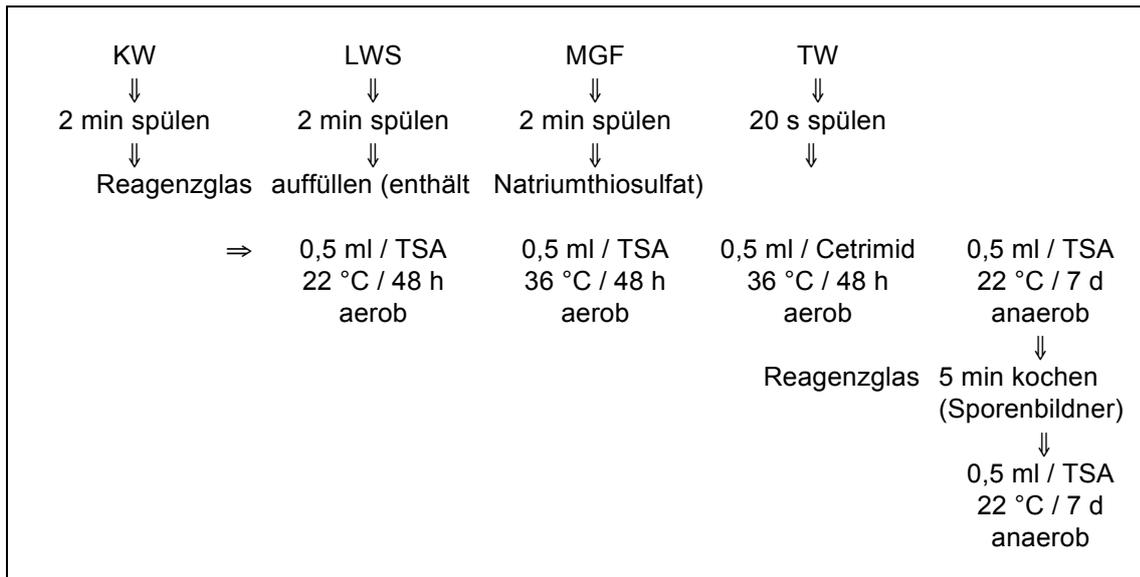


Abb. 2-4: Ablaufschema zur Probengewinnung und -verarbeitung an einem Behandlungsplatz (KW= Kühlwasser, LWS= Luft-Wasser-Spritze, MGF= Mundglasfüller, TW= Trinkwasser, TSA= Trypticase Soja Agar)



Abb. 2-5: Verkleidung und Innenansicht der Trinkwasserentnahmestelle (siehe Pfeil) an einem Behandlungsplatz

An den Simulationsplätzen ist kein Speibecken installiert und eine Entnahme des Wassers des Mundglasfüllers nicht möglich. Daher wird an den Simulationsplätzen neben dem der Einheit zugeführten Trinkwasser (TW), dem Kühlwasser (KW) und dem Wasser der Luft-Wasser-Spritze (LWS) zu Vergleichszwecken außerdem das Kühlwasser des Mikromotors vor dem Spülen (KW-VA) gewonnen. Die Probenentnahme für einen Simulationsplatz gestaltet sich folgendermaßen:

Wie in der Abbildung 2-6 ersichtlich, wird zunächst Kühlwasser in das entsprechend beschriftete Reagenzglas gefüllt und mit einem Stopfen verschlossen. Anschließend erfolgt ein zweiminütiger Spülvorgang von Kühlwasser und Wasser der Luft-Wasser-Spritze. Zusätzlich wird die Trinkwasserleitung für 20 Sekunden gespült, analog zum Ablauf der Probenentnahme am Behandlungsplatz. Die Abbildung 2-7 zeigt die Verkleidung und Innenansicht der Trinkwasserentnahmestelle an einem Simulationsplatz. In zwei weitere Reagenzgläser werden anschließend Kühlwasser und Wasser aus der Luft-Wasser-Spritze gefüllt und die Reagenzgläser verschlossen.

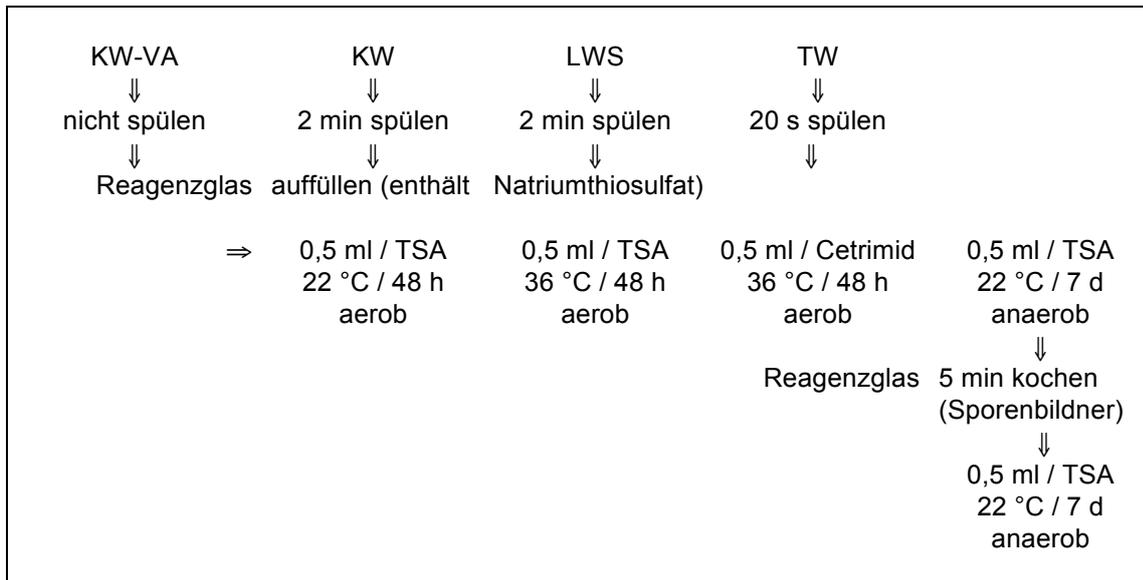


Abb. 2-6: Ablaufschema zur Probengewinnung und -verarbeitung an einem Simulationsplatz (KW-VA= Kühlwasser vor dem Spülen, KW= Kühlwasser, LWS= Luft-Wasser-Spritze, TW= Trinkwasser, TSA= Trypticase Soja Agar)



Abb. 2-7: Verkleidung und Innenansicht der Trinkwasserentnahmestelle (siehe Pfeil) an einem Simulationsplatz

2.3.2 Probenverarbeitung

Entsprechend der Ablaufschemata zur Probengewinnung und -verarbeitung am Simulations- und Behandlungsplatz (s. Abb. 2-4 und Abb. 2-6) werden für jede entnommene Wasserprobe die entsprechend beschrifteten Nährböden bereitgelegt. Je Probe werden vier TSA-Platten (Trypticase Soja Agar) benötigt, sowie eine Cetrimid-Platte als Selektivmedium für *Pseudomonas aeruginosa*.

Aus jedem Reagenzglas werden jeweils 500 µl Probe mit einer Eppendorfpipette und steriler Pipettenspitze auf drei verschiedene TSA-Platten gegeben. Mit einem Drigalski-Spatel wird der Flüssigkeitsfilm gleichmäßig verteilt, so dass der gesamte Nährboden mit der Wasserprobe benetzt ist. Anschließend werden 500 µl Probe auf eine Cetrimid-Platte pipettiert und mit dem Drigalski-Spatel gleichmäßig verteilt.

- die erste TSA-Platte wird für 48 Stunden aerob bei 22 °C bebrütet,
- die zweite TSA-Platte wird zusammen mit der Cetrimid-Platte für 48 Stunden aerob bei 36 °C inkubiert,
- die dritte TSA-Platte wird sieben Tage anaerob bei 22 °C bebrütet.

Nachdem alle Wasserproben derartig verarbeitet sind, werden die Reagenzgläser fünf Minuten bei 95 °C gekocht. Anschließend werden jeweils 500 µl Probe eines jeden Reagenzglases auf eine vierte TSA-Platte pipettiert und gleichmäßig verteilt.

- die vierte TSA-Platte wird für sieben Tage anaerob bei Raumtemperatur bebrütet.

Da Anaerobier empfindlich gegenüber Sauerstoff sind, müssen sie unter Abwesenheit von Sauerstoff, also einem Milieu mit niedrigem Redoxpotential, kultiviert werden. Die entsprechenden Nährböden werden daher zusammen mit einem Anaerobierbeutel in den Anaerobiertopf gelegt. Die Chemikalien im Beutel absorbieren im verschlossenen Anaerobiertopf schnell den vorhandenen atmosphärischen Sauerstoff. Es entwickelt sich gleichzeitig Kohlendioxid. Mittels eines Redoxindikators, bestehend aus einem Baumwollstreifen mit Resazurin-Lösung, wird das Redoxpotential überprüft. Resazurin-Lösung schlägt bei circa -50 mV von rosa nach weiß um und zeigt die anaeroben Verhältnisse im Anaerobiertopf an.

2.3.3 Probenauswertung

48 Stunden nach Inkubation werden, wie in der Abbildung 2-8 ersichtlich, die Koloniebildenden Einheiten der aerob bebrüteten Platten mit bloßem Auge, ohne Zuhilfenahme optischer Vergrößerungsmittel, unter Verwendung eines Koloniezählgerätes ausgezählt.

Sieben Tage nach Inkubation werden die Koloniebildenden Einheiten der anaerob bebrüteten Platten ausgezählt - ebenfalls mit bloßem Auge, ohne Zuhilfenahme optischer Vergrößerungsmittel und unter Verwendung eines Koloniezählgerätes.

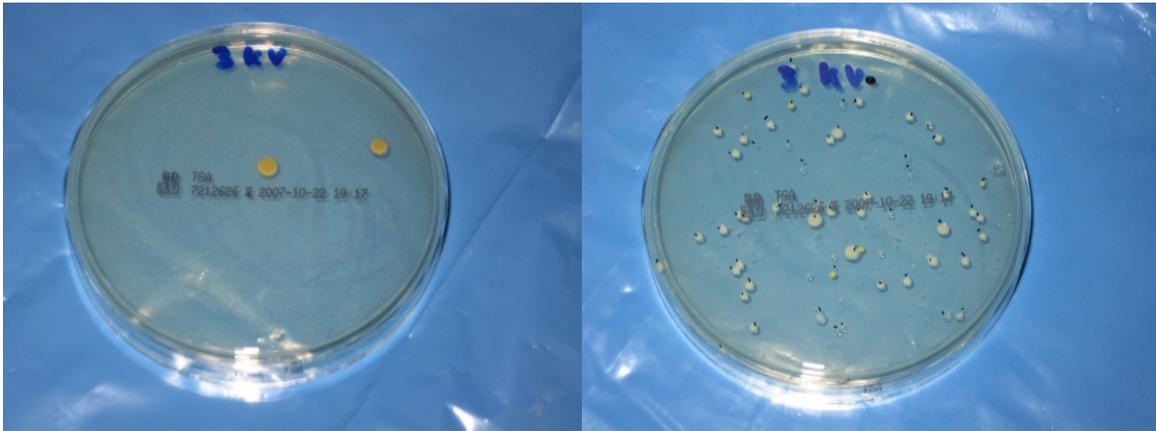


Abb. 2-8: Kühlwasserprobe vor dem Spülvorgang (links: aerobes Wachstum bei 22 °C, rechts: aerobes Wachstum bei 36 °C)

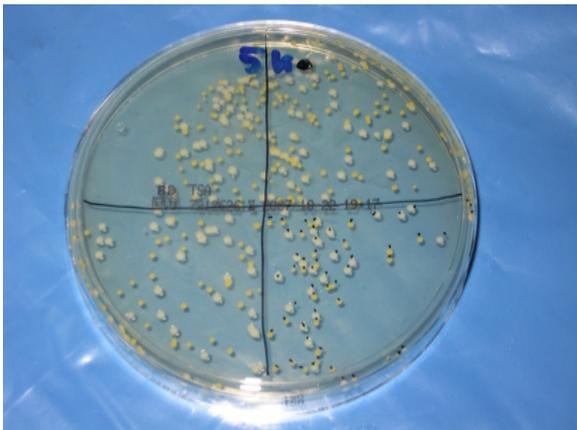


Abb. 2-9: Beispiel einer Agar-Platte, die für das vereinfachte Auszählen „geviertelt“ wurde

Stark bewachsene Agar-Platten sind zur Vereinfachung des Auszählens optisch in Viertel geteilt worden (s. Abb. 2-9). Ein Viertel wird ausgezählt und dieses dann mit vier multipliziert, um vereinfacht einen Gesamtwert für die Agar-Platte zu errechnen. Bei den stark bewachsenen Agar-Platten handelt es sich daher nicht um genaue Auszählungen, sondern um Schätzwerte.

Zur Differenzierung der Bakterien werden ausgewählte Kolonien auf TSA-Platten mittels eines Vereinzelausstriches überimpft und mit diesen Proben weitergearbeitet. Es wurden Kolonien ausgewählt, die optisch in Größe, Form und Farbe voneinander abweichen, um mit einem möglichst breiten Spektrum an Kolonien arbeiten zu können. Zur Kontrolle der Gramfärbung, des KOH-Tests, des Oxidase- und Katalase-Nachweises und der API-Testreihe wird mit Referenzkolonien gearbeitet. Es handelt sich hierbei um zwei vom Patienten isolierte Stämme, die mittels bunter Reihe als

Escherichia coli sowie mittels Koagulase-Test als *Staphylococcus aureus* differenziert worden sind.

2.3.4 Differenzierung des Probenmaterials mit der Gramfärbung

Die Gramfärbung ist eine Methode zur differenzierenden Färbung von Bakterien und beruht auf dem unterschiedlichen Aufbau der Bakterienhülle. Bakterien werden aufgrund ihres Färbeverhaltens in zwei Gruppen unterteilt. Grampositive Bakterien erscheinen nach dem Färbegang dunkelblau. Gramnegative Bakterien erscheinen rot. Die Gramfärbung setzt sich aus den drei Stufen Färben, Entfärben und Gegenfärben zusammen. Für die Versuchsdurchführung werden die Färbelösungen der Firma Kallies Feinchemie AG, Sebnitz verwendet.

Mit einer Pasteurpipette wird ein Tropfen 0,9 %ige NaCl-Lösung auf einen Objektträger gegeben und anschließend eine mit einer Einzelkolonie benetzte Platinöse darin verstrichen. Nach kurzer Antrocknung erfolgt eine Hitzefixierung, indem der Objektträger drei Mal vorsichtig durch die Flamme des Bunsenbrenners gezogen wird. Die derartig vorbereiteten Objektträger werden in ein Färbegestell gelegt und zunächst unter leicht schüttelnden Bewegungen zur Färbung für zwei Minuten in Kristallviolett-Lösung gestellt. Danach wird das Färbegestell mit den Objektträgern entnommen, unter destilliertem Wasser abgespült und zur Fixierung für eine Minute in Lugolsche-Lösung gestellt, wobei sich ein blauer Farbstoff-Komplex bildet. Die Präparate werden anschließend mit destilliertem Wasser abgespült und 20 Sekunden in Entfärbelösung gestellt. Dieser Vorgang bewirkt, dass sich gramnegative Bakterien wieder entfärben. Die Präparate werden anschließend mit destilliertem Wasser abgespült und für die Gegenfärbung eine Minute in Safranin-Lösung gestellt. Danach erfolgt ein letztes Abspülen mit destilliertem Wasser. Die Objektträger werden aus dem Färbegestell genommen, auf Papiertüchern getrocknet und anschließend unter einem Mikroskop betrachtet.

2.3.5 Differenzierung des Probenmaterials mit dem KOH-Test

Der KOH-Test dient als weitere Methode zur Differenzierung gramnegativer und grampositiver Bakterien.

Für den Nachweis wird ein Tropfen einer 3 %igen KOH-Lösung auf einen Objektträger gegeben. Mit Hilfe einer Platinöse wird das Probenmaterial aufgenommen, im Tropfen verrieben und nach 5 - 10 Sekunden vom Tropfen abgehoben. Im Falle einer positiven Reaktion kommt es zum „Fadenziehen“ oder einer Schleimbildung, die Bakterien sind dann gramnegativ. Bei grampositiven Bakterien kommt es nicht zum „Fadenziehen“ oder einer Schleimbildung.

2.3.6 Differenzierung des Probenmaterials mit dem Oxidase-Nachweis

Der Test dient zum Nachweis der Cytochrom C-Oxidase in der Atmungskette von Zellen. Dieses Enzym ist in den Mitochondrien der Eukaryoten und in der Cytoplasmamembran vieler Bakterien lokalisiert. Es vermittelt die Oxidation von Cytochrom C und Reduktion von O₂.

Für den Oxidase-Nachweis werden die Einzelkolonien mit einer Platinöse auf die Prüfzone eines Oxidase-Teststreifens gerieben. Im Falle einer positiven Reaktion kommt es innerhalb von 30 Sekunden zu einer Blaufärbung. Im Falle einer negativen Reaktion tritt keine Färbung auf.

2.3.7 Differenzierung des Probenmaterials mit dem Katalase-Nachweis

Das Enzym Katalase setzt die Spaltung von Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff um. Die Katalase-Reaktion eignet sich besonders dazu, Staphylokokken (Katalase-positiv) von Streptokokken und Enterokokken (Katalase-negativ) zu unterscheiden.

Für den Katalase-Nachweis wird Material der zu untersuchenden Kolonie auf einen Objektträger gegeben. Nach Zugabe eines Tropfens einer 3 %igen Wasserstoffperoxid-Lösung erkennt man die positive Katalase-Reaktion am Aufsteigen von Gasbläschen.

2.3.8 Differenzierung des Probenmaterials mit der API-Testreihe

Der Analytische Profil Index (API) ist eine industriell gefertigte „Bunte Reihe“ zur Identifizierung einer begrenzten Anzahl gramnegativer Enterobakterien (API 20 E) bzw. Nicht-Enterobakterien (API 20 NE).

Beide Testsysteme bestehen aus jeweils 20 kleinen Reaktionsgefäßen in einer Inkubationswanne, welche verschiedene Substrate zur Überprüfung biochemischer Eigenschaften enthalten (s. Abb. 2-10). Die Reaktionsgefäße werden mit der Bakteriensuspension beimpft, welche die Substrate löst. Dabei bewirken die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, Farbumschläge. Diese können anhand einer Ablesetabelle interpretiert werden.

Vor der Versuchsdurchführung muss bekannt sein, ob es sich um ein Enterobakterium oder ein Nicht-Enterobakterium handelt. Hierfür wird eine Reinkultur der zu untersuchenden Bakterienspezies mittels des Oxidase-Tests (s. Kap. 2.3.7) auf das Vorhandensein der Cytochrom C-Oxidase untersucht. Enterobakterien sind Oxidase-negativ, Nicht-Enterobakterien hingegen sind Oxidase-positiv. Voraussetzung für die Durchführung der Testreihe API 20 E ist die Anzucht der Reinkulturen auf dem Mac-Conkey-Selektivmedium. Voraussetzung für die Durchführung der Testreihe API 20 NE ist die Anzucht der Reinkulturen auf TSA-Platten.

Die gesamte Durchführung der API-Testreihe API 20 E und API 20 NE erfolgt gemäß der beigelegten Versuchsanleitung sowie unter Verwendung der entsprechenden Reagenzien.



Abb. 2-10: Teststreifen Nr. 7 der Testreihe API 20 NE 24 h nach Verarbeitung

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgt mit dem Anwenderprogramm StatXact für Windows, Version 6.1 (Cytel Software Corporation, USA) im Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité Berlin. StatXact dient der statistischen Analyse nicht-parametrischer Daten mit kleinem Stichprobenumfang.

Die gewonnenen Daten werden zusammengestellt und auf ihre Häufigkeitsverteilung untersucht. Für die statistische Analyse der Häufigkeiten werden der exakte Test nach Fisher und der χ^2 -Test als sogenannte nicht-parametrische Tests verwendet.

Der exakte Test nach Fisher ist ein Signifikanztest auf Unabhängigkeit in der Kontingenztafel, welcher auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Resultate liefert. Er entspricht im Anwendungsgebiet dem sogenannten χ^2 -Test. In der vorliegenden Arbeit dient der χ^2 -Test für die Auswertung von Kontingenztafeln größer als 2*2-Felder (Vierfeldertafel).

Die Daten werden auf ein Signifikanzniveau von 5 % getestet. Demnach liegt eine statistische Signifikanz vor, wenn $p < 0,05$ ist.

Um eine graphische Darstellung der gewonnenen Daten zu erhalten, werden diese mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Microsoft Corporation, USA) in Diagrammen wiedergegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Auswahl Probenmaterial

3.1.1 Aerobes - anaerobes Stoffwechselverhalten

An insgesamt sieben frei gewählten Terminen zwischen Juli 2007 und März 2008 sind Probenentnahmen durchgeführt worden. Bei der Probenauswertung wird während der ersten fünf Untersuchungstage kein anaerobes Wachstum beobachtet. Es wachsen nur Kolonien auf den unter aeroben Bedingungen inkubierten Agar-Platten (TSA). Daher ist ab der sechsten Probenentnahme auf eine anaerobe Bebrütung verzichtet worden.

3.1.2 *Pseudomonas* species

Für den Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* sind zusätzlich für jede Wasserentnahmestelle Cetrimid-Agar-Platten beprobt worden. Cetrimid ist ein Selektivmedium für *Pseudomonas* species. Es konnten jedoch an keinem der sieben Untersuchungstage *Pseudomonas* species auf den Cetrimid-Agar-Platten nachgewiesen werden.

Im vorliegenden Kapitel sind daher für die Darstellung der Messergebnisse und dem Vergleich der Wasserqualität zwischen Simulationsplätzen und Behandlungsplätzen nur Kolonien auf den TSA-Platten berücksichtigt worden, die unter aeroben Bedingungen inkubiert worden sind.

3.2 Mikrokolonien

In Anlehnung an die im Kapitel 2.3.3 geschilderte Probenauswertung treten auf dem in dieser Untersuchung zu begutachtenden Probenmaterial auch sehr kleine, kaum zu erkennende Kolonien auf. Sie werden im Folgenden als Mikrokolonien (MK) bezeichnet. Bei der Auszählung der Agar-Platten wird entsprechend ihrer Größe zwischen Kolonien und Mikrokolonien unterschieden. Beispielhaft sind in der Abbildung 3-1 eine Agar-Platte mit den zählbaren Kolonien und die in der Ausschnittsvergrößerung erkennbaren Mikrokolonien dargestellt. Die Kolonien sind mit einem schwarzen Filzstift markiert. Die

kleinen unmarkierten Kolonien sind die, nur mit optischer Vergrößerungshilfe erkennbaren Mikrokolonien.

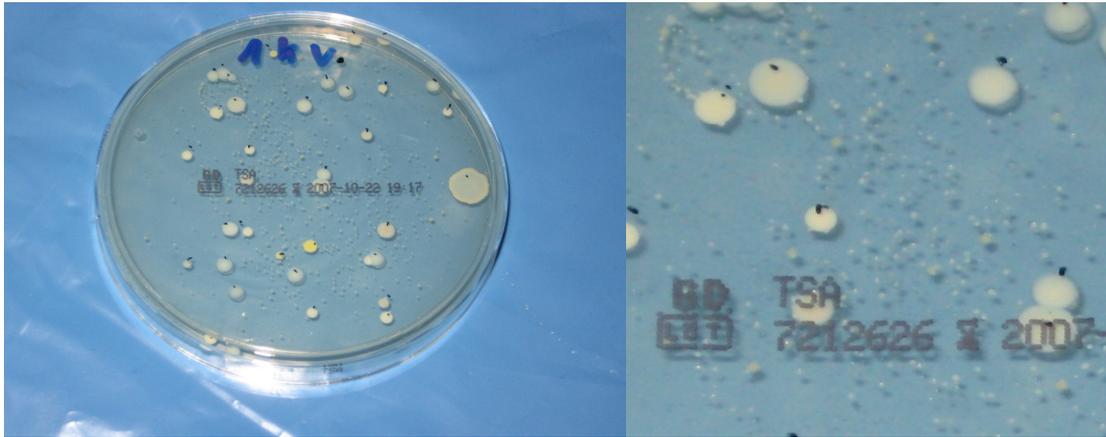


Abb. 3-1: Beispiel einer TSA-Platte mit den Kolonien (markiert) und den unmarkierten, sogenannten Mikrokolonien (siehe Ausschnittsvergrößerung)

Die Mikrokolonien werden entsprechend ihrer Größe qualitativ in drei Gruppen eingeteilt:

- winzige Mikrokolonien, d. h. mit Lupe (6- bis 8-fache Vergrößerung) gerade noch zu erkennen,
- sehr kleine Mikrokolonien, d. h. mit Lupe (6- bis 8-fache Vergrößerung) gut zu erkennen und
- kleine Mikrokolonien, d. h. mit bloßem Auge gerade noch zu erkennen.

Nach der Quantität werden die Mikrokolonien in einzelne, wenige und viele Mikrokolonien unterteilt.

Nachfolgend zeigen die Tabellen 3-1 und 3-2 eine Gesamtübersicht von den an den Simulationsplätzen und an den Behandlungsplätzen nachgewiesenen Mikrokolonien. Da der Schwerpunkt dieses Kapitels auf den Mikrokolonien ruht, werden die Kolonien erst in den nachfolgenden Kapiteln in die Ergebnisdarstellung mit einbezogen.

Tab. 3-1: Nachgewiesene Mikrokolonien an den Simulationsplätzen (SP) (n = 448)

Datum	Arbeitsplatz	MK 22 °C winzig		MK 22 °C sehr klein		MK 22 °C klein		MK 36 °C winzig		MK 36 °C sehr klein		MK 36 °C klein			
		TW	KW-VA	KW	LWS	TW	KW-VA	KW	LWS	TW	KW-VA	KW	LWS	TW	KW-VA
24.07.07	SP1														
07.08.07	SP1														
21.08.07	SP1														
11.09.07	SP1							2							
02.10.07	SP1														
23.10.07	SP1														
04.03.08	SP1														
24.07.07	SP3		2	2			2								
07.08.07	SP3			2											
21.08.07	SP3										2				
11.09.07	SP3			2			2								
02.10.07	SP3		2	1											
23.10.07	SP3														
04.03.08	SP3														
24.07.07	SP5		2	2											
07.08.07	SP5										2				
21.08.07	SP5									2					
11.09.07	SP5							3					1		
02.10.07	SP5			3											
23.10.07	SP5														
04.03.08	SP5														
24.07.07	SP7		2	2			2				2				
07.08.07	SP7		2	2						2	2				
21.08.07	SP7														
11.09.07	SP7						2						3		
02.10.07	SP7				1	1									
23.10.07	SP7			1											
04.03.08	SP7		3												

Legende:
 TW = Trinkwasser
 KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülvorgang
 MGF = Mundglasfüller
 LWS = Luft-Wasser-Spritze
 MK = Mikrokolonien

1 = vereinzelte Mikrokolonien treten auf
 2 = wenig Mikrokolonien treten auf
 3 = viele Mikrokolonien treten auf

Tab. 3-2: Nachgewiesene Mikrokolonien an den Behandlungsplätzen (BP) (n = 448)

Datum	Arbeitsplatz	MK 22 °C		MK 22 °C		MK 36 °C		MK 36 °C	
		winzig	sehr klein						
		TW	MGF	KW	LWS	TW	MGF	KW	LWS
24.07.07	BP2								
07.08.07	BP2	2							
21.08.07	BP2						2		
11.09.07	BP2								
02.10.07	BP2								
23.10.07	BP2								
04.03.08	BP2								
24.07.07	BP4								
07.08.07	BP4								
21.08.07	BP4								
11.09.07	BP4								
02.10.07	BP4								
23.10.07	BP4								
04.03.08	BP4	3							
24.07.07	BP6								
07.08.07	BP6					2			
21.08.07	BP6								
11.09.07	BP6								
02.10.07	BP6								
23.10.07	BP6								
04.03.08	BP6								
24.07.07	BP8	2				1	1	1	
07.08.07	BP8								
21.08.07	BP8						2		
11.09.07	BP8								
02.10.07	BP8								
23.10.07	BP8								
04.03.08	BP8	1	2	3	3				1

Legende:
 TW = Trinkwasser
 KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülvorgang
 MGF = Mundglasfüller
 LWS = Luft-Wasser-Spritze
 MK = Mikrokolonien

1 = vereinzelt Mikrokolonien treten auf
 2 = wenig Mikrokolonien treten auf
 3 = viele Mikrokolonien treten auf

Aus den Übersichtstabellen 3-1 und 3-2 geht hervor, dass von allen gewonnenen Proben (n = 448) Mikrokolonien an den Simulationsplätzen häufiger nachgewiesen werden als an den Behandlungsplätzen. Dieses wird auch anhand von Tabelle 3-3 erläutert.

Tabelle 3-1 zeigt zudem, dass an den Simulationsplätzen bis auf zwei Ausnahmen vorrangig die winzigen und sehr kleinen Mikrokolonien nachgewiesen werden. Die Mikrokolonien kommen hier gehäuft im Wasser der Luft-Wasser-Spritze und im Kühlwasser vor. Interessant ist, dass im zuvor entnommenen Kühlwasser vor dem Spülen keine Mikrokolonien nachgewiesen werden. Ein von der Inkubationstemperatur abhängiges Auftreten an den Simulationsplätzen ist nicht ersichtlich, jedoch treten bei 22 °C vermehrt die winzigen Mikrokolonien und bei 36 °C zu gleichen Teilen die winzigen und die kleinen Mikrokolonien auf.

Tabelle 3-2 zeigt hingegen, dass an den Behandlungsplätzen nur winzige und sehr kleine Mikrokolonien vorkommen. Kleine Mikrokolonien werden hier nicht nachgewiesen. Eine spezifische Zugehörigkeit zu einer bestimmten Wasserentnahmestelle kann an den Behandlungsplätzen - u. a. wegen des geringen Nachweises - nicht beobachtet werden. Bei 22 °C treten nur die winzigen Mikrokolonien auf, bei 36 °C werden winzige und die sehr kleinen Mikrokolonien nachgewiesen.

Um eine vereinfachte Darstellung über die Mikrokolonien zu erhalten, sind die aus der Tabelle 3-1 und 3-2 gewonnenen Ergebnisse im Folgenden unterteilt dargestellt:

- nach Auftreten in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur
- nach ihrer Größe,
- nach ihrer Quantität und
- nach ihrem Auftreten an den einzelnen Wasserentnahmestellen.

So zeigt die Tabelle 3-3, dass in den Proben an den Simulationsplätzen (SP) insgesamt mehr Mikrokolonien nachgewiesen werden als an den Behandlungsplätzen. Sowohl bei 22 °C und bei 36 °C treten bei 19 % der Proben von den Simulationsplätzen Mikrokolonien auf. Hingegen weisen nur 6 % der Proben der Behandlungsplätze (BP) sowohl bei 22 °C und bei 36 °C Mikrokolonien auf. Trotz dieser identischen Prozentwerte bei beiden Inkubationstemperaturen unterscheiden sich die Mikrokolonien dabei in ihrer Art und Größe und in ihrem Vorkommen an den einzelnen Wasseraustrittsstellen, so wie es in den nachfolgenden Tabellen ersichtlich wird.

Tab. 3-3: Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur (n = 112)

(n = 112)	22 °C	36 °C
Simulationsplätze	19 %	19 %
Behandlungsplätze	6 %	6 %

Wie in der Tabelle 3-4 ersichtlich, treten in den Proben bei 22 °C (n = 224) und bei 36 °C (n = 224) in jeweils mehr als 85 % der Fälle keine Mikrokolonien auf. Es werden vorrangig die winzigen und sehr kleinen Mikrokolonien nachgewiesen. Kleine Mikrokolonien treten kaum oder gar nicht auf.

Die Proben zeigen bei 22 °C und bei 36 °C ähnliche Werte.

Tab. 3-4: Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit von ihrer Größe bei 22 °C und bei 36 °C an Simulationsplätzen und Behandlungsplätzen (n = 224)

(n = 224)	keine Mikrokolonien	winzige Mikrokolonien	sehr kleine Mikrokolonien	kleine Mikrokolonien
22 °C	87 %	10 %	3 %	0 %
36 °C	88 %	5 %	6 %	1 %

Des Weiteren ist aus der Tabelle 3-5 zu entnehmen, dass quantitativ sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C am häufigsten die Kategorie „wenige Mikrokolonien“ auftritt. Seltener kommen sie „einzeln“ vor und noch seltener kommen „viele Mikrokolonien“ vor.

Tab. 3-5: Quantitatives Auftreten von Mikrokolonien bei 22 °C und bei 36 °C an Simulationsplätzen und Behandlungsplätzen (n = 224)

(n = 224)	keine Mikrokolonien	einzelne Mikrokolonien	wenige Mikrokolonien	viele Mikrokolonien
22 °C	88 %	2 %	8 %	2 %
36 °C	87 %	4 %	8 %	1 %

In der Tabelle 3-6 und 3-7 ist zudem dargestellt, an welchen Wasserentnahmestellen die Mikrokolonien in Relation zu ihrem Gesamtvorkommen verstärkt auftreten. Die hierzu untersuchten Wasserentnahmestellen sind: das Trinkwasser (TW), das Kühlwasser vor dem Spülvorgang (KW-VA), das Kühlwasser (KW), das Wasser der Luft-Wasser-Spritze (LWS) und das Wasser des Mundglasfüllers (MGF). Dabei ist zu berücksichtigen, dass das Kühlwasser vor dem Spülvorgang nur an den

Simulationsplätzen und das Wasser des Mundglasfüllers nur an den Behandlungsplätzen untersucht wurden.

Am häufigsten treten die Mikrokolonien im Wasser der Luft-Wasser-Spritze und im Kühlwasser auf. Obwohl es zu erwarten wäre, sind im Kühlwasser vor dem Spülvorgang keine Mikrokolonien nachzuweisen. Im Trinkwasser und im Wasser des Mundglasfüllers sind sie nur in geringen Prozentwerten nachzuweisen.

Tab. 3-6: Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit ihres Auftretens an den einzelnen Wasseraustrittsstellen bei 22 °C und bei 36 °C an den Simulationsplätzen (n = 112)

(n = 112)	Trinkwasser	Kühlwasser	Luft-Wasser-Spritze
22 °C + 36 °C	6 %	21 %	20 %

Tab. 3-7: Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit ihres Auftretens an den einzelnen Wasseraustrittsstellen bei 22 °C und bei 36 °C an den Behandlungsplätzen (n = 56)

(n = 56)	Kühlwasser vor dem Spülen	Mundglasfüller
22 °C + 36 °C	0 %	7 %

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu anderen Untersuchungen zu ermöglichen, werden für die Darstellung der Messergebnisse zwischen den Simulationsplätzen und den Behandlungsplätzen im Folgenden nur noch die „Kolonien“ berücksichtigt. Die „Mikrokolonien“ werden in diesen Vergleich nicht mit einbezogen.

3.3 Allgemeiner Überblick über die Koloniezahlen an den Simulationseinheiten

Laut der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut [31] müssen in den zahnärztlichen Behandlungseinheiten festgelegte Richtwerte eingehalten werden. So dürfen bei 36 °C max. 100 KBE/ml enthalten sein. In Anlehnung an den Richtwert wird in dieser Untersuchung die Häufigkeit des Auftretens von Koloniezahlen oberhalb von 100 KBE/ml bei 36 °C und zusätzlich bei 22 °C aufgezeigt. Um der Interpretation der stark streuenden Daten gerecht zu werden und einen ersten Überblick zu erhalten, dient dieser Wert der Gruppierung der folgenden Messergebnisse. Die Koloniezahlen der einzelnen Wasserentnahmestellen sind für

diesen ersten Datenüberblick vorerst nicht dargestellt.

An sieben Untersuchungstagen wurden an insgesamt vier Simulationseinheiten, davon jeweils vier Simulationsplätze und vier Behandlungsplätze Wasserproben entnommen. Dadurch ergeben sich für die einzelnen Wasserentnahmestellen jeweils 28 Proben von den Simulationsplätzen und 28 Proben von den Behandlungsplätzen. Dabei werden das Kühlwasser vor dem Spülvorgang nur an den Simulationsplätzen und das Wasser des Mundglasfüllers nur an den Behandlungsplätzen untersucht. Das Auftreten von Koloniezahlen größer als 100 KBE/ml wird anhand von Vierfeldertafeln angegeben.

3.3.1 Koloniezahlen an den Simulationsplätzen

In der Tabelle 3-8 sind die Koloniezahlen bei 22 °C und bei 36 °C größer als 100 KBE/ml an den Simulationsplätzen aufgelistet.

An den Simulationsplätzen wurden die Koloniezahlen des Trinkwassers, des Kühlwassers vor dem Spülvorgang, des Kühlwassers und des Wassers der Luft-Wasser-Spritze untersucht.

Bei 22 °C und bei 36 °C zeigt sich bei allen Proben, mit Ausnahme des Kühlwassers, ein ähnlich häufiges Vorkommen von Koloniezahlen über 100 KBE/ml. Am häufigsten treten jedoch Koloniezahlen über 100 KBE/ml bei den Proben des Kühlwassers vor dem Spülvorgang, bei den Proben der Luft-Wasser-Spritze sowie bei den bei 36 °C inkubierten Proben des Kühlwassers auf. Bei den Trinkwasserproben treten weder bei 22 °C noch bei 36 °C Koloniezahlen größer als 100 KBE/ml auf.

Somit treten bei 22 °C bei 29 % und bei 36 °C bei 47 % aller Proben an den Simulationsplätzen Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf.

Tab. 3-8: Häufigkeit des Vorkommens von Koloniezahlen größer als 100 KBE/ml an den Simulationsplätzen bei 22 °C und bei 36 °C (n = 28)

	Koloniezahlen Simulationsplätze > 100 KBE/ml	
	22 °C	36 °C
Trinkwasser	0	0
Kühlwasser vor dem Spülen	18	20
Kühlwasser	2	17
Luft-Wasser-Spritze	12	16

3.3.2 Koloniezahlen an den Behandlungsplätzen

Die Tabelle 3-9 zeigt die Koloniezahlen bei 22 °C und bei 36 °C größer als 100 KBE/ml an den Behandlungsplätzen.

Hier wurden das Trinkwasser, das Wasser des Mundglasfüllers, das Kühlwasser und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze untersucht.

Bei 22 °C sind keine Koloniezahlen größer als 100 KBE/ml nachzuweisen und bei 36 °C treten nur in wenigen Proben Koloniezahlen oberhalb von 100 KBE/ml auf. Wie auch schon an den Simulationsplätzen festgestellt worden ist, werden auch in den Trinkwasserproben an den Behandlungsplätzen nur Koloniezahlen bis 100 KBE/ml nachgewiesen.

Somit treten bei 22 °C bei keiner und bei 36 °C bei 6 % aller Proben an den Behandlungsplätzen Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf.

Tab. 3-9: Häufigkeit des Vorkommens von Koloniezahlen größer als 100 KBE/ml an den Behandlungsplätzen bei 22 °C und bei 36 °C (n = 28)

	Koloniezahlen Behandlungsplätze > 100 KBE/ml	
	22 °C	36 °C
Trinkwasser	0	0
Mundglasfüller	0	2
Kühlwasser	0	2
Luft-Wasser-Spritze	0	3

3.4 Koloniezahlen an den einzelnen Wasserentnahmestellen

In den folgenden Grafiken ist die Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen der entsprechenden Wasserentnahmestellen als Prozentwert dargestellt. Die Prozentwerte beziehen sich dabei jeweils auf 28 Proben jeder Wasserentnahmestelle von den Simulationsplätzen und 28 Proben von den Behandlungsplätzen.

In einer ersten Übersicht (Abbildungen 3-2, 3-4 und 3-6) wird jeweils das Vorkommen von Koloniezahlen größer und kleiner als 100 KBE/ml aller Wasserentnahmestellen für die Simulationsplätze bzw. für die Behandlungsplätze gegenübergestellt. In weiteren Grafiken (Abbildungen 3-3, 3-5 und 3-7) werden die Koloniezahlen gruppiert dargestellt, um einen Überblick über die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Werte zu erhalten. Auf

Grund der stark streuenden Daten wird zu diesem Zeitpunkt nicht auf einzelne Koloniezahlen eingegangen, sondern eine Gruppierung gewählt, die an die Richtwerte der RKI-Empfehlung [31] angelehnt ist. Die Koloniezahlen werden entsprechend der Koloniedichte in folgende vier Kategorien eingeteilt:

1. kein Wachstum/ml,
2. Wachstum bis 100 KBE/ml, entsprechend dem als tolerabel eingestuften Richtwert der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut,
3. Wachstum bis 4000 KBE/ml, einzelne Kolonien sind gerade noch erkennbar, und
4. Wachstum über 4000 KBE/ml, bei dem die gesamte Oberfläche der Agar-Platte einheitlich bewachsen ist und Einzelkolonien nicht mehr unterscheidbar sind.

Verglichen werden im Folgenden das Trinkwasser (TW), das Kühlwasser (KW) und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze (LWS) bei 22 °C und bei 36 °C, da nur die Proben dieser Wasserentnahmestellen gleichermaßen am Simulationsplatz und am Behandlungsplatz zum direkten Vergleich zur Verfügung stehen. Die Ergebnisse für das Wasser des Mundglasfüllers (MGF) am Behandlungsplatz und das Kühlwasser vor dem Spülvorgang (KW-VA) am Simulationsplatz werden im Anschluss beschrieben.

3.4.1 Koloniezahlen im Trinkwasser

Wie in der Abbildung 3-2 und 3-3 ersichtlich, treten im Trinkwasser an keinem Untersuchungsplatz, weder bei 22 °C noch bei 36 °C, Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf. Die Trinkwasserverordnung gilt zwar nicht für Wasser, das sich in wasserführenden, an die Trinkwasser-Installation angeschlossenen Apparaten befindet [67]. Dennoch entsprechen alle Trinkwasserproben der Simulationsplätze und der Behandlungsplätze den Anforderungen des von der Trinkwasserverordnung vorgegebenen Richtwertes.

Aus der Abbildung 3-3 geht außerdem hervor, dass bei 22 °C sowohl an den Simulationsplätzen als auch an den Behandlungsplätzen in etwa 30 % der Fälle „kein Wachstum“, d. h. 0 KBE/ml nachzuweisen ist. Bei 36 °C zeigen sogar 35 % der Trinkwasserproben der Simulationsplätze und mehr als 50 % der Proben an den Behandlungsplätzen „kein Wachstum“.

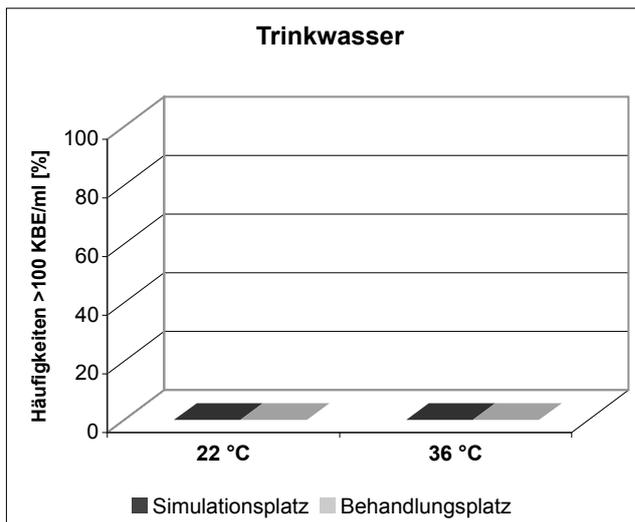


Abb. 3-2: Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Trinkwasserproben

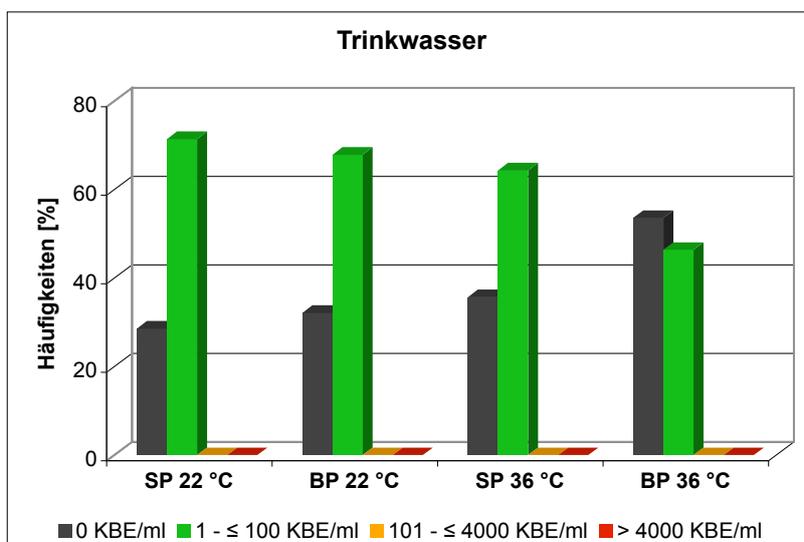


Abb. 3-3: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Trinkwasser (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)

3.4.2 Koloniezahlen im Kühlwasser

Aus der Abbildung 3-4 geht hervor, dass bei 22 °C beim Kühlwasser der Simulationsplätze etwas häufiger Koloniezahlen über 100 KBE/ml nachgewiesen werden als beim Kühlwasser der Behandlungsplätze. Mit einem p-Wert von 0,49 (exakter Test nach Fischer) ist dieser Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant.

Bei 36 °C zeigen hingegen 61 % der Proben von den Simulationsplätzen Koloniezahlen über 100 KBE/ml. An den Behandlungsplätzen treten nur in 7 % der Fälle Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf. Der exakte Test nach Fischer ergibt hier, dass bei

den bei 36 °C inkubierten Proben des Kühlwassers der Simulationsplätze signifikant häufiger Koloniezahlen über 100 KBE/ml auftreten als bei den Kühlwasserproben der Behandlungsplätze ($p < 0,001$).

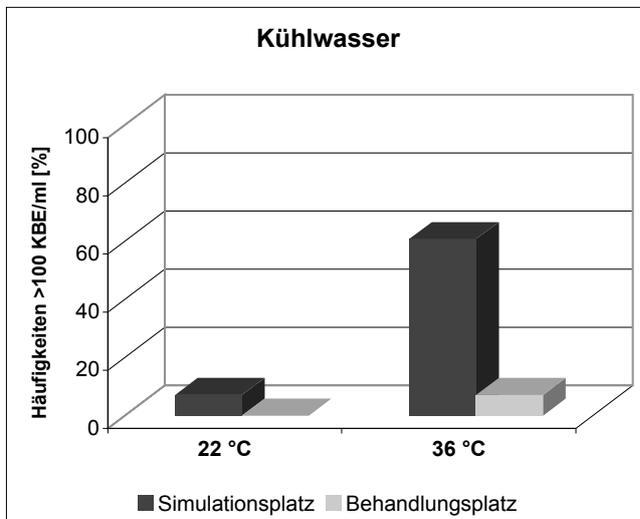


Abb. 3-4: Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Kühlwasserproben

Aus der Abbildung 3-5 geht zudem hervor, dass bei 22 °C bei ca. 30 % aller Proben der Simulationsplätze „kein Wachstum“ auftritt, 25 % zeigen Koloniezahlen „bis 100 KBE/ml“ und 45 % aller Proben liegen im Bereich „bis 4000 KBE/ml“. Ähnlich verhalten sich die Werte bei 36 °C: So tritt an den Simulationsplätzen zu 7 % „kein Wachstum“ auf, unter die Kategorie „bis 100 KBE/ml“ fallen hier 32 % der Koloniezahlen und 61 % der entnommenen Kühlwasserproben haben Koloniezahlen im Bereich „bis 4000 KBE/ml“.

Im Unterschied dazu fallen an den Behandlungsplätzen sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C fast alle Proben unter die Kategorie „kein Wachstum“. Lediglich bei 36 °C treten auch hier in 7 % der Fälle Koloniezahlen im Bereich „bis 4000 KBE/ml“ auf.

Der χ^2 -Test ergibt mit einem p-Wert $< 0,001$, dass an den Simulationsplätzen im Vergleich zu den Behandlungsplätzen signifikante Unterschiede, vor allem in hohen Koloniezahlbereichen, auftreten.

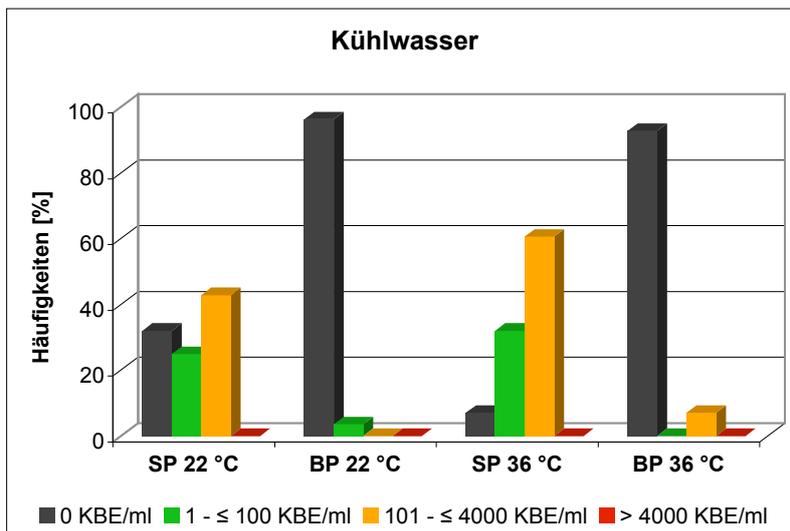


Abb. 3-5: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Kühlwasser (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)

3.4.3 Koloniezahlen im Wasser der Luft-Wasser-Spritze

In der Abbildung 3-6 ist zu erkennen, dass im Wasser der Luft-Wasser-Spritze an den Behandlungsplätzen bei 22 °C keine Koloniezahlen über 100 KBE/ml auftreten. Bei 36 °C zeigen nur 7 % der Proben Werte oberhalb von 100 KBE/ml.

Die Abbildung zeigt weiterhin, dass sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C an den Simulationsplätzen deutlich häufiger Koloniezahlen über 100 KBE/ml auftreten als an den Behandlungsplätzen. Mit einem p-Wert von $p < 0,001$ (exakter Test nach Fischer) ist dies signifikant häufiger als an den Behandlungsplätzen.

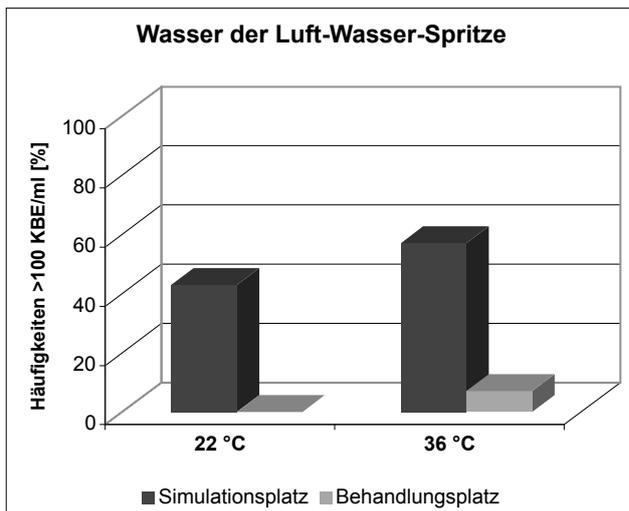


Abb. 3-6: Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Proben der Luft-Wasser-Spritze

In der Abbildung 3-7 ist auffällig, dass die Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Wasser der Luft-Wasser-Spritze an den Simulationsplätzen und den Behandlungsplätzen ähnlich zu den Ergebnissen des zuvor beschriebenen Kühlwassers ist (siehe Abbildung 3-5). Im Unterschied zum Kühlwasser treten jedoch im Wasser der Luft-Wasser-Spritze an den Simulationsplätzen sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C bei etwa 4 % der Proben Werte „über 4000 KBE/ml“ auf, d. h. die gesamte Oberfläche der Agar-Platten ist bewachsen.

Der χ^2 -Test ergibt, dass, wie auch beim Kühlwasser, an den Simulationsplätzen im Vergleich zu den Behandlungsplätzen signifikant mehr Proben, vor allem in hohen Koloniezahlbereichen, auftreten ($p < 0,001$).

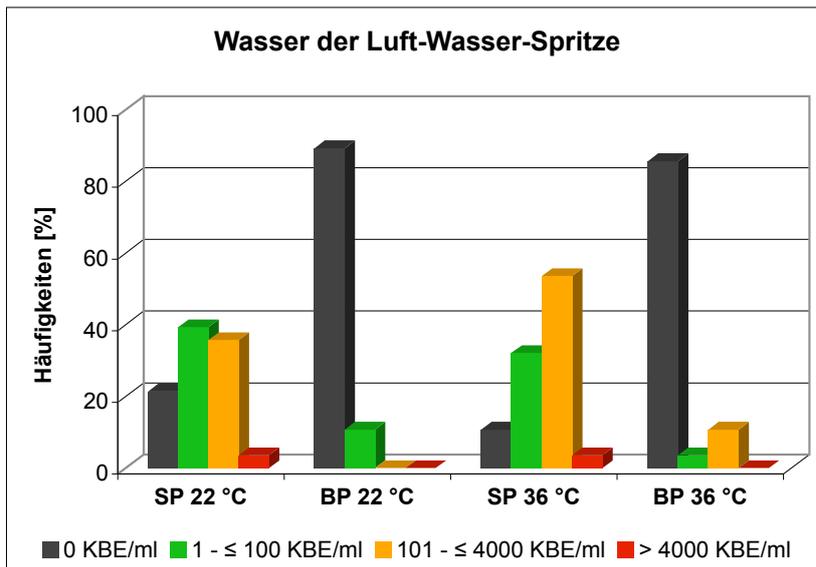


Abb. 3-7: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Wasser der Luft-Wasser-Spritze (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)

3.4.4 Koloniezahlen im Wasser des Mundglasfüllers

Das an den Behandlungsplätzen angebaute Speibecken verfügt über einen Mundglasfüller. Das daraus abgelassene Wasser zeigt, wie in Abbildung 3-8 dargestellt, bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C in 90 % „kein Wachstum“ und in 10 % der Fälle Koloniezahlen „bis 100 KBE/ml“. Bei 36 °C verteilen sich die Werte ähnlich, jedoch liegen bei 7 % der Proben zusätzlich Koloniezahlen in der Kategorie „bis 4000 KBE/ml“ vor. Diese erhöhten Koloniezahlen ergeben sich, wie in Kapitel 3.5.3 und 3.5.4 dargestellt wird, insbesondere durch die Werte der letzten beiden Untersuchungstage der Versuchsreihe (s. Abb. 3-21 und 3-25). Ansonsten zeigen die Koloniezahlen des Wassers des Mundglasfüllers ähnliche Ergebnisse wie beim Trinkwasser.

Bei den gewonnenen Proben des Wassers des Mundglasfüllers ist kein temperaturabhängiger Unterschied ersichtlich. Eine statistische Auswertung erübrigt sich.

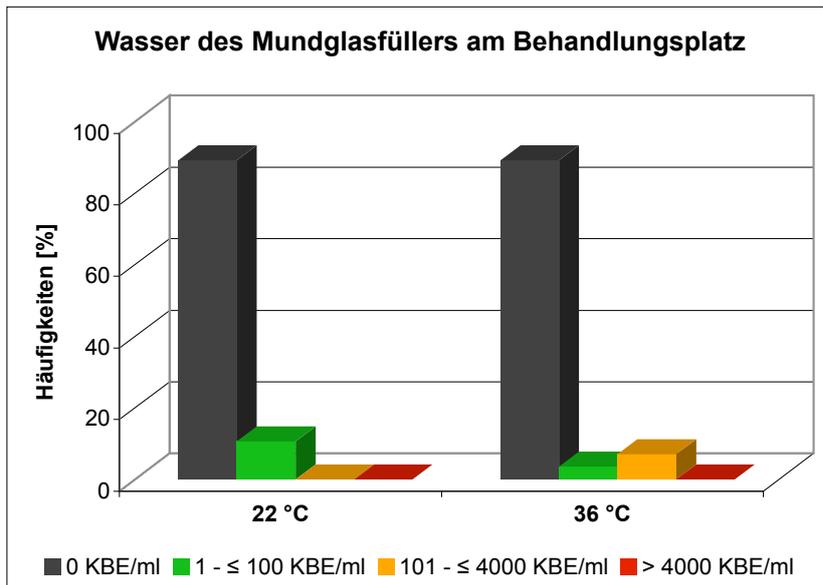


Abb. 3-8: Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Wasser des Mundglasfüllers

3.4.5 Koloniezahlen im Kühlwasser vor und nach dem Spülvorgang

Um den Einfluss des Spülens auf die Koloniezahlen zu untersuchen, wird vom Kühlwasser jeweils eine Probe vor dem von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) [31] empfohlenem zweiminütigen Spülvorgang und danach entnommen. Die Probenentnahme erfolgt für diese Untersuchung nur an den Simulationsplätzen.

In der Abbildung 3-9 wird deutlich, dass bei 22 °C 64 % der Kühlwasserproben vor dem Spülvorgang Koloniezahlen über 100 KBE/ml zeigen, nach dem Spülen fällt der Wert auf 7 %.

Die statistische Auswertung mit Hilfe des exakten Tests nach Fischer ergibt einen p-Wert von $p = 0,01$. Das Kühlwasser vor dem Spülvorgang ist somit statistisch signifikant stärker kontaminiert als das Kühlwasser nach dem zweiminütigen Spülvorgang.

Im Unterschied dazu beträgt der Anteil der Koloniezahlen über 100 KBE/ml bei 36 °C vor dem Spülen 71 % und verringert sich auf 61 % nach dem Spülen. Die statistische Auswertung mit Hilfe des exakten Tests nach Fischer ergibt hier einen p-Wert von $p = 0,49$. Dieses Ergebnis ist damit statistisch nicht signifikant.

Dabei lässt sich der Unterschied bei den Inkubationstemperaturen wie folgt erklären:

Bei den jeweiligen Kühlwasserproben handelt es sich um Wasserproben, die zum einen bei 22 °C und zum anderen bei 36 °C inkubiert wurden. Da der Unterschied zum Kühlwasser vor dem Spülvorgang bei 36 °C nicht so deutlich ausfällt, ist zu vermuten, dass die Mikroorganismen bei 36 °C besser wachsen können bzw. optimalere Wachstumsbedingungen haben als bei 22 °C.

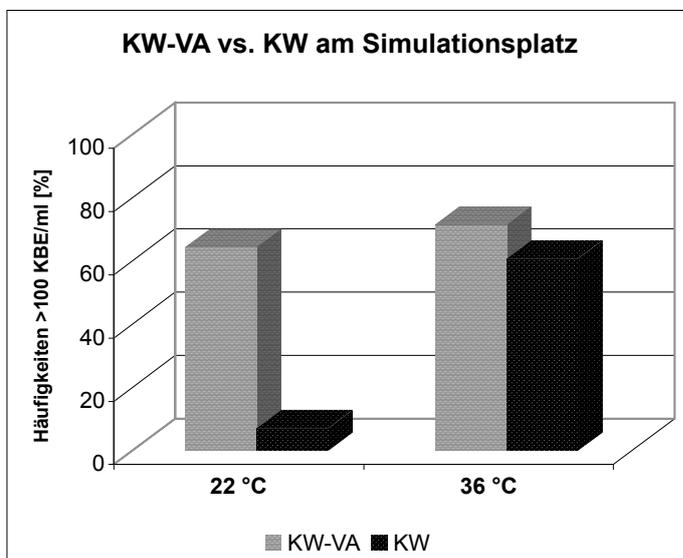


Abb. 3-9: Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Kühlwasserproben an den Simulationsplätzen vor und nach dem Spülvorgang in %

(KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser)

3.5 Koloniezahlen der einzelnen Untersuchungsplätze im zeitlichen Verlauf

Im Folgenden werden die Koloniezahlen der einzelnen Untersuchungsplätze im zeitlichen Verlauf dargestellt. Zur übersichtlicheren Darstellung sind die einzelnen Koloniezahlen in fünf farblich unterschiedlichen Kategorien eingeteilt. Dabei werden Koloniezahlen bis 100 KBE/ml grün dargestellt, Koloniezahlbereiche von 101-500 KBE/ml hellgelb, Koloniezahlbereiche von 501-2000 KBE/ml dunkelgelb, Koloniezahlbereiche von 2001-4000 KBE/ml orange und Koloniezahlen über 4000 KBE/ml werden rot gekennzeichnet. Im Gegensatz zum vorangestellten Datenüberblick des Kapitels 3.4 erfolgt somit eine detailliertere Auswertung der einzelnen Koloniezahlbereiche. Die einzelnen Untersuchungstage sind hierzu durchgehend nummeriert. Dabei liegen zwischen dem 1., 2. und 3. Untersuchungstag

jeweils zwei Wochen, ab dem 3. bis zum 6. Untersuchungstag drei Wochen. Zwischen dem 6. und 7. Untersuchungstag liegen fünf Monate.

Die verwendeten Abkürzungen SP 1, SP 3, SP 5 und SP 7 stehen für die vier untersuchten Simulationsplätze. Die Abkürzungen BP 2, BP 4, BP 6 und BP 8 stehen für die vier untersuchten Behandlungsplätze.

Die Ergebnisse der jeweils räumlich und funktionell miteinander verbundenen Arbeitsplätze einer Simulationseinheit werden jeweils durch zwei nebeneinanderliegende Grafiken dargestellt. Es gehören zusammen: SP 1 und BP 2, SP 3 und BP 4, SP 5 und BP 6, sowie SP 7 und BP 8.

Es sei vorangestellt, dass aus den Abbildungen 3-10 bis 3-25 hervorgeht, dass das Trinkwasser an allen Untersuchungsplätzen durchgehend Koloniezahlen bis 100 KBE/ml aufweist. Ebenso zeigen die Proben der Behandlungsplätze, mit wenigen Ausnahmen, durchgehend Koloniezahlen bis 100 KBE/ml. Betroffen sind das Wasser der Luft-Wasser-Spritze am Behandlungsplatz Nr. 4, sowie das Wasser des Mundglasfüllers, das Kühlwasser und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze der Behandlungsplätze Nr. 6 und Nr. 8, jeweils am letzten Untersuchungstag bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C. Eine mögliche Ursache hierfür kann die Stagnation des Wassers in den Leitungen der Simulationseinheiten sein, da diese zum Untersuchungszeitpunkt - in den Semesterferien, mehrere Wochen nicht benutzt und durchgespült worden sind. Demgegenüber zeigen die entsprechenden Werte der Behandlungsplätze bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C eine einwandfreie Wasserqualität, so dass eine Kontamination der Wasserleitungen auszuschließen ist.

3.5.1 Koloniezahlen bei SP 1 und BP 2 im zeitlichen Verlauf

Auffällig sind in den Abbildungen 3-10 und 3-12 die durchgängig sehr hohen Koloniezahlen am Simulationsplatz SP 1, insbesondere bei den Kühlwasserproben bei 22 °C vor dem Spülen bis zum 5. Untersuchungstag. Trotz dieses hohen Ausgangswertes liegen die Koloniezahlen nach dem zweiminütigen Spülvorgang beim Kühlwasser am 3., 4. und 5. Untersuchungstag dennoch unter 101 KBE/ml.

Wie man aus Abbildung 3-12 entnehmen kann, weisen das Kühlwasser vor dem Spülvorgang, das Kühlwasser und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze bei 36 °C bis zum 4. Untersuchungstag Koloniezahlen bis zu 4000 KBE/ml auf, während ab dem 5. Untersuchungstag die Koloniezahlen max. bei 100 KBE/ml liegen.

Es wird deutlich, dass der Simulationsplatz SP 1, mit Ausnahme der Trinkwasserentnahmestelle deutlich höhere Koloniezahlen, als der ihm gegenüberliegende Behandlungsplatz BP 2 aufweist. Der Behandlungsplatz BP 2 weist, wie aus den Abbildungen 3-11 und 3-13 hervorgeht, zudem bei jeder Probenentnahme Koloniezahlen unter 101 KBE/ml auf.

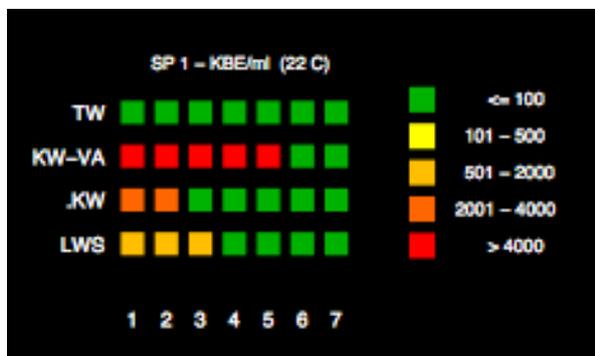


Abb. 3-10: Koloniezahlen bei SP 1 bei 22 °C

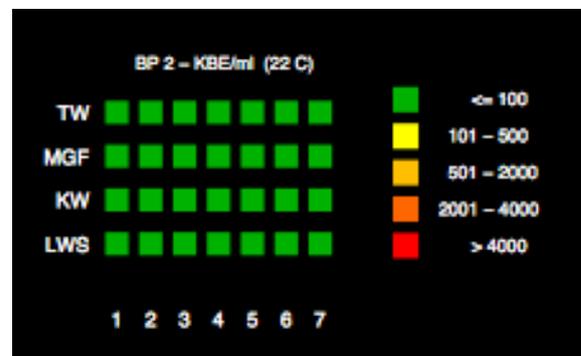


Abb. 3-11: Koloniezahlen bei BP 2 bei 22 °C

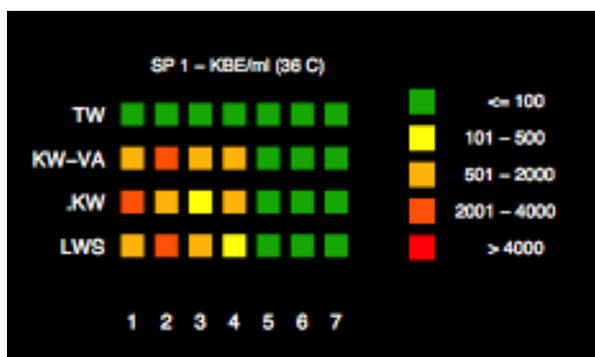


Abb. 3-12: Koloniezahlen bei SP 1 bei 36 °C

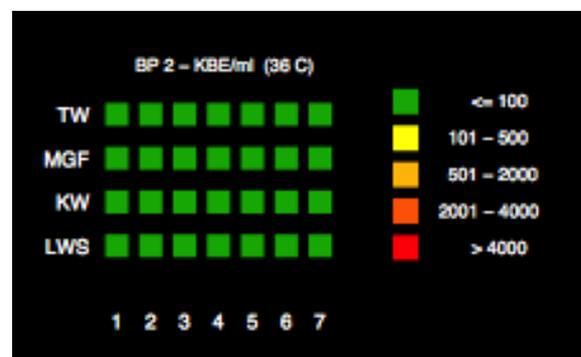


Abb. 3-13: Koloniezahlen bei BP 2 bei 36 °C

(Erläuterungen zu den Abb. 3-10 – 3.13: SP 1 = Simulationsplatz 1, BP 2 = Behandlungsplatz 2, TW = Trinkwasser, KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser, LWS = Luft-Wasser-Spritze, MGF = Mundglasfüller)

3.5.2 Koloniezahlen bei SP 3 und BP 4 im zeitlichen Verlauf

Aus der Abbildung 3-14 geht hervor, dass sich bei 22 °C am Simulationsplatz SP 3 ähnliche Verhältnisse zeigen, wie sie bereits zuvor bei SP 1 (s. Abb. 3-10) beschrieben worden sind.

Im Vergleich zu SP 1 bei 36 °C (s. Abb. 3-12) liegen die Koloniezahlen beim Kühlwasser und beim Wasser der Luft-Wasser-Spritze sogar durchgehend an allen Untersuchungstagen im mittleren bis oberen Koloniezahlbereich. Beim Kühlwasser vor

dem Spülvorgang sind es sogar durchgehend Koloniezahlen oberhalb von 4000 KBE/ml.

Wie aus den Abbildungen 3-15 und 3-17 deutlich wird, weist BP 4 nur bei der bei 36 °C inkubierten Probe der Luft-Wasser-Spritze des letzten Untersuchungstages Koloniezahlen im mittleren Koloniezahlbereich auf. Die übrigen Koloniezahlen entsprechen Werten bis 100 KBE/ml.

Der Simulationsplatz SP 3 weist somit bei 22 °C und bei 36 °C deutlich höhere Koloniezahlen als der ihm gegenüberliegende Behandlungsplatz BP 4 auf. Da die Koloniezahlen bei SP 3 höher liegen als bei SP 1, fällt der Unterschied hier noch deutlicher aus, als zuvor bei der Gegenüberstellung von SP 1 und BP 2 aufgezeigt worden ist (s. Abb. 3-10 bis 3-13).

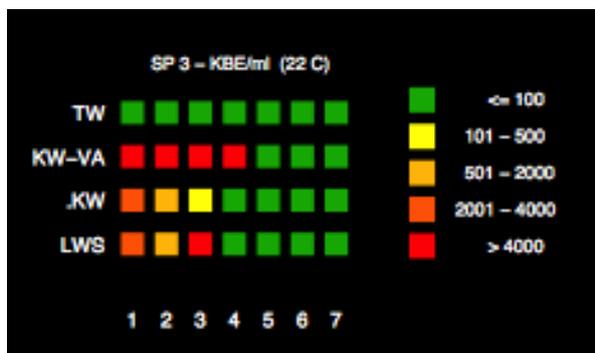


Abb. 3-14: Koloniezahlen bei SP 3 bei 22 °C

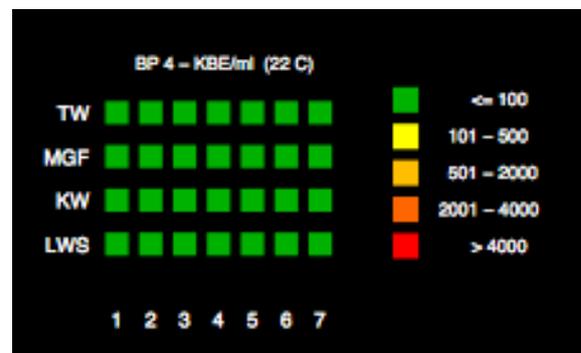


Abb. 3-15: Koloniezahlen bei BP 4 bei 22 °C

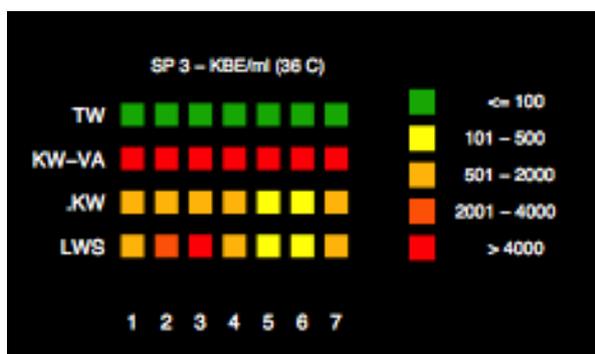


Abb. 3-16: Koloniezahlen bei SP 3 bei 36 °C

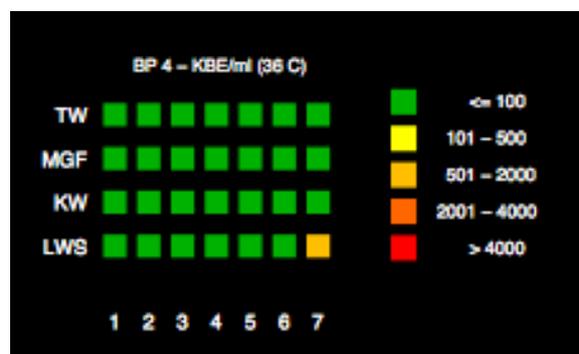


Abb. 3-17: Koloniezahlen bei BP 4 bei 36 °C

(Erläuterungen zu den Abb. 3-14 – 3.17: SP 3 = Simulationsplatz 3, BP 4 = Behandlungsplatz 4, TW = Trinkwasser, KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser, LWS = Luft-Wasser-Spritze, MGF = Mundglasfüller)

3.5.3 Koloniezahlen bei SP 5 und BP 6 im zeitlichen Verlauf

Aus der Abbildung 3-18 geht hervor, dass am Simulationsplatz SP 5 bei 22 °C ähnliche Koloniezahlen nachzuweisen sind, wie zuvor bei SP 1 und SP 3 (s. Abb. 3-10 und 3-14). Auffällig ist, dass ab dem 4. Untersuchungstag, trotz der zuvor nachgewiesenen hohen Koloniezahlen, an allen Wasserentnahmestellen eine gute Wasserqualität zu verzeichnen ist, mit Ausnahme des 5. Untersuchungstages.

Aus der Abbildung 3-20 geht zudem hervor, dass sich bei SP 5 bei 36 °C ähnliche Werte wie zuvor bei SP 1 (s. Abb. 3-12) zeigen, nur mit der Ausnahme, dass hier das Kühlwasser vor dem Spülvorgang an allen Untersuchungstagen Koloniezahlen oberhalb des Richtwertes aufweist.

Die Koloniezahlen bei BP 6 (s. Abb. 3-19 und 3-21) ähneln den Ergebnissen von BP 4 (s. Abb. 3-15 und 3-17).

Der Simulationsplatz SP 5 zeigt somit bei 22 °C und bei 36 °C höhere Koloniezahlen als der ihm gegenüberliegende Behandlungsplatz BP 6, dabei ähneln die Ergebnisse der Gegenüberstellung von SP 1 und BP 2 (s. Abb. 3-10 bis 3-13).



Abb. 3-18: Koloniezahlen bei SP 5 bei 22 °C

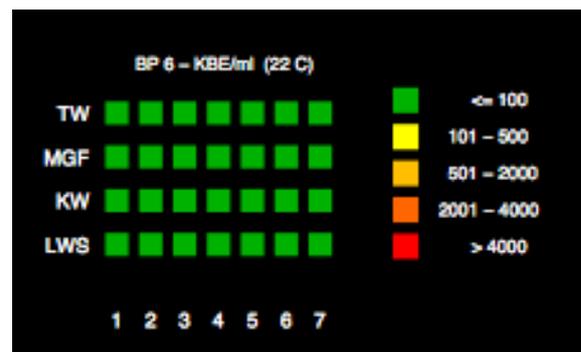


Abb. 3-19: Koloniezahlen bei BP 6 bei 22 °C

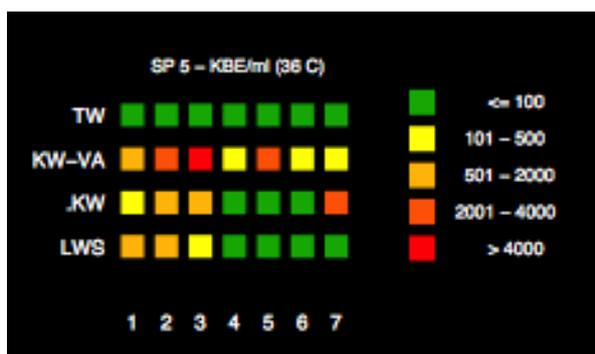


Abb. 3-20: Koloniezahlen bei SP 5 bei 36 °C

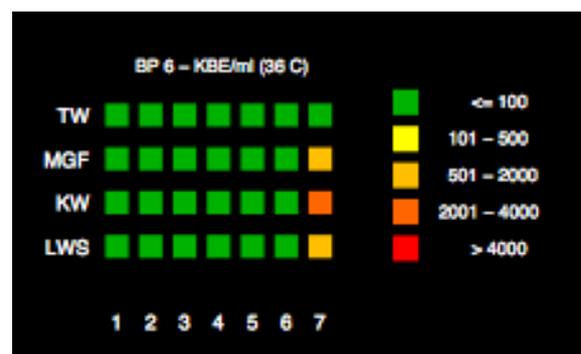


Abb. 3-21: Koloniezahlen bei BP 6 bei 36 °C

(Erläuterungen zu den Abb. 3-18 – 3.11: SP 5 = Simulationsplatz 5, BP 6 = Behandlungsplatz 6, TW = Trinkwasser, KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser, LWS = Luft-Wasser-Spritze, MGF = Mundglasfüller)

3.5.4 Koloniezahlen bei SP 7 und BP 8 im zeitlichen Verlauf

Die Abbildungen 3-22 und 3-24 zeigen, dass am Simulationsplatz SP 7 im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Simulationsplätzen SP 1, SP 3 und SP 5 nur vereinzelt Koloniezahlen im mittleren und oberen Koloniezahlbereich beim Mundglasfüller, beim Kühlwasser und beim Wasser der Luft-Wasser-Spritze festzustellen sind.

Die Koloniezahlen bei BP 8 (s. Abb. 3-23 und 3-25) ähneln den Ergebnissen von BP 4 (s. Abb. 3-15 und 3-17) und BP 6 (s. Abb. 3-19 und 3-21).

Somit weist der Simulationsplatz SP 7 bei 22 °C und bei 36 °C zwar höhere Koloniezahlen als der ihm gegenüberliegende Behandlungsplatz BP 8 auf, jedoch sind die Unterschiede nicht so stark ausgeprägt wie bei den zuvor verglichenen Simulationseinheiten.



Abb. 3-22: Koloniezahlen bei SP 7 bei 22 °C

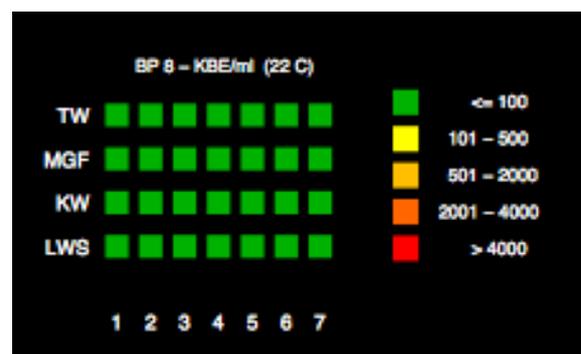


Abb. 3-23: Koloniezahlen bei BP 8 bei 22 °C



Abb. 3-24: Koloniezahlen bei SP 7 bei 36 °C

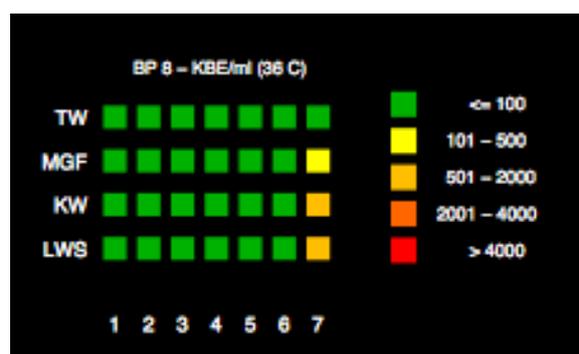


Abb. 3-25: Koloniezahlen bei BP 8 bei 36 °C

(Erläuterungen zu den Abb. 3-22 – 3.25: SP 7 = Simulationsplatz 7, BP 8 = Behandlungsplatz 8, TW = Trinkwasser, KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser, LWS = Luft-Wasser-Spritze, MGF = Mundglasfüller)

3.6 Differenzierung des gewonnenen Probenmaterials

Zur Differenzierung einzelner Kolonien sind ergänzende Untersuchungen durchgeführt worden. Hierbei sind nur die Kolonien berücksichtigt worden, mit den auf den Agar-Platten kaum erkennbaren Mikrokolonien wurde nicht weitergearbeitet. Auf Grund der Menge an vorhandenem Probenmaterial können jedoch nicht alle Kolonien differenziert werden. Um mit einem möglichst breiten Spektrum an Kolonien weiterzuarbeiten, sind daher insbesondere solche Kolonien ausgewählt worden, die optisch in Größe, Form und Farbe voneinander abweichen. Als Referenz für die Gramfärbung dient *Escherichia coli* als gramnegatives und *Staphylococcus aureus* als grampositives Bakterium.

Mit Hilfe der Gramfärbung, des KOH-Tests, des Oxidase- und Katalase-Nachweises und der API-Testreihe ergeben sich die in der Tabelle 3-10 angegebenen Ergebnisse. Für die Erklärung der oben genannten Methoden wird auf die Kapitel 2.3.5 bis 2.3.9 des Material- und Methoden-Teils verwiesen.

Mit Hilfe der Gramfärbung werden von 68 Proben 61 als gramnegativ und sechs als grampositiv begutachtet. Eine der Proben (Nr. 68) liegt als Mischkultur mit einem gramnegativen und einem grampositiven Anteil vor. Zwei weitere Proben (Nr. 5 und Nr. 6) bleiben nach der Gramfärbung ungefärbt. Fehler bei der Durchführung der Gramfärbung sind hierbei nicht auszuschließen. Der KOH-Test bestätigt die Ergebnisse der Gramfärbung. Außerdem können durch den KOH-Test die beiden bei der Gramfärbung nicht angefärbten Proben nachträglich als eine gramnegative (Nr. 5) und eine grampositive Probe (Nr. 6) identifiziert werden.

Anhand der mikroskopischen Begutachtung können 62 Proben als Stäbchen identifiziert werden und sieben Proben als Kokken.

Tab. 3-10: Differenzierung des gewonnenen Probenmaterials

	Färbeverhalten	Form	KOH	Katalase	Oxidase	API-NE
1	gram-	Stäbchen	+	+	+	N.I.
2	gram-	Stäbchen	+	-	-	
3	gram-	Stäbchen	+	-	-	
4	gram-	Stäbchen	+	-	-	
5	(nicht angefärbt)	Kokken	-	-	-	
6	(nicht angefärbt)	Stäbchen	+	+	+	
7	gram-	Stäbchen	+	-	+	<i>P. fluorescens</i>
8	gram-	Stäbchen	+	-	-	
9	gram-	Stäbchen	+	+	-	
10	gram-	Stäbchen	+	+	-	
11	gram-	Stäbchen	+	-	+	
12	gram-	Stäbchen	+	+	+	N.I.
13	gram-	Stäbchen	+	+	+	N.I.
14	gram-	Stäbchen	+	+	+	
15	gram-	Stäbchen	+	+	+	
16	gram-	Stäbchen	+	+	-	
17	gram-	Stäbchen	+	+	+	
18	gram-	Stäbchen	+	+	+	
19	gram-	Stäbchen	+	+	+	
20	gram-	Stäbchen	+	-	+	
21	gram-	Stäbchen	+	+	+	
22	gram-	Stäbchen	+	+	-	
23	gram-	Stäbchen	+	-	+	
24	gram-	Stäbchen	+	+	+	<i>Moraxella spp.</i>
25	gram-	Stäbchen	+	+	+	<i>Moraxella spp.</i>
26	gram-	Stäbchen	+	+	+	<i>Moraxella spp.</i>
27	gram-	Stäbchen	+	-	+	
28	gram-	Stäbchen	+	+	-	
29	gram-	Stäbchen	+	-	-	
30	gram-	Stäbchen	+	-	-	
31	gram-	Stäbchen	+	-	-	
32	gram-	Stäbchen	+	-	-	
33	gram-	Stäbchen	+	-	-	
34	gram-	Stäbchen	+	-	-	
35	gram-	Stäbchen	+	-	-	
36	gram-	Stäbchen	+	-	-	
37	gram-	Stäbchen	+	-	-	
38	gram-	Stäbchen	+	-	-	
39	gram-	Stäbchen	+	-	-	
40	gram-	Stäbchen	+	-	-	
41	gram-	Stäbchen	+	-	-	
42	gram+	Kokken	-	+	-	
43	gram-	Stäbchen	+	-	-	
44	gram-	Stäbchen	+	+	-	
45	gram+	Kokken	-	+	-	
46	gram+	Kokken	-	+	-	
47	gram-	Stäbchen	+	+	-	
48	gram+	Kokken	-	+	-	
49	gram-	Stäbchen	+	-	-	
50	gram-	Stäbchen	+	+	-	

Tab. 3-10: Differenzierung des gewonnenen Probenmaterials (Fortsetzung)

	Färbeverhalten	Form	KOH	Katalase	Oxidase	API-NE
51	gram-	Stäbchen	+	-	-	
52	gram-	Stäbchen	+	-	-	
53	gram-	Stäbchen	+	-	-	
54	gram-	Stäbchen	+	-	+	
55	gram-	Stäbchen	+	-	-	
56	gram-	Stäbchen	+	-	-	
57	gram-	Stäbchen	+	-	-	
58	gram-	Stäbchen	+	+	+	<i>Moraxella</i> spp.
59	gram-	Stäbchen	+	+	+	
60	gram-	Stäbchen	+	+	+	
61	gram-	Stäbchen	+	+	-	
62	gram-	Stäbchen	+	+	+	
63	gram-	Stäbchen	+	+	-	
64	gram-	Stäbchen	+	-	+	
65	gram+	Kokken	-	+	-	
66	gram-	Stäbchen	+	+	+	
67	gram-	Stäbchen	+	-	+	
68	gram-/+	Stäbchen/Kokken	+	+	-	
<i>E. coli</i>	gram-	Stäbchen	+	+	-	
<i>S. aureus</i>	gram+	Kokken	-	+	-	

Abbildung 3-26 veranschaulicht, dass bei den vorhandenen Proben 90 % gramnegative Stäbchen und 10 % grampositive Kokken vorliegen.

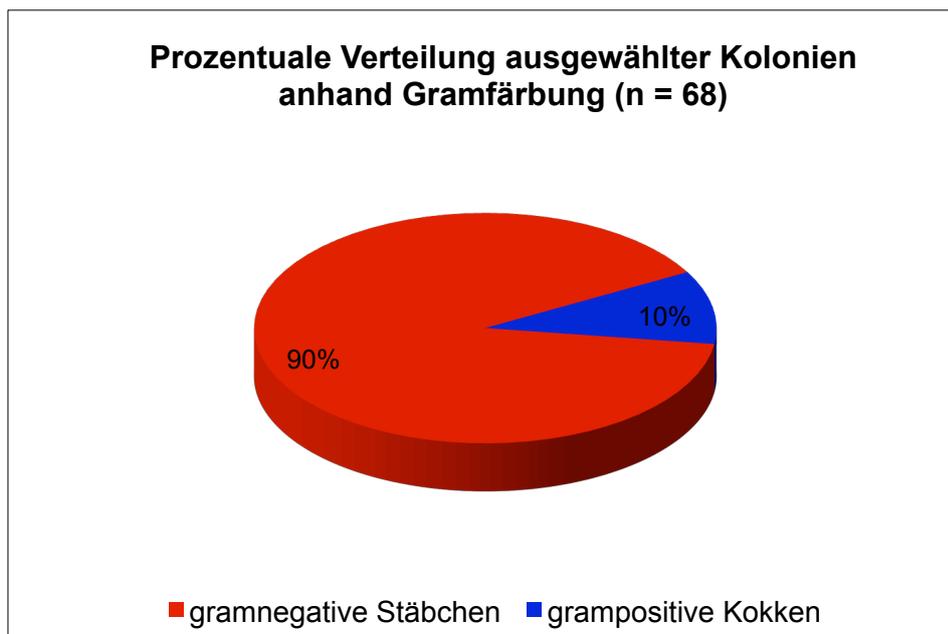


Abb. 3-26: Prozentuale Verteilung ausgewählter Kolonien anhand Gramfärbung (n = 68)

Zur weiteren Identifizierung einiger ausgewählten Spezies wurden die beiden Testreihen API 20 E und API 20 NE verwendet. Für die Testreihe API 20 E wurden gut erhaltene gramnegative, oxidasenegative Kolonien ausgewählt. Hierbei handelt es sich um die Probennummern 4, 5, 9, 10, 38 und 57 (s. Tab. 3-10). Für die Testreihe API 20 NE wurde hingegen mit gut erhaltenen gramnegativen, oxidasepositiven Kolonien weitergearbeitet. Es handelt sich um die Probennummern 1, 7, 12, 13, 24, 25, 26 und 58 (s. Tab. 3-10).

Mit Hilfe von API 20 NE ist es möglich gewesen, bei wenigen Kolonien die Bakterien namentlich zu bestimmen. Bei API 20 E haben in keinem Fall biochemische Reaktionen in den entsprechenden Inkubationswannen stattgefunden. Voraussetzung zur weiteren Identifizierung mittels API 20 E ist die Anzucht der zu testenden Spezies auf Mac-Conkey-Selektivmedium. Bereits bei der Anzucht auf dem Mac-Conkey-Agar war nur wenig Wachstum zu beobachten. Dies ist möglicherweise die Ursache, weshalb keine biochemischen Reaktionen in den entsprechenden Inkubationswannen stattgefunden haben und somit bei API 20 E keine Auswertung und namentliche Bestimmung der Bakterien möglich war.

Die Abbildung 3-27 zeigt beispielhaft für alle stattgefundenen Reaktionen der API-NE-Testreihe das Reaktionsschema des Teststreifens Nr. 7 (s. Kap. 2.3.9).

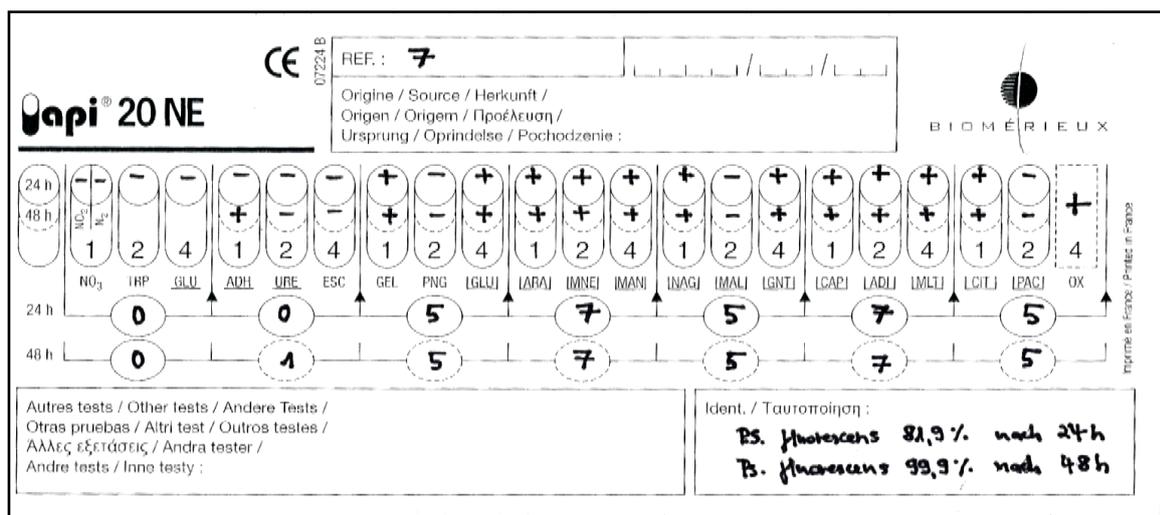


Abb. 3-27: Reaktionsschema des Teststreifens Nr. 7 der Testreihe API 20 NE

Anhand des analytischen Profil Index können bei der Testreihe API 20 NE die beiden aeroben, gramnegativen und stäbchenförmigen Bakterien *Moraxella* spp. und *Pseudomonas fluorescens* nachgewiesen werden (s. Abb. 2-10 und 3-27). Weitere

Reaktionen haben bei diesem Test zuvor stattgefunden, jedoch sind die - mit Hilfe der Auslesetabelle zugeordneten Bakterien - nicht im Index zu finden (N.I.). Die Testreihe API 20 E ist nur für die Identifizierung von Enterobacteriaceae und in der Datenbasis enthaltener gramnegativer, nicht anspruchsvoller Stäbchen bestimmt. Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden.

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie erfolgte eine Bestandsaufnahme der Wasserqualität an speziellen Übungseinheiten für Zahnmedizinstudierende - den sogenannten Simulationseinheiten. Dabei wurden die Koloniezahlen im Wasser der Simulationsplätze mit denen von zahnärztlich genutzten Behandlungsplätzen verglichen. Es stellte sich heraus, dass im Wasser der Simulationsplätze in den meisten Fällen deutlich höhere Koloniezahlen zu finden waren.

4.1 Vergleich der Ergebnisse

Es sei erwähnt, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt keine repräsentative Studie zur Untersuchung der Wasserqualität von Simulationseinheiten vorliegt.

Die Koloniebildenden Einheiten sind mit bloßem Auge ausgezählt worden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass in der Regel bei mehr als 300 Kolonien auf einer Agar-Platte eine differenzierte Auswertung nicht mehr möglich ist [15]. Demzufolge handelt es sich bei Proben mit deutlich höheren Koloniezahlen als 300 KBE/ml um Schätzwerte bzw. um Näherungswerte (s. Kap. 2.3.4).

4.1.1 Nachweis von Mikrokolonien

Bei den im Ergebnisteil beschriebenen Mikrokolonien (s. Kap. 3.2) handelt es sich um sehr kleine Mikroorganismen. Da jedoch nur die Kolonien die mit bloßem Auge, ohne Zuhilfenahme optischer Vergrößerungsmittel berücksichtigt wurden, sind die Mikrokolonien wegen ihrer geringen Größe nicht ausgezählt und nicht in den Vergleich der Koloniezahlen mit einbezogen worden. Da in dieser Studie keine ergänzenden Untersuchungen zur Differenzierung der Mikrokolonien durchgeführt wurden, bleibt offen ob es sich hierbei um Bakterien, Hefen oder Pilze handelt. Vermutlich sind es langsam wachsende Mikroorganismen oder möglicherweise eine Subpopulation der größeren Koloniebildenden Einheiten. Auffällig ist in jedem Fall, dass die Mikrokolonien auch bei denen als unbedenklich eingestuften Proben des Trinkwassers sowie in den Proben des Mundglasfüllers nachzuweisen sind (s. Tab. 3-6 und Tab. 3-7).

Die Probenauszählung erfolgte standardisiert 48 Stunden nach Inkubation auf TSA-Platten. Verwiesen sei hierbei auf BARBEAU et al. [4], die in ihrer Studie an der Zahnklinik in Montréal/Kanada den Zusammenhang zwischen dem Spülen der wasserführenden Leitungen und der Höhe der Koloniezahlen untersuchten (s. Kap. 1.3). Es werden auch hier sehr kleine Kolonien auf den TSA-Platten beobachtet, insbesondere nach einer Inkubation von zehn bis 15 Tagen. Auch hier erfolgt keine Identifizierung dieser Mikroorganismen.

Ferner bleibt offen, ob andere Kulturbedingungen, wie z. B. ein anderer Nährboden als Trypticase Soja Agar (TSA) ein besseres Wachstum der Mikrokolonien bewirkt hätte. In der Studie von SZEWZYK [60] wurde hierzu erklärt, dass die Menge der verfügbaren organischen Substanzen über den momentanen Aktivitätszustand von Zellen entscheidet und den Eintritt in ein anderes Lebensstadium induzieren kann. Änderungen in der Substratkonzentration können dabei bewirken, dass Zellen in ein Ruhestadium oder ein sogenanntes VBNC („viable but not culturable“)-Stadium übergehen.

In Anbetracht dieser Erkenntnisse sind bei den Proben aller Wasseraustrittsstellen durchaus noch höhere Koloniezahlen zu erwarten, als im vorangestellten Ergebnisteil angegeben wurde.

4.1.2 Zusammenhang zwischen der Desinfektion des Kühl- und Spülwassers und den Koloniezahlen an den einzelnen Wasserentnahmestellen

Für den direkten Vergleich der in dieser Studie nachgewiesenen Koloniezahlen mit denen von anderen Autoren wurde vorwiegend die britische Studie von SMITH et al. [59] herangezogen. Hier werden unter ähnlichen Versuchsbedingungen das Trinkwasser, das Kühlwasser, das Wasser der Luft-Wasser-Spritze und das Wasser des Mundglasfüllers an sechs zahnärztlichen Behandlungsstühlen untersucht. Dabei werden ebenso unbehandelte Wasserproben mit denen von mit Alpron® behandeltem Wasser verglichen. Ergebnisse weiterer Arbeiten werden in die Diskussion mit einbezogen, jedoch weichen deren Versuchsbedingungen [55, 56, 58, 66, 70] teilweise deutlich von den eigenen ab.

Bei den Untersuchungen hat sich gezeigt, dass die wasserführenden Systeme der Simulationseinheiten des Phantomsaales der Zahnklinik in ganz unterschiedlichem

Ausmaß mit Mikroorganismen kontaminiert sind. Innerhalb der untersuchten Simulationseinheiten zweigt sich das eingespeiste Wasser folgendermaßen auf (s. Abb. 4-1): Zum einen in nicht mit Desinfektion vorbehandeltes Kühl- und Spülwasser und zum anderen in mit Alpron® behandeltes Wasser. Die Arbeitsplätze mit Phantomkopf (Simulationsplätze) erhalten nur unbehandeltes Wasser. Das mit Alpron® behandelte Wasser gelangt nur zu den Arbeitsplätzen mit Behandlungsstuhl und integriertem Speibecken (Behandlungsplätze).

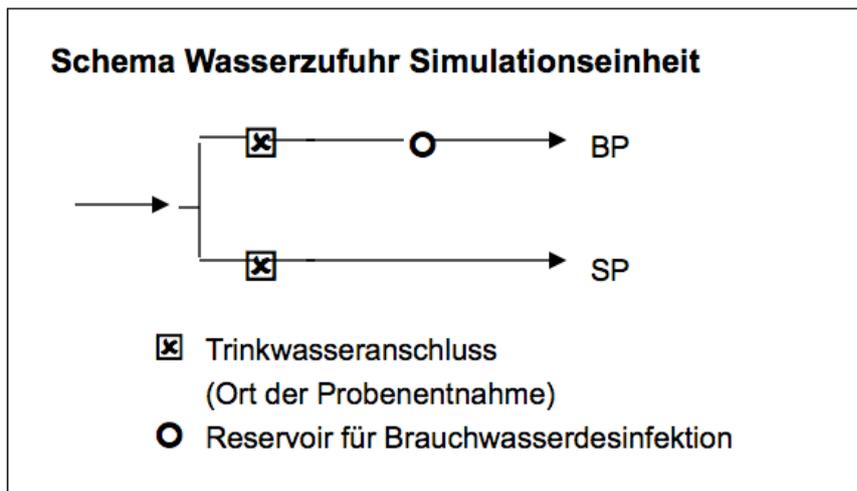


Abb. 4-1: Schema der Wasserzufuhr innerhalb der Simulationseinheit (BP = Behandlungsplatz, SP = Simulationsplatz)

Die gemessenen Koloniezahlen des zugeführten Trinkwassers liegen an allen Untersuchungsplätzen unter 100 KBE/ml und sind daher als unbedenklich einzustufen. Beim Trinkwasser tritt in Bezug auf die Anzahl der Koloniebildenden Einheiten weder bei Raumtemperatur (22 °C) noch bei Inkubationsbedingungen von 36 °C ein signifikanter Unterschied zwischen den Simulationsplätzen und den Behandlungsplätzen auf. Dies ist auf die gemeinsame Einspeisung des Trinkwassers zum Simulationsplatz und zum Behandlungsplatz zurückzuführen. Der Simulationseinheit wird Wasser mit Trinkwasserqualität zugeführt. Simulationsplatz und Behandlungsplatz haben dabei jeweils eigene Trinkwasseranschlüsse bzw. -entnahmestellen (s. Abb. 2-5 und Abb. 2-7). Der Behandlungsplatz erhält anschließend die vom Hersteller empfohlene Desinfektion des Kühl- und Spülwassers. Im Falle dieser Studie wird den wasserführenden Leitungen der Behandlungsplätze kontinuierlich Alpron® in einer Konzentration von 1 % zugeführt.

Im Gegensatz zum Trinkwasser zeigen sich beim Kühlwasser deutliche Unterschiede zwischen Behandlungsplätzen und Simulationsplätzen: Sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C ist das Kühlwasser der Simulationsplätze wesentlich stärker kontaminiert als das der Behandlungsplätze. Daher ist zu schlussfolgern, dass durch die kontinuierliche Desinfektion des Kühl- und Spülwassers mit Alpron® eine Vermehrung der Mikroorganismen im Kühlwasser auf Seiten der Behandlungsplätze reduziert wird.

Es sind sehr hohe Koloniezahlen in den Kühlwasserproben der Simulationsplätze in Bereichen größer als 4000 KBE/ml bestimmbar. Bei jeder Benutzung der Mikromotoren an den Simulationsplätzen kann demnach eine große Anzahl von Mikroorganismen sowohl in den Mund des Patienten gelangen als auch mit dem Sprühnebel austreten und sich davon ausgehend in der Raumluft verteilen.

Die Studie von SMITH et al. [59] bestätigt diese Ergebnisse. Bei deren Untersuchung des Kühlwassers zeigen sich bei nicht mit Alpron® vorbehandeltem Kühlwasser mittlere bis sehr hohe Koloniezahlen. Nach Behandlung mit Alpron® treten im Kühlwasser sehr hohe Koloniezahlen nur noch in Einzelfällen auf. Die meisten Proben weisen in dieser Arbeit hingegen unter Dauerdesinfektion Koloniezahlen unter 100 KBE/ml auf.

Die Werte der Luft-Wasser-Spritze zeigen ähnliche Ergebnisse wie das Kühlwasser. Bei 22 °C und 36 °C weist das Wasser der Luft-Wasser-Spritze an den Simulationsplätzen signifikant höhere Koloniezahlen auf als das der Behandlungsplätze. Verglichen mit den Studienergebnissen von SMITH et al. [59] liegen die in deren Studie gemessenen Koloniezahlen für die Luft-Wasser-Spritze ohne Dauerdesinfektion im mittleren Koloniezahlbereich von 50 - 2500 KBE/ml, nach Behandlung mit Alpron® liegen sie bis auf eine Ausnahme durchgängig unter 100 KBE/ml.

Das an den Behandlungsplätzen entnommene Wasser des Mundglasfüllers zeigt bei 22 °C in allen Fällen unbedenkliche Werte unter 100 KBE/ml. Bei 36 °C liegen 7 % aller Proben über dem festgelegten Richtwert von 100 KBE/ml. SMITH et al. [59] beobachteten hingegen in ihrer Studie, dass trotz Dauerdesinfektion mit Alpron® das dort untersuchte Wasser des Mundglasfüllers bei 22 °C weiterhin hohe Koloniezahlen aufweist, während bei 36 °C die Werte stets unter 100 KBE/ml liegen.

Insgesamt betrachtet zeigen die Simulationsplätze sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C deutlich höhere Koloniezahlen als die Behandlungsplätze.

Dabei sind innerhalb der Simulationsplätze gravierende Unterschiede in der Höhe der Koloniezahlen festzustellen. So zeigt z. B. der Simulationsplatz 3 (SP 3) bei jeder

Probenentnahme - mit Ausnahme des Trinkwassers - hohe Koloniezahlen. Bei 36 °C liegen die dort gezählten Koloniezahlen des Kühlwassers vor dem Spülvorgang immer im Bereich über 4000 KBE/ml (s. Abb. 3-16). Im Gegensatz dazu zeigt der Simulationsplatz 7 (SP 7) bei 22 °C an den ersten drei Untersuchungstagen Werte in hohen Koloniezahlbereichen, an den restlichen Untersuchungstagen liegen alle Werte unter 100 KBE/ml. Bei 36 °C zeigen sich bei SP 7 an fast allen Probeentnahmestellen Werte unter 100 KBE/ml (s. Abb. 3-24). Diese „Sprünge“ in den Koloniezahlen können u. a. auf eine Biofilmbildung in den wasserführenden Leitungen und auf ein mal mehr oder weniger starkes Loslösen von Mikroorganismen durch den Wasserfluss zurückzuführen sein. Als Folge kann an einzelnen Untersuchungstagen ein Anstieg der Koloniezahlen beobachtet werden.

Des Weiteren besteht mitunter eine große Variation der Koloniezahlen an den einzelnen Wasserentnahmestellen einer Simulationseinheit. Während das Trinkwasser durchgängig Koloniezahlen unter 100 KBE/ml aufweist, zeigen Kühlwasser und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze deutlich höhere Werte.

4.1.3 Einfluss des Spülens auf die Koloniezahlen

Das zweiminütige Spülen vor dem alltäglichen Behandlungsbeginn, das Spülen für 20 Sekunden zwischen den einzelnen Patienten [60], sowie das Spülen nach dem letzten Patienten soll eine erfolgreiche Reduktion der Koloniezahlen in den wasserführenden Leitungen zahnärztlicher Behandlungseinheiten bewirken [12, 31].

Die jeweiligen Probenentnahmen vom Trinkwasser, Kühlwasser, Wasser der Luft-Wasser-Spritze und des Wassers des Mundglasfüllers erfolgten, entsprechend den RKI-Empfehlungen und wie im Hygieneplan der Zahnklinik empfohlen, nach einer zweiminütigen Spülung der wasserführenden Leitungen. An den Simulationsplätzen sind zu Vergleichszwecken zusätzlich Kühlwasserproben vor dieser zweiminütigen Spülung entnommen worden.

In Bezug auf die Abbildungen 3-10, 3-14, 3-18 und 3-22 des Ergebnisteils soll im Folgenden der Zusammenhang zwischen dem Spülvorgang und der Höhe der Koloniezahlen verdeutlicht werden. Hier ist auffällig, dass an den Simulationsplätzen bei 22 °C alle Kühlwasserproben vor dem Spülvorgang deutlich höhere Koloniezahlen aufweisen als die entsprechenden Kühlwasserproben nach dem Spülvorgang. Die

Abbildung 3-9 stellt dieses Ergebnis in einer zusammenfassenden Grafik dar. So liegt das Kühlwasser vor dem Spülvorgang an den hierzu untersuchten Simulationsplätzen in 64 % der Fälle über 100 KBE/ml. Nach einem zweiminütigen Spülvorgang fallen nur noch 7 % der Werte in diese Kategorie. Möglicherweise werden durch den Spülvorgang die planktonischen Mikroorganismen herausgespült. Nach dem Spülen lösen sich nur noch vereinzelt Mikroorganismen aus den bestehenden Biofilmen.

In Hinblick auf die Effektivität des Spülens fällt das Ergebnis bei Inkubationsbedingungen von 36 °C deutlich geringer aus. Die Abbildung 3-9 zeigt, dass 71 % der Kühlwasserproben vor dem Spülen über dem Richtwert von 100 KBE/ml liegen, nach dem Spülvorgang sind es immer noch 61 %.

Die vorliegende Studie zeigt, dass das Spülen der wasserführenden Leitungen, ergänzend zur Desinfektion des Kühl- und Spülwassers eine Reduktion der Koloniezahlen bewirken kann, als alleinige Hygienemaßnahme jedoch nicht ausreicht. In der Studie von BARBEAU et al. [4], durchgeführt an einer Zahnklinik in Montréal/Kanada, wird hingegen gezeigt, dass ein zweiminütiger Spülvorgang der wasserführenden Leitungen (Kühlwasser, Wasser der Luft-Wasser-Spritze, Trinkwasser) zu einer bis zu 96 %igen Reduktion der Koloniezahlen führen kann. Allerdings geht aus deren Untersuchungen nicht hervor, ob die Reduktion der Koloniezahlen gleichermaßen bei Inkubationsbedingungen von 22 °C und 36 °C auftritt. COBB et al. [8] beobachten ebenso einen deutlichen Rückgang der Koloniezahlen bei Inkubationsbedingungen von 36 °C nach einem zwei-, drei- und vierminütigen Spülen der wasserführenden Leitungen. Wobei sich dieser Effekt verstärkt, je länger gespült wird.

4.2 Infektionsgefahr durch Kühl- und Spülwasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten!

Eine Übertragung von Mikroorganismen erfolgt nicht nur von Patient zu Personal und umgekehrt, es können auch Mikroorganismen im Wasser Erkrankungen hervorrufen. Die durch die Untersuchung nachgewiesenen, z. T. hohen Koloniezahlen in den wasserführenden Systemen, verdeutlichen die Notwendigkeit geeigneter Hygiene- und Schutzmaßnahmen.

Wie in Abbildung 3-26 des Ergebnisteils dargestellt, sind alle hier nachgewiesenen

Mikroorganismen Aerobier. 90 % davon zeigen ein gramnegatives Färbeverhalten und liegen als Stäbchen vor. Ob es sich hierbei sogar um humanpathogene Mikroorganismen handelt, wie z. B. *Legionella* spp. [24], kann nicht beurteilt werden. Eine spezielle Untersuchung auf *Legionella* spp. ist im Rahmen der vorliegenden Dissertation nicht erfolgt, da der Schwerpunkt der Arbeit auf dem Vergleich der Koloniezahlen zwischen Simulationsplätzen und Behandlungsplätzen liegt.

An dieser Stelle sei auf die begrenzten Möglichkeiten der zur Bestimmung der Mikroorganismen verwendeten API-Testreihe hingewiesen. Die Systeme API 20 E und API 20 NE wurden zur schnellen Identifizierung klinisch relevanter Bakterien entwickelt. Dementsprechend können auch nur die im Testsystem berücksichtigten Mikroorganismen nachgewiesen werden. Daraus folgt, dass sich bestimmte im Wasser beheimatete Mikroorganismen nicht in der zum Testsystem gehörigen Datenbasis befinden (s. Kap. 3.6).

Tatsächlich können in der vorliegenden Arbeit die auf Mac-Conkey-Agar herangezüchteten Bakterien *Moraxella* spp. und *Pseudomonas fluorescens* mit Hilfe der API-Testreihe nachgewiesen werden (s. Kap. 2.3.9). *Moraxella* spp. ist Teil der normalen Mundflora bei Menschen. Diese gramnegativen Bakterien können Infektionen der Ohren und des oberen und unteren Respirationstrakts verursachen, z. B. Sinusitis, Otitis media, Bronchitis und Pneumonien [24]. *Pseudomonas fluorescens* ist ein aerobes gramnegatives, stäbchenförmiges Bakterium. Die humanmedizinisch bedeutsame *Pseudomonas*-art kommt im Boden, im Wasser und auf Pflanzen vor. Außerdem kann es im menschlichen Magen-Darm-Trakt nachgewiesen werden und wird in der Literatur mit der Erkrankung Morbus Crohn in Verbindung gebracht [24, 37]. *Pseudomonas aeruginosa* [24, 54] konnte hingegen in keiner Probe nachgewiesen werden.

Krankheitserreger wie *Legionella* spp. sind in natürlichen Feuchtgebieten weit verbreitet und können auch aus Wasserleitungen von technischen Anlagen, so auch aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten, isoliert werden [17, 24, 61]. Es handelt sich um gramnegative, meist bewegliche Stäbchenbakterien [17, 24], die sich gerne im Wasser mit einer Temperatur zwischen 5 °C und 25 °C aufhalten [24]. Die Inhalation bakterienhaltiger Tröpfchen von *Legionella* spp., insbesondere *Legionella pneumophila* kann eine schwere Infektion des Respirationstraktes verursachen [24]. Bedingt durch den vorsorgenden Gesundheitsschutz darf der international etablierte Richtwert von unter 1 KBE Legionellen pro 1 ml Wasser nicht überschritten werden [31]. Zahnärzte

und zahnärztliches Personal zeigen eine höhere Seropositivität für Legionellen-Antikörper (Anti-Legionellen-IgG) im Vergleich zur Normalbevölkerung [3, 17, 27, 46]. Es ist bekannt, dass das Personal häufiger an Atemwegsinfektionen erkrankt als die Normalbevölkerung [3, 57].

4.3 Allgemeine Hygienerichtlinien

Wasser aus zahnärztlichen Behandlungseinheiten sollte nach den Empfehlungen des RKI mikrobiologisch unbedenklich sein [31]. Das Wasser darf bei 36 °C max. 100 KBE/ml aufweisen. Ebenso sollte der Richtwert für Legionellen (< 1 KBE/ml) nicht überschritten werden [12, 31, 67].

Seit Januar 2011 liegt ein neuer und überarbeiteter Hygieneleitfaden des Deutschen Arbeitskreises für Hygiene in der Zahnmedizin (DAHZ) vor. Er dient als Vorlage in der täglichen Praxis, damit die Maßnahmen des Infektionsschutzes bestmöglich erfüllt werden können [12]. In der Mitteilung zur Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene (2006) [31] wird dargestellt auf welchen möglichen Wegen es zu einer Übertragung von Erregern während der zahnärztlichen Behandlung kommen kann:

1. Durch die Stagnation des in die Behandlungseinheit eingespeisten Wassers kommt es zur Biofilmbildung an den Schlauchinnenseiten. Mikroorganismen können sich aus diesem Verbund lösen und über das Kühl- und Spülwasser wieder abgegeben werden.
2. Durch das Ansaugen von Weichteilen, wie der Wangeninnenseite, können kontaminierte Flüssigkeiten aus dem Absaugschlauch in den Patientenmund zurückfließen, es erfolgt eine sogenannte retrograde Kontamination.
3. Durch den bei der zahnärztlichen Behandlung entstehenden Sprühnebel können sich größere Bakterienmengen aus den Sekreten, wie z. B. Blut und Speichel, oder Mikroorganismen aus den wasserführenden Systemen in der Raumluft verteilen und auf den umgebenden Oberflächen unbemerkt niederlassen.

Aus dem Gelöbnis der Musterberufsordnung der Bundeszahnärztekammer geht hervor, dass aus rein medizinethischen Gründen die Gesundheit des Patienten an oberster Stelle des (zahn)-ärztlichen Handelns steht [18]. Auch wenn das Gelöbnis keine direkte

Rechtswirkung hat, darf die Gesundheit eines Patienten durch die zahnärztliche Behandlung nicht gefährdet werden. Jedoch bedeutet das Erbringen einer zahnärztlichen Leistung unter Umständen ein gesundheitliches Risiko für alle an der Behandlung beteiligten Personen [14, 20, 39].

Aus infektionspräventiver Sicht kann eine Diskrepanz zwischen der Vielzahl vorhandener Maßnahmen zur Desinfektion und Sterilisation des zahnärztlichen Inventars und der hohen Zahl von Mikroorganismen im Kühl- und Spülwasser bestehen. Einerseits sollen im Praxisgebrauch die Winkelstücke und Luft-Wasser-Spritzen zum Schutz vor pathogenen und fakultativ pathogenen Krankheitserregern zwischen den einzelnen Patienten aufbereitet werden. Andererseits kann das Wasser, welches während der Behandlung durch die Winkelstücke und Luft-Wasser-Spritzen hindurchfließt, hohe Koloniezahlen aufweisen und enthält eventuell sogar pathogene oder fakultativ pathogene Mikroorganismen (s. Kap. 1.4.2).

Auf Grund der möglichen Gefahr einer Übertragung von Erregern müssen zahnärztliche Behandlungsvorgänge als infektionsgefährdend betrachtet werden und entsprechende Desinfektionsmaßnahmen, wie die Desinfektion des Kühl- und Spülwassers an allen Arbeitsplätzen, standardisiert eingeleitet werden. Es liegt in der Verantwortung der Hochschulen, bereits während der Ausbildung den Grundstein für ein sicheres und risikoarmes Arbeiten im Gesundheitswesen zu schaffen [39]. Nur wenn von Beginn der Berufsausbildung eine standardisierte Hygiene gelehrt wird, kann diese auch im späteren Berufsalltag integriert und erfolgreich umgesetzt werden.

4.4 Schlussfolgerungen - Vorkehrungen zur Reduktion der Mikroorganismen an den Simulationseinheiten

Die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse haben verdeutlicht, dass Wasser aus den Schlauchsystemen von zahnärztlichen Behandlungseinheiten als potenziell stark kontaminiert angesehen werden sollte. Betroffen sind insbesondere die Schläuche der Mikromotoren und der Luft-Wasser-Spritzen, an denen keine Dauerdesinfektion erfolgt. Da eine hiervon ausgehende Gesundheitsgefährdung nicht auszuschließen ist, sind kontinuierliche Hygienemaßnahmen nicht nur dringend anzuraten, sondern gesetzlich vorzuschreiben. Verwiesen sei hierbei auf RICCI et al. [53], die in ihrer Studie erstmalig den Zusammenhang zwischen einer mit *Legionella pneumophila* kontaminierten

zahnärztlichen Behandlungseinheit und einer zum Tode führenden Pneumonie bei einer 82-jährigen Frau aufgezeigt haben. Die Frau stellte sich mit Fieber und Atembeschwerden in der Notaufnahme vor. Die Urinuntersuchung ergab einen positiven Antigen-Test auf *Legionella pneumophila*, radiologisch konnten Lungenverhärtungen festgestellt werden. Sie verstarb zwei Tage nach Vorstellung in der Notaufnahme. Es stellte sich heraus, dass die Patientin während der Inkubationszeit zwei invasive Behandlungstermine in einer Zahnarztpraxis wahrgenommen hatte. Nachdem im privaten Umfeld eine Legionelleninfektion ausgeschlossen werden konnte, ergab eine Probenentnahme in der Zahnarztpraxis eine Kontamination des Trinkwassers und des Kühlwassers mit *Legionella pneumophila*. Es handelte sich um dieselbe Serogruppe, die auch aus dem Aspirat der Patientin isoliert werden konnte. Kein anderer Fall von Legionärskrankheit konnte zuvor mit einer Zahnarztpraxis als ursächliche Quelle in den Zusammenhang gebracht werden.

Offen bleibt der Zusammenhang, ob die in den Behandlungseinheiten nachgewiesenen pathogenen und fakultativ pathogenen Mikroorganismen möglicherweise erst durch damit infizierten Patienten in die wasserführenden Systeme gelangen. Um anschließend von den Behandlungseinheiten wieder auf andere Patienten übertragen zu werden.

Um das Risiko einer Infektion zu verhindern, muss eine gute Wasserqualität aufrechterhalten werden. Dabei sind die Installation und der kontinuierliche Einsatz eines geeigneten Mittels zur Desinfektion des Kühl- und Spülwassers unerlässlich. Wie an den Behandlungsplätzen bereits üblich, sollte daher auch an den Simulationsplätzen eine tägliche Desinfektion der Absaugschläuche mit einem geeigneten Flüssigkonzentrat im Sinne einer Dauerdesinfektion erfolgen. Damit kann die Bildung festsitzender Schmutzbeläge und Biofilme innerhalb der Absaugschläuche zwar nicht in jedem Falle verhindert, aber das Vorkommen planktonischer Mikroorganismen vermindert werden. Eine regelmäßige und gewissenhafte Wartung der Anlagen ist dabei unverzichtbar, weil Versäumnisse hier schnell zu einem starken Anstieg der Koloniezahlen führen können. Desinfektionsprotokolle können hierbei hilfreich sein.

Behandlungseinheiten mit hohen Koloniezahlen, bzw. mit bereits vorhandenen Biofilmen, müssen einer Intensiventkeimung unterzogen werden (siehe nähere Erläuterungen im Kapitel 1.3). In der Regel erfolgen danach keine weiteren

Maßnahmen. Jedoch muss das Ablösen des Biofilms nach einmaliger Intensiventkeimung, insbesondere an den schwierig zu erreichenden Stellen in den wasserführenden Systemen, nicht vollständig sein. Wie in der Abbildung 4-2 schematisch dargestellt, kann es ggf. auch sinnvoll sein, das Procedere der Intensiventkeimung zwei oder drei Mal hintereinander zu wiederholen, bis eine den Richtlinien entsprechende Koloniezahl im Wasser gemessen wird. Es ist daher empfehlenswert, nach dem „Biofilm-Removing“ erneut die Koloniezahlen im Wasser zu untersuchen.

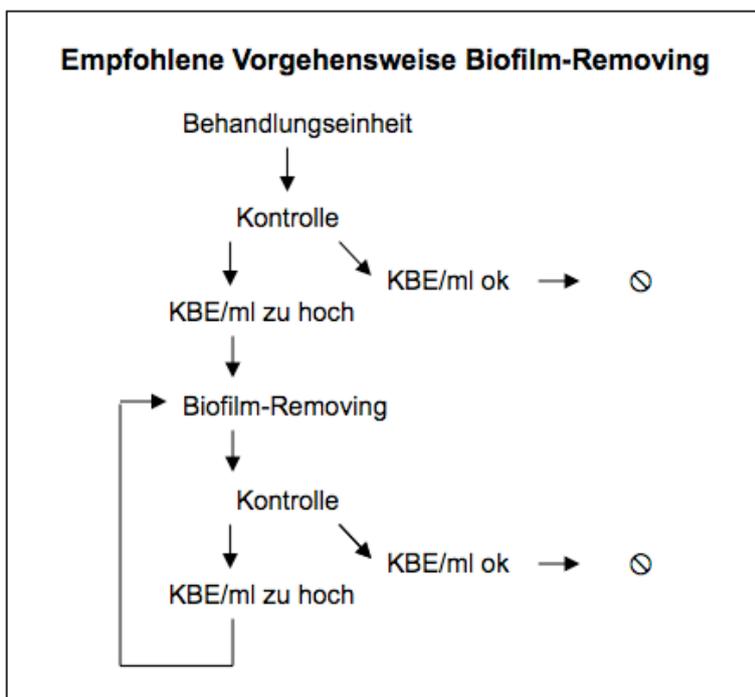


Abb. 4-2: Empfohlene Vorgehensweise für das Biofilm-Removing an der Simulationseinheit
(⊗ = Keine Maßnahmen erforderlich)

An den Simulationsplätzen existiert kein Speibecken. Hier können lediglich Präparationen an Kunststoff-Zähnen bzw. an extrahierten, in Kunststoff eingefassten Zähnen an einem Phantomkopf durchgeführt werden. Mit Sekreten wie Blut und Speichel kommen die Simulationsplätze in der Regel nicht direkt in Berührung. Im Unterschied dazu kann an den Behandlungsplätzen zusätzlich zu den eben genannten Präparationsübungen, eine im Rahmen der Studienordnung vorgesehene gegenseitige Behandlung der Studierenden erfolgen. Daher können die wasserführenden Systeme der Behandlungsplätze auch mit Sekreten wie Speichel, Zellbestandteilen der Mundhöhle und unter Umständen auch mit Blut in Berührung kommen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass das regelmäßige Spülen der wasserführenden Leitungen an allen Arbeitsplätzen zur Routine werden sollte. Insbesondere nach Stagnation des Wassers, z. B. nach längeren Standzeiten wie es in den Semesterferien üblich ist, sollten die Wasserleitungen der Simulationseinheiten gespült werden.

An den Behandlungsplätzen kann das Speibecken zum Ablassen des Spülwassers dienen. Da auf Seiten der Simulationsplätze ein solches Speibecken nicht vorhanden ist, ist hier das Spülen der wasserführenden Leitungen erschwert. Es sollte aber dadurch nicht grundsätzlich zu einem Hindernis werden, sondern dennoch durchgeführt werden. So kann alternativ für jeden Simulationsplatz ein Eimer zur Verfügung gestellt werden, in welchen das Spülwasser abgelassen werden kann.

Neben den bereits genannten Hygienemaßnahmen sind weitere persönliche Schutzvorkehrungen beim Behandeln an allen Arbeitsplätzen zu treffen. Beim Arbeiten mit wasserbetriebenen Mikromotoren oder beim Benutzen der Luft-Wasser-Spritze können Mikroorganismen abgegeben werden. Diese verteilen sich mit dem Sprühnebel in der Raumluft und können eingeatmet werden oder sich unsichtbar auf den Arbeitsflächen niedersetzen. Wie in der Studie von ISHIHAMA et al. [26] 2009 beschrieben, kann sich solch eine Aerosolwolke bis zu 1 m in der Umgebung ausbreiten. Daher sollte neben dem Tragen von Schutzkleidung, das Tragen von Handschuhen, Mund- und Nasenschutz und Schutzbrille nicht nur an den Behandlungsplätzen, sondern auch beim Arbeiten an den Simulationsplätzen zur Routine werden. Dadurch kann die Gefahr einer Inhalation von kontaminiertem Aerosol oder eine Kontamination über die Augenschleimhaut minimiert werden [21, 22, 43, 63].

In der Studie von FINE et al. [16] wird außerdem diskutiert, ob die zusätzliche mikrobielle Belastung im Aerosol durch vorheriges Spülen mit einer desinfizierenden Mundspüllösung reduziert werden kann. Deren Untersuchung zeigt, dass das Spülen des Mundes mit einer bis zu 90 %igen Reduktion von Mikroorganismen im Aerosol einhergeht. LOGOTHETIS und MARTINEZ-WELLES [36] zeigen zudem auf, dass eine vorherige Spülung des Mundes mit Chlorhexidin die Bakterienlast im Aerosol in einem Umkreis von 2,5 m deutlich reduziert. Die Spülung des Mundes reduziert jedoch nicht die Koloniezahlen des Kühl- und Spülwassers. Wenn man bedenkt, dass die größte Aerosolbildung beim Arbeiten mit wasserbetriebenen Mikromotoren und Ultraschallscalern [22, 33, 51, 61] entsteht, erscheint eine Desinfektion der Mundhöhle

durchaus sinnvoll, bevor z. B. Zahnstein mit Ultraschall entfernt wird (s. Kap. 1.5). Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention hingegen empfiehlt die orale Antisepsis nur bei oralchirurgischen Eingriffen, insbesondere bei Patienten mit erhöhtem Infektionsrisiko [31]. Diese Empfehlung ist jedoch mit dem Hintergrund entstanden, eine Wundinfektion des Patienten zu vermeiden und nicht, um die Koloniezahlen im Aerosol zu minimieren.

Wenn die Studierenden an den Behandlungsplätzen einer Simulationseinheit eine gegenseitige invasive Behandlung durchführen, kann also vorher eine Spülung des Mundes mit z. B. Chlorhexidin erfolgen, um die mikrobielle Belastung im Aerosol zu verringern. Wenn eine alleinige Begutachtung der Zähne im Rahmen einer Vorsorgeuntersuchung getätigt wird, ist eine Aerosolbildung hingegen nicht zu erwarten und eine vorherige Desinfektion nicht notwendig.

Gemäß Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut [31], umfasst die mikrobiologische Überprüfung (eine Entnahmestelle pro Behandlungseinheit wird als ausreichend angesehen) die Bestimmung der Koloniezahl bei 36 °C (nach Anlage Nr. 5 TrinkwV a. F.) sowie die Bestimmung von Legionellen durch ein Labor mit entsprechender Erfahrung. Die Entnahme soll durch geschultes Personal durchgeführt werden. Die Festlegung von Untersuchungsintervallen unterliegt pragmatischen Überlegungen. Liegen keine Anhaltspunkte für Mängel vor, erscheinen Abstände von 12 Monaten als sinnvoll.

Eine einfache und preiswerte Ergänzung stellen Schnelltests, sogenannte „Dipslides“ dar. Wie in der Studie von KIRCHEIS et al. [29] demonstriert wurde, können und sollen Schnelltests nicht die routinemäßigen Laboruntersuchungen ersetzen, sondern dem Praktiker eine Kontrollmöglichkeit für den Aufbereitungserfolg ermöglichen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass je nach Hersteller und Produkt eventuell die Nachweisgrenze für die zu bestimmenden Koloniezahlen zu hoch ist und deutlich über dem geforderten Richtwert von 100 KBE/ml liegt (s. Abb. 4-3).

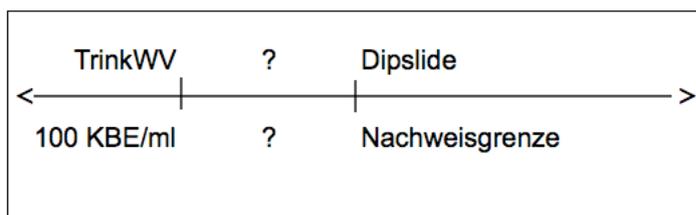


Abb. 4-3: Nachweisgrenze Dipslides

Demnach bedeutet ein negatives Ergebnis bei Verwendung solcher Dipslides nicht automatisch, dass die Wasserqualität einwandfrei ist. Zeigt jedoch ein Dipslide ein positives Ergebnis an, so besteht in jedem Fall Handlungsbedarf.

Die Abbildung 4-4 zeigt den zum Untersuchungszeitpunkt aktuellen Reinigungs- und Desinfektionsplan der Zahnklinik der Charité Berlin für die wasserführenden Systeme.

GENERELL: Alle wasserführenden Systeme müssen vor dem ersten Gebrauch mind. 2 min sowie nach jedem Gebrauch mind. 30 sec mit H2O durchgespült werden.				
Was	Wann	Wie	Womit	Wer
Absaugschlauch außen / Griffbereich	• nach jeder Behandlung	1. Verschmutzung abwischen 2. Wischdesinfektion	SaniCloth oder Minutil (0,25%)	Personal Zaki / Studierende
Absaugsystem (innen) am Behandlungsstuhl	• nach jeder Behandlung	Durchspülen	Trinkwasser (mind. 30 sec)	Personal Zaki / Studierende
	• Ende Behandlungstag (Mo-Do)	1. 2 l Gebrauchslösung nach Herstellerangaben zubereiten 2. Spraynebelsauger auf die große Öffnung und Speichelzieher auf die kleine Öffnung des Alpro-Jet-Pflegesystems stecken 3. Ca. 1 l der Lösung ansaugen 4. Verbleibenden Liter schluckweise in die Speischale entleeren 5. Über Nacht einwirken lassen 6. Vor Arbeitsbeginn die Speischale und die Saugschläuche gut mit Wasser nachspülen (> 30 sec, bis zur Geruchsfreiheit)	AlproJet-D (5% über Nacht)	Personal Zaki / Studierende
	• Ende Behandlungstag (Freitag, 1x wöchentlich)	Gleiches Vorgehen wie Mo-Do	AlproJet-W (5% übers WE)	Personal Zaki / Studierende

Abb. 4-4: Auszug aus dem zum Untersuchungszeitpunkt aktuellem Reinigungs- und Desinfektionsplan der Zahnklinik, Charité Berlin für die wasserführenden Systeme

Auf Grund der genannten Schlussfolgerungen erscheint eine Überarbeitung dieser Verfahrensweise durchaus als sinnvoll. Da die vorsorgende Hygiene heutzutage eine immer größer werdende Bedeutung hat, könnten folgende Erweiterungen des Reinigungs- und Desinfektionsplanes für die wasserführenden Systeme möglich sein:

Empfehlungen für alle Behandlungseinheiten, einschließlich der Arbeitsplätze von Simulationseinheiten:

- fortwährende Desinfektion des Kühl- und Spülwassers mit einem für die Behandlungseinheit geeigneten Desinfektionsmittel
- Spülen der wasserführenden Systeme, wie es bereits im Reinigungs- und Desinfektionsplan vorgesehen ist

- in regelmäßigen Intervallen stattfindende Screenings der Behandlungseinheiten mit Hilfe von Schnelltests durch das Personal der Zahnklinik oder die Studierenden
- Kontrolle jedes Biofilm-Removings durch eine erneute Bestimmung der Koloniezahlen und ggf. die Wiederholung der Intensiventkeimungsmaßnahme
- desinfizierende Mundspülung der Patienten mit einem geeigneten Antiseptikum bei Arbeiten mit zu erwartender Aerosolbildung

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sind die wasserführenden Systeme von vier zahnärztlichen Simulationseinheiten des Phantomsaales der Charité Berlin untersucht worden. Dabei sind die Koloniezahlen von Proben verschiedener Wasseraustrittsstellen gezählt worden und die Werte zwischen den Behandlungsplätzen und den Simulationsplätzen einer Simulationseinheit verglichen worden.

Untersucht wurden das Trinkwasser, das Kühlwasser vor und nach einem zweiminütigen Spülvorgang, das Wasser der Luft-Wasser-Spritze und das Wasser des Mundglasfüllers. Des Weiteren ist eine Untersuchung auf *Pseudomonas aeruginosa*, eine Differenzierung eines Teiles der gewonnenen Proben sowie eine namentliche Bestimmung einzelner ausgewählter Kolonien erfolgt. Da im Wasser von zahnärztlichen Behandlungseinheiten bei 36 °C max. 100 KBE/ml enthalten sein sollten, dient dieser Richtwert hier als Maßstab für die Einteilung in unbedenkliche und bedenkliche Koloniezahlen.

In keiner der insgesamt 224 entnommenen Proben konnte *Pseudomonas aeruginosa* sowie ein anaerobes Bakterium nachgewiesen werden. Einzelne Kolonien konnten als *Pseudomonas fluorescens* und *Moraxella* spp. bestimmt werden. Hierbei handelt es sich um gramnegative, stäbchenförmige Bakterien, die mit Infektionen des Respirationstrakts in Verbindung gebracht werden.

Auffällig ist, dass die Simulationsplätze generell höhere Koloniezahlen im Vergleich zu den Behandlungsplätzen aufweisen. So treten an den Simulationsplätzen bei 22 °C insgesamt bei 29% der Proben Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf, bei 36 °C sind es 47 %. Bei den Behandlungsplätzen hingegen sind bei 22 °C keine Koloniezahlen über 100 KBE/ml nachweisbar und bei 36 °C treten sie nur bei 6 % der Proben auf. Dies ist bedingt durch die vorhandene Dauerdesinfektion der Wasserleitungen der Behandlungsplätze mit dem Präparat Alpron®. Die Wasserleitungen der Simulationsplätze erhielten hingegen keine Desinfektion des Kühl- und Spülwassers.

Bei den unter aeroben Bedingungen bebrüteten Proben sind das Kühlwasser mit 7 % (22 °C) und 61 % (36 °C) und das Wasser der Luft-Wasser-Spritze 43 % (22 °C) und 57 % (36 °C) wesentlich stärker kontaminiert als das Trinkwasser und das Wasser aus dem Mundglasfüller. Im Trinkwasser werden nur Koloniezahlen unter 100 KBE/ml nachgewiesen. Im Wasser des Mundglasfüller treten bei 7 % der bei 36 °C-inkubierten

Proben Koloniezahlen über 100 KBE/ml auf.

Außerdem hat sich am Beispiel des Kühlwassers gezeigt, dass sich die Besiedlungen der Agar-Platten deutlich verminderten, wenn zuvor eine zweiminütige Spülung der wasserführenden Leitung erfolgte. Bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C zeigten 64 % der Kühlwasserproben vor dem Spülvorgang Koloniezahlen über 100 KBE/ml. Nach dem Spülen fiel der Wert auf 7 %.

Neben den zählbaren Kolonien wurde außerdem das Wachstum von sogenannten Mikrokolonien festgestellt - sehr kleine, ohne optische Vergrößerungsmittel kaum zu erkennende Kolonien. Auffallend ist, dass die Mikrokolonien an jeder Wasserentnahmestelle nachgewiesen werden konnten - auch im Trinkwasser und im Wasser des Mundglasfüllers.

Die gewonnenen Ergebnisse verdeutlichen den Nutzen einer konsequenten Dauerdesinfektion der Schlauchsysteme auch an Arbeitsplätzen, an denen keine Patientenbehandlung erfolgt und lediglich Übungen an Phantomköpfen durchgeführt werden - den Simulationsplätzen. Sie veranschaulichen außerdem die Notwendigkeit einer regelmäßigen Spülung der wasserführenden Systeme. Denn nicht nur Bakterien aus der Mundhöhle eines Patienten können bei der Behandlung übertragen werden. Auch die im Wasser der zahnärztlichen Behandlungseinheiten vorkommenden Mikroorganismen bergen ein nicht zu unterschätzendes Infektionsrisiko.

Nur so ist von Beginn an gewährleistet, dass das bei einer zahnärztlichen Behandlung verwendete Wasser den Empfehlungen entspricht, und das Gesundheitsrisiko aller an der Behandlung beteiligten Personen auf ein zufriedenstellendes Niveau minimiert wird.

6 Literaturverzeichnis

1. Al-Hiyasat AS, Ma'ayeh SY, Hindiyeh MY, Khader YS.: The presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the dental unit waterline systems of teaching clinics. Int J Dent Hyg 2007; 5: 36-44
2. American Dental Association: ADA statement on dental unit waterlines. <http://www.ada.org/1856.aspx>
3. Atlas RM, Williams JF, Huntington MK.: *Legionella* contamination of dental-unit waters. Appl Environ Microbiol 1995; 61: 1208-1213
4. Barbeau J, Tanguay R, Faucher E, Avezard C, Trudel L, Côté L, Prévost AP.: Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. Appl Environ Microbiol 1996; 62: 3954-3959
5. Barbeau J.: Waterborne biofilms and dentistry: the changing face of infection control. J Can Dent Assoc 2000; 66: 539-541
6. Becker R, Becker J.: Hygiene in der Zahnmedizin. DFZ 2010; 12: 51-59
7. Blake GC.: The incidence and control of bacterial infection in dental spray reservoirs. Br Dent J 1963; 115: 413-416
8. Cobb CM, Martel CR, McKnight SA 3rd, Pasley-Mowry C, Ferguson BL, Williams K.: How does time-dependent dental unit waterline flushing affect planktonic bacteria levels? J Dent Educ 2002; 66: 549-555
9. Coleman DC, O'Donnell MJ, Shore AC, Swan J, Russell RJ.: The role of manufacturers in reducing biofilms in dental chair waterlines. J dent 2007; 35: 701-711
10. Coleman DC, O'Donnell MJ, Shore AC, Russell RJ.: Biofilm problems in dental unit water systems and its practical control. J Appl Microbiol 2009; 106: 1424-1437

11. Depaola LG, Mangan D, Mills SE, Costerton W, Barbeau J, Shearer B, Bartlett J.: A review of the science regarding dental unit waterlines. J Am Dent Assoc 2002; 133: 1199-1206
12. Deutscher Arbeitskreis für Hygiene in der Zahnmedizin (DAHZ): Hygieneleitfaden, 9. Ausgabe 2014: 44-46
13. Donlan RM.: Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 2002; 8: 881-90
14. Exner M, Wegmann U, Haun F.: Infektionskontrollmaßnahmen in der Zahnheilkunde. Zahnärztl Mitt 1987; 77: 1841-1842, 1844-1846, 1849
15. Feuerpfeil I, Szewzyk R, Hummel A.: Die mikrobiologischen Nachweisverfahren der neuen Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001). Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 2002; 45: 1006-1009
16. Fine DH, Korik I, Furgang D, Myers R, Olshan A, Barnett ML, Vincent J.: Assessing pre-procedural subgingival irrigation and rinsing with an antiseptic mouthrinse to reduce bacteremia. J Am Dent Assoc 1996; 127: 641-642, 645-646
17. Fotos PG, Westfall HN, Snyder IS, Miller RW, Mutchler BM.: Prevalence of *Legionella*-specific IgG and IgM antibody in a dental clinic population. J Dent Res 1985; 64: 1382-1385
18. Gelöbnis aus der Musterberufsordnung der Bundeszahnärztekammer: Stand 19. 5. 2010
19. „Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen“ (Infektionsschutzgesetz - IfSG) vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 28. Juli 2011 (BGBl. I S. 1622)

20. Harel-Raviv M, Graham PE.: The right of dentists to take extra precautions when treating patients known to carry the human immunodeficiency virus. *Quintessence Int* 1997; 28: 779-783
21. Harrel SK, Barnes JB, Rivera-Hidalgo F.: Aerosol and splatter contamination from the operative site during ultrasonic scaling. *J Am Dent Assoc* 1998; 129: 1241-1249
22. Harrel SK, Molinari J.: Aerosols and splatter in dentistry: A brief review of the literature and infection control implications. *J Am Dent Assoc* 2004; 135: 429-437
23. Hellwig E, Klimek J, Attin T.: Grundlagen der invasiven Therapie. In: Einführung in die Zahnerhaltung, 4. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München 2007: 133-140
24. Hof H, Dörries R.: Spezielle Bakteriologie. In: Medizinische Mikrobiologie, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 2005: 367-372, 411-413
25. Huntington MK, Williams JF, Mackenzie CD.: Endotoxin contamination in the dental surgery. *J Med Microbiol* 2007; 56: 1230-1234
26. Ishihama K, Koizumi H, Wada T, Iida S, Tanaka S, Yamanishi T, Enomoto A, Kogo M.: Evidence of aerosolised floating blood mist during oral surgery. *J Hosp Infect* 2009; 71: 359-364
27. Jatzwauk L, Reitemeier B.: A pilot study of three methods for the reduction of bacterial contamination of dental unit water systems in routine use. *Int J Hyg Environ Health* 2002; 204: 303-308
28. King TB, Muzzin KB, Berry CW, Anders LM.: The effectiveness of an aerosol reduction device for ultrasonic scalers. *J Periodontol* 1997; 68: 45-49
29. Kircheis U, Kampf B, Gerstenberger R, Martiny H.: Bewertung von verschiedenen Schnelltests (Dipslides) zur Überprüfung des Aufbereitungserfolgs bei flexiblen Endoskopen. *Hyg Med* 2007; 32: 382-388

30. Kohn WG, Collins AS, Cleveland JL, Harte JA, Eklund KJ, Malvitz DM.: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for infection control in dental health-care settings - 2003. MMWR Recomm Rep 2003; 52: 1-61
31. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI): Infektionsprävention in der Zahnheilkunde – Anforderungen an die Hygiene. Bundesgesundheitsbl 2006; 49: 375-394
32. Kumar S, Atray D, Paiwal D, Balasubramanyam G, Duraiswamy P, Kulkarni S.: Dental unit waterlines: source of contamination and cross-infection. J Hosp Infect 2010; 74: 99-111
33. Leggat PA, Kedjarune U.: Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. Int Dent J 2001; 51: 39-44
34. Lewis DL, Arens M, Appleton SS, Nakashima K, Ryu J, Boe RK, Patrick JB, Watanabe DT, Suzuki M.: Cross-contamination potential with dental equipment. Lancet 1992; 340: 1252-1254
35. Linger JB, Molinari JA, Forbes WC, Farthing CF, Winget WJ.: Evaluation of a hydrogen peroxide disinfectant for dental unit waterlines. J Am Dent Assoc 2001; 132: 1287-1291
36. Logothetis DD, Martinez-Welles JM.: Reducing bacterial aerosol contamination with a chlorhexidine gluconate pre-rinse. J Am Dent Assoc 1995; 126: 1634-1639
37. Madi A, Svinareff P, Orange N, Feuilloley MG, Connil N.: *Pseudomonas fluorescens* alters epithelial permeability and translocates across Caco-2/TC7 intestinal cells. Gut Pathog 2010; 2: 16
38. Mann GL, Campbell TL, Crawford JJ.: Backflow in low-volume suction lines: the impact of pressure changes. J Am Dent Assoc 1996; 127: 611-615

39. McCarthy GM, Britton JE.: A survey of final-year dental, medical and nursing students: Occupational injuries and infection control. J Can Dent Assoc 2000; 66: 561
40. Meiller TF, Depaola LG, Kelley JI, Baqui AA, Turng BF, Falkler WA.: Dental unit waterlines: biofilms, disinfection and recurrence. J Am Dent Assoc 1999; 130: 65-72
41. Micik RE, Miller RL, Mazzarella MA, Ryge G.: Studies on dental aerobiology: I. Bacterial aerosols generated during dental procedures. J Dent Res 1969; 48: 49-56
42. Montebugnoli L, Chersoni S, Prati C, Dolci G.: A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units. J Hosp Infect 2004; 56: 297-304
43. Muzzin KB, King TB, Berry CW.: Assessing the clinical effectiveness of an aerosol reduction device for the air polisher. J Am Dent Assoc 1999; 130: 1354-1359
44. Oppenheim BA, Sefton AM, Gill ON, Tyler JE, O'Mahony MC, Richards JM, Dennis PJ, Harrison TG.: Widespread *Legionella pneumophila* contamination of dental stations in a dental school without apparent human infection. Epidemiol Infect 1987; 99: 159-166
45. Ozawa T, Nakano M, Arai T.: In vitro study of anti-suck-back ability by themselves on new high-speed air turbine handpieces. Dent Mater J 2010; 29: 649-654
46. Pankhurst CL, Johnson NW, Woods RG.: Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument. Int Dent J 1998; 48: 359-368
47. Pankhurst CL.: Risk assessment of dental unit waterline contamination. Prim Dent Care 2003; 10: 5-10

48. Pankhurst CL, Coulter WA.: Do contaminated dental unit waterlines pose a risk of infection? J Dent 2007; 35: 712-720
49. Pederson ED, Stone ME, Ragain JC Jr, Simecek JW.: Waterline biofilm and the dental treatment facility: a review. Gen Dent 2002; 50: 190-195.
50. Prince AS.: Biofilms, antimicrobial resistance, and airway infection. N Engl J Med 2002; 347: 1110-1111
51. Prospero E, Savini S, Annino I.: Microbial aerosol contamination of dental healthcare workers` faces and other surfaces in dental practice. Infect Control Hosp Epidemiol 2003; 24: 139-141
52. Rautemaa R, Nordberg A, Wuolijoki-Saaristo K, Meurman JH.: Bacterial aerosols in dental practice - a potential hospital infection problem? J Hosp Infect 2006; 64: 76-81
53. Ricci ML, Fontana S, Pinci F, Fiumana E, Pedna MF, Farolfi P, Sabbatini MA, Scaturro M.: Pneumonia associated with a dental unit waterline. Lancet 2012; 379: 684
54. Robert Koch-Institut: *Pseudomonas aeruginosa* in einem Trinkwassernetz. Epidemiologisches Bulletin 2002; 40: 337-338
55. Sacchetti R, Baldissarri A, De Luca G, Lucca P, Stampi S, Zanetti F.: Microbial contamination in dental unit waterlines: comparison between Er:YAG laser and turbine lines. Ann Agric Environ Med 2006; 13: 275-279

56. Schel AJ, Marsh PD, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, Østergaard E, ten Cate JM, Moorer WR, Mavridou A, Kamma JJ, Mandilara G, Stösser L, Kneist S, Araujo R, Contreras N, Goroncy-Bermes P, O'Mullane D, Burke F, O'Reilly P, Hourigan G, O'Sullivan M, Holman R, Walker JT.: Comparison of the efficacies of disinfectants to control microbial contamination in dental unit water systems in general dental practices across the European Union. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72: 1380-1387
57. Singh R.: Microbial diversity of biofilms in dental unit water systems. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 3412-3420
58. Souza-Gugelmin MC, Lima CD, Lima SN, Mian H, Ito IY.: Microbial contamination in dental unit waterlines. *Braz Dent J* 2003; 14: 55-57
59. Smith AJ, McHugh S, Aitken I, Hood J.: Evaluation of the efficacy of Alpron disinfectant for dental unit water lines. *Br Dent J* 2002; 193: 593-596
60. Szewzyk U.: Biofilme - die etwas andere Lebensweise. *Biospektrum* 2003; 3: 253-255
61. Szymanska J.: Risk of exposure to *Legionella* in dental practice. *Ann Agric Environ Med* 2004; 11: 9-12
62. Szymańska J.: Exposure to bacterial endotoxin during conservative dental treatment. *Ann Agric Environ Med* 2005; 12: 137-139
63. Szymańska J.: Bacterial contamination of water in dental unit reservoirs. *Ann Agric Environ Med* 2007; 14: 137-40
64. Szymańska J, Dutkiewicz J.: Concentration and species composition of aerobic and facultatively anaerobic bacteria released to the air of a dental operation area before and after disinfection of dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med* 2008; 15: 301-307

65. Tolker-Nielsen T, Molin S.: Spatial organization of microbial biofilm communities. *Microb Ecol* 2000; 40: 75-84
66. Tonetti-Eberle B, Pauli-Uhlmann A, Mombelli A.: Wasserqualität in zahnärztlichen Behandlungseinheiten - Eine Standortbestimmung in der Region Bern. Schweiz *Monatsschr Zahnmed* 2001; 111: 1160–1164
67. „Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch“ (Trinkwasserverordnung - TrinkwV) vom 21. Mai 2001 (BGBl. I: S. 959), zuletzt geändert durch Verordnung vom 5. Dezember 2012 (BGBl. I: S. 2562)
68. Wadowsky RM, Wolford R, McNamara AM, Yee RB.: Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring *Legionella pneumophila* in potable water. *Appl Environ Microbiol* 1985; 49: 1197-1205
69. Walker JT, Bradshaw DJ, Bennett AM, Fulford MR, Martin MV, Marsh PD.: Microbial biofilm formation and contamination of dental-unit water systems in general dental practice. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 3363-3367
70. Walker JT, Bradshaw DJ, Fulford MR, Marsh PD.: Microbiological evaluation of a range of disinfectant products to control mixed-species biofilm contamination in a laboratory model of a dental unit water system. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 3327-3332
71. Williams P.: Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiol* 2007; 153: 3923-3938
72. Zinn GC, Rößler R, Weidenfeller P.: Hygienisch-mikrobiologische Kontrollen und Wasseraufbereitung. In: *Praktische Hygiene in der Zahnmedizin*, 1. Auflage, Verlag für medizinische Praxis, Heinrichshofen 2006; 136-140

Abbildungsverzeichnis

1-1:	Biofilm auf der Innenseite eines Duschschlauchs nach 14-tägigem Durchströmen mit Trinkwasser	5
1-2:	Eigenes Foto vom Sprühnebel eines Rotringwinkelstücks (Schnellläufer)	8
2-1:	Simulationseinheit „Premium“, Baujahr 2003 (Typ C4+, Sirona Dental Systems GmbH) aus dem Phantomsaal der Zahnklinik Süd der Charité Berlin	12
2-2:	Links Arbeitsplatz mit Behandlungsstuhl (Behandlungsplatz) und rechts Phantomkopf eines Simulationsplatzes der Simulationseinheit „Premium“	13
2-3:	Schema der räumlichen Anordnung der Arbeitsplätze im Phantomsaal der Zahnklinik Süd der Charité Berlin	16
2-4:	Ablaufschema zur Probengewinnung und -verarbeitung an einem Behandlungsplatz (KW= Kühlwasser, LWS= Luft-Wasser-Spritze, MGF= Mundglasfüller, TW= Trinkwasser, TSA= Trypticase Soja Agar)	17
2-5:	Verkleidung und Innenansicht der Trinkwasserentnahmestelle (siehe Pfeil) an einem Behandlungsplatz	18
2-6:	Ablaufschema zur Probengewinnung und -verarbeitung an einem Simulationsplatz (KW-VA= Kühlwasser vor dem Spülen, KW= Kühlwasser, LWS= Luft-Wasser-Spritze, TW= Trinkwasser, TSA= Trypticase Soja Agar)	19
2-7:	Verkleidung und Innenansicht der Trinkwasserentnahmestelle (siehe Pfeil) an einem Simulationsplatz	19
2-8:	Kühlwasserprobe vor dem Spülvorgang (links: aerobes Wachstum bei 22 °C, rechts: aerobes Wachstum bei 36 °C)	21
2-9:	Beispiel einer Agar-Platte, die für das vereinfachte Auszählen „geviertelt“ wurde	21
2-10:	Teststreifen Nr. 7 der Testreihe API 20 NE 24 h nach Verarbeitung	24

3-1:	Beispiel einer TSA-Platte mit den Kolonien (markiert) und den unmarkierten, sogenannten Mikrokolonien (siehe Ausschnittsvergrößerung)	27
3-2:	Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Trinkwasserproben	36
3-3:	Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Trinkwasser (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)	36
3-4:	Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Kühlwasserproben	37
3-5:	Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Kühlwasser (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)	38
3-6:	Prozentuale Häufigkeit von Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Proben der Luft-Wasser-Spritze	39
3-7:	Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Wasser der Luft-Wasser-Spritze (SP = Simulationsplätze, BP = Behandlungsplätze)	40
3-8:	Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen im Wasser des Mundglasfüllers	41
3-9:	Koloniezahlen > 100 KBE/ml der Kühlwasserproben an den Simulationsplätzen vor und nach dem Spülvorgang in % (KW-VA = Kühlwasser vor dem Spülen, KW = Kühlwasser)	42
3-10:	Koloniezahlen bei SP 1 bei 22 °C	44
3-11:	Koloniezahlen bei BP 2 bei 22 °C	44
3-12:	Koloniezahlen bei SP 1 bei 36 °C	44
3-13:	Koloniezahlen bei BP 2 bei 36 °C	44
3-14:	Koloniezahlen bei SP 3 bei 22 °C	45
3-15:	Koloniezahlen bei BP 4 bei 22 °C	45
3-16:	Koloniezahlen bei SP 3 bei 36 °C	45
3-17:	Koloniezahlen bei BP 4 bei 36 °C	45
3-18:	Koloniezahlen bei SP 5 bei 22 °C	46
3-19:	Koloniezahlen bei BP 6 bei 22 °C	46
3-20:	Koloniezahlen bei SP 5 bei 36 °C	46
3-21:	Koloniezahlen bei BP 6 bei 36 °C	46
3-22:	Koloniezahlen bei SP 7 bei 22 °C	47

3-23:	Koloniezahlen bei BP 8 bei 22 °C	47
3-24:	Koloniezahlen bei SP 7 bei 36 °C	47
3-25:	Koloniezahlen bei BP 8 bei 36 °C	47
3-26:	Prozentuale Verteilung ausgewählter Kolonien anhand Gramfärbung (n = 68)	50
3-27:	Reaktionsschema des Teststreifens Nr. 7 der Testreihe API 20 NE	51
4-1:	Schema der Wasserzufuhr innerhalb der Simulationseinheit (BP = Behandlungsplatz, SP = Simulationsplatz)	55
4-2:	Empfohlene Vorgehensweise für das Biofilm-Removing an der Simulationseinheit (⊖= Keine Maßnahmen erforderlich)	63
4-3:	Nachweisgrenze Dipslides	65
4-4:	Auszug aus dem zum Untersuchungszeitpunkt aktuellem Reinigungs- und Desinfektionsplan der Zahnklinik, Charité Berlin für die wasserführenden Systeme	66

Tabellenverzeichnis

3-1:	Nachgewiesene Mikrokolonien an den Simulationsplätzen (SP) (n = 448)	28
3-2:	Nachgewiesene Mikrokolonien an den Behandlungsplätzen (BP) (n = 448)	29
3-3:	Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit von der Inkuba- tionstemperatur (n = 112)	31
3-4:	Auftreten von Mikrokolonien in Abhängigkeit von ihrer Größe bei 22 °C und bei 36 °C an Simulationsplätzen und Behandlungs- plätzen (n = 224)	31
3-5:	Quantitatives Auftreten von Mikrokolonien bei 22 °C und bei 36 °C an Simulationsplätzen und Behandlungsplätzen (n = 224)	31
3-6:	Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit ihres Auftretens an den einzelnen Wasseraustrittsstellen bei 22 °C und bei 36 °C an den Simulationsplätzen (n = 112)	32
3-7:	Häufigkeit der Mikrokolonien in Abhängigkeit ihres Auftretens an den einzelnen Wasseraustrittsstellen bei 22 °C und bei 36 °C an den Behandlungsplätzen (n = 56)	32
3-8:	Häufigkeit des Vorkommens von Koloniezahlen oberhalb von 100 KBE/ml an den Simulationsplätzen bei 22 °C und bei 36 °C (n = 28)	33
3-9:	Häufigkeit des Vorkommens von Koloniezahlen oberhalb von 100 KBE/ml an den Behandlungsplätzen bei 22 °C und bei 36 °C (n = 28)	34
3-10:	Differenzierung des gewonnenen Probenmaterials	49

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADA	American Dental Association
API	Analytischer Profil Index
BP	Behandlungsplatz
Bsp.	Beispiel
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
d	Tag
d. h.	das heißt
E	Enterobacteriaceae
ggf.	gegebenenfalls
h	Stunde
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Kap.	Kapitel
Kat.	Kategorie
KBE	Koloniebildende Einheiten
KOH	Kaliumhydroxid
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
KW	Kühlwasser nach dem 2-minütigem Spülvorgang
KW-VA	Kühlwasser vor dem 2-minütigem Spülvorgang
LWS	Luft-Wasser-Spritze
max.	maximal
MGF	Mundglasfüller
min	Minute
MK	Mikrokolonien
ml	Milliliter
mV	Millivolt
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ S ₂ O ₃	Natriumthiosulfat
n. b.	nicht bestimmbar

NE	Nicht-Enterobakterien
O ₂	Sauerstoff
p	p-Wert
§	Paragraph
%	Prozent
RG	Reagenzglas
RKI	Robert Koch-Institut
s	Sekunde
s.	siehe
SP	Simulationsplatz
spp.	Spezies
TSA	Trypticase Soja Agar
TW	Trinkwasser
u. a.	unter anderem
χ^2 -Test	Chi-Quadrat-Test
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

Danksagung

Mein großer Dank gilt PD Dr. Monika Emmrich für das Anvertrauen des Themas und die Betreuung dieser Dissertation. Ihre fortwährende Beratung und Hilfestellung haben einen großen Beitrag zum Erfolg dieser Arbeit geleistet.

Prof. Martiny danke ich für die Betreuung und Begutachtung meiner Arbeit. Ihre Anregungen haben zum guten Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ich danke dem gesamten Team der Technischen Hygiene der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Das gilt insbesondere für Heike Sedlmair und ihre tatkräftige Unterstützung bei der Probenverarbeitung sowie für Sandra Franz und Nicole Wildelau für das Bereitstellen von schwer zugänglicher Literatur.

Des Weiteren bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Zahnklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin, die es mir ermöglichten, auch zu sehr früher Stunde im dortigen Phantomraum Wasserproben zu entnehmen.

Ich danke Frau Christine Gericke und Herrn Dr. Markus Roggensack für die enorme Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, ohne deren Unterstützung das alles nicht möglich gewesen wäre. Sie haben mir in jeder Phase dieser Arbeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Viktoria zur Mühlen, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Vergleich der mikrobiologischen Wasserqualität von zahnärztlichen Behandlungstühlen und Arbeitsplätzen mit Phantomkopf“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift