

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

DISSERTATION

Die Reinigung von Hand- und Winkelstücken durch  
Reinigungslösungen in Sprayform

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Thomas Harre  
aus Rosenheim

Datum der Promotion: 22.09.2017

## **Widmung**

Meinen Eltern, meinem Bruder und meiner Frau

## Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung .....	5
2. Einleitung.....	8
3. Schrifttum .....	11
3.1 Infektionsgefahr durch zahnärztliche Hand- und Winkelstücke .....	11
3.2 Reinigung, Desinfektion und Sterilisation .....	12
3.3 Testanschmutzung .....	16
3.4 Nachweismethoden für Proteine.....	19
3.4.1 Modifizierte OPA-Methode .....	21
3.5 Vorgaben zur Aufbereitung wieder verwendbarer Medizinprodukte .....	22
3.6 Fragestellungen der Arbeit .....	23
4. Material und Methode .....	25
4.1 Material.....	25
4.1.1 Probekörper .....	25
4.1.2 Reinigungsmittel.....	27
4.1.3 Testanschmutzung.....	28
4.1.4 Kontamination .....	29
4.1.5 SuperFloss .....	30
4.1.6 Chemikalien .....	31
4.1.7 Geräte .....	32
4.2 Methode.....	33
4.2.1 Proteinbestimmung mittels modifizierter OPA-Methode .....	33
4.2.2 Proteinbestimmung mittels HemoCheck-S-Peroxidasetest .....	37
4.2.3 Versuche zur Methode .....	38
4.2.4 Analyse der Reinigungsleistung durch Proteinbestimmung .....	43
4.3 Auswertung mittels Boxplotdiagramm.....	50
5. Ergebnisse.....	52
5.1 Versuche zur Methode .....	52
5.2. Versuche zur Reinigungsleistung durch Proteinbestimmung .....	58

6. Diskussion .....	65
6.1 Rechtliche Rahmenbedingungen .....	65
6.2 Verwendete Untersuchungsmethoden zur Proteinbestimmung .....	65
6.3 Auswahl und Beschaffenheit der Probekörper .....	67
6.4 Kontamination der Probekörper .....	69
6.5 Antrocknungszeit der Testanschmutzung .....	70
6.6 Rückgewinnung und Wiederfindung der Testanschmutzung .....	71
6.7 Versuche zur Standardisierung der Methode .....	72
6.8 Diskussion der Ergebnisse .....	74
6.9 Vergleichsmessungen .....	76
6.10 Schlussfolgerungen .....	78
7. Literaturverzeichnis .....	80
8. Abkürzungsverzeichnis .....	88
9. Tabellenanhang .....	89
Eidesstattliche Versicherung .....	107
Curriculum Vitae .....	108
Danksagung .....	110

## 1. Zusammenfassung

Zahnärztliche Hand- und Winkelstücke (HWS) kommen im täglichen Praxisgebrauch mit organischen, anorganischen und chemischen Verunreinigungen in Kontakt, die potentiell gefährliche Erreger enthalten können. Aufgrund ihres komplexen Aufbaus, u. a. durch innenliegende Spraywasser- und Sprayluftkanäle, stellen zahnärztliche HWS erhöhte Anforderungen an die Wiederaufbereitung. Sie sind nach der KRINKO-Empfehlung "Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten" für den Einsatz am nächsten Patienten zu reinigen, zu desinfizieren und ggf. auch noch zu sterilisieren. Besonders der Reinigung kommt besondere Bedeutung zu, denn ohne adäquate Reinigung ist eine anschließende Desinfektion bzw. Sterilisation vermindert oder gar nicht wirksam.

Es sollte daher geprüft werden, ob zahnärztliche HWS mit einer manuellen Methode standardisierbar und reproduzierbar gereinigt werden können, ob der Reinigungserfolg mit einem Peroxidasetest überprüfbar ist und ob die Austrittsvolumina des Reinigungsliquids reproduzierbar sind.

Die Untersuchung fand an jeweils sieben HWS mit je einem Spraywasser- und Sprayluftkanal in mehreren Versuchsreihen statt. Es wurden insgesamt 120 Spraykanäle untersucht. Die Spraywasser- und Sprayluftkanäle der HWS wurden nach der Kontamination mit Humanblut gemäß Herstellerangaben mit einem speziellen Adapter gereinigt (3 x 2 Sekunden) und getrocknet (1 x 3 Sekunden). Nach einer Spülung der Kanäle mittels SDS wurden diese in SDS-Lösung eingelegt und auf dem Schüttler extrahiert. Anschließend wurden die Kanäle mit zahnärztlichem SuperFloss gereinigt und dieses anschließend in SDS-Lösung extrahiert. Von allen Extraktionslösungen wurden mittels der modifizierten OPA-Methode Proteinbestimmungen durchgeführt. Zusätzlich kam ein Peroxidasetest zur Überprüfung der Ergebnisse zum Einsatz. Außerdem wurde die Austrittsmenge der Reinigungslösung untersucht.

Die modifizierte OPA-Methode erwies sich aufgrund der Möglichkeit, auch minimalste Mengen an Protein nachweisen zu können, für die Testreihen als geeignet. Bei 100 % der untersuchten Kanäle ließ sich nach erfolgter Reinigung noch vorhandenes Restprotein feststellen. Die Werte variierten in Abhängigkeit von der Extraktionsmethode im Mittel von 0,51 mg BSA-Äquivalent bis zu 2,06 mg BSA-Äquivalent, mit einem Konzentrationsanstieg nach jeder Messung. Der

Peroxidasetest zum Nachweis von Blut bzw. dessen Bestandteilen jedoch zeigte bei 100 % der untersuchten Kanäle keine Reaktion. Die Werte zur Austrittsmenge der Reinigungslösung weisen ab Messung 106 eine abnehmende Tendenz auf.

Die Frage, welcher Natur die proteinhaltigen Rückstände in den Spraywasser- und Sprayluftkanälen sind, konnte in dieser Untersuchung nicht abschließend geklärt werden und muss Inhalt folgender Studien sein. Die Tatsache des durchgehend negativen Peroxidasetests deutet darauf hin, dass in den Restproteinen kein Hämoglobin und damit kein Blut- bzw. keine Blutbestandteile vorhanden waren.

## **Abstract**

Dental handpieces in daily practice use come in contact with organic, inorganic and chemical contaminations that may contain potentially dangerous pathogens. Due to their complex structure, because of internal water- and air-channels, handpieces provide high demands on reprocessing. They have to be cleaned, disinfected and possibly sterilized according the KRINKO-recommendation "Hygiene requirements in the reprocessing of medical devices" before using on the next patient. Especially the cleaning is important, because without adequate cleaning the disinfection or sterilization has a reduced or no effect.

It should be examined whether dental handpieces can be cleaned standardized and reproducible with a manual method, if the cleaning success with a peroxidase-test-kit is verifiable and whether the discharge volumes of cleaning liquids are reproducible.

The investigation took place in test series with seven handpieces, each with a spray-water and spray-air channel. A total number of 120 spray-channels was investigated. After contamination with human blood the handpieces were cleaned with a special adapter (3 x 2 seconds) and dried (1 x 3 seconds) according to the manufacturer. After flushing by SDS they were inserted in SDS and extracted on the shaker. Then the channels were cleaned with dental SuperFloss and this was extracted in SDS. Of all extraction solutions protein determinations were made using the modified OPA-method. In addition, a peroxidase-test was used to verify the results. Also the discharge amount of the cleaning solution has been investigated.

The modified OPA-method was suitable for the tests because of the possibility to detect even minimal protein amounts. At 100 % of the investigated channels residual protein could be determined. The values varied depending on the extraction method between 0.51 mg BSA-equivalent and 2.06 mg BSA-equivalent, with a concentration increase after each measurement. The peroxidase-test for the detection of blood or its components showed no reaction by 100 % of the tested channels. The values for the discharge amount of the cleaning solution show starting with measurement 106 a decreasing tendency.

The question, what nature the protein-containing residues in the spray-water and spray-air channels are could not finally be clarified and has to be subject of following studies. The fact of the continuous negative peroxidase-test indicates that no blood or blood components were present in the rest proteins.

## 2. Einleitung

Die Behandlung von Patienten in einer Zahnarztpraxis erfordert den Einsatz entsprechender Materialien und Hilfsgeräte. Diese setzen sich zusammen aus Einwegmaterialien, welche direkt nach der Patientenbehandlung zu entsorgen sind und aus wiederverwendbaren Medizinprodukten, welche nach der Behandlung fachgerecht für den Einsatz am nächsten Patienten aufzubereiten und zu lagern sind [1, 2, 3]. Beispiele wiederverwendbarer Instrumente eher unproblematischer Konstruktion sind zahnärztliche Spiegel, Sonden und Pinzetten. Durch den einfachen Aufbau ist eine Aufbereitung meist gut durchführbar. Mit einem erhöhten Aufwand verbunden ist die Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation von Instrumenten mit komplexerem Aufbau, beweglichen Teilen sowie Hohlräumen und einem wasserführendem System zur Kühlung, wie z.B. von zahnärztlichen HWS sowie Turbinen. Deren hoher Anschaffungswert schließt eine Entsorgung nach der Behandlung aus und erfordert somit die Möglichkeit diese nach fachgerechter Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation wieder verwenden zu können. Nach unsachgemäßer bzw. ungenügender Aufbereitung besteht durch den komplexen Aufbau der Instrumente die Möglichkeit der Übertragung von Erregern bestimmter Infektionskrankheiten. Beispiele hierfür sind Hepatitis B-, Hepatitis C- oder HI-Viren, aber auch Grippeviren. Bei unsachgemäßer Aufbereitung können diese entweder von Patient zu Patient bzw. von Patient zum behandelnden Arzt übertragen werden. Wegen ihres komplexen Aufbaus stellen diese Instrumente deshalb höhere Anforderungen an die Aufbereitung als Medizinprodukte mit einfacherem Aufbau.

Die Aufbereitung wiederverwendbarer Medizinprodukte umfasst mehrere Schritte: eine effiziente Reinigung, eine folgende Desinfektion und ggf. eine abschließende Sterilisation. Der Reinigung wird ein besonderer Stellenwert zuteil, denn ohne diese kann die Desinfektion und ggf. eine anschließende Sterilisation nicht in wirksamem Maße durchgeführt werden. Bei Instrumentarium mit komplexem inneren und äußeren Aufbau sowie Hohlräumen, wie dies bei zahnärztlichen HWS der Fall ist, müssen durch die Reinigung nicht nur alle vorhandenen Innen- sowie Außenflächen und Hohlräume erreicht werden, sondern der Reinigungserfolg muss zudem überprüfbar sein. Am schwierigsten gestaltet sich erfahrungsgemäß die suffiziente Reinigung der innenliegenden Spraywasser- und Sprayluftkanäle zahnärztlicher HWS. Aufgrund dieser Tatsache erfolgt die Einteilung zahnärztlicher HWS nach

Vorgaben der KRINKO-/BfArM-Empfehlung in entsprechende Risikogruppen mit unterschiedlichen Anforderungen an deren Aufbereitung [3].

Als kritisch anzusehen ist der auftretende konstruktionsbedingte Rücksog von Flüssigkeiten aus der Mundhöhle beim Abstoppen des Gerätes, besonders bei älteren HWS, aber auch bei Turbinen [4]. Es kommt dabei zum Eintritt von Blut, Speichel, Mikroorganismen, Wasser und Bohrabrieb in den Instrumenteninnenraum, hauptsächlich in die Spraywasser- und Sprayluftkanäle. Durch den Verbleib von Überresten dieser Flüssigkeiten nach der Durchführung einer insuffizienten Aufbereitung können diese als möglicher Übertragungsweg für potentiell gefährliche Erreger von Patient zu Patient dienen [5, 6, 7, 8]. Somit ist sicherzustellen, dass in der Aufbereitung ausschließlich validierbare Verfahren zur Anwendung kommen, welche eine erfolgreiche Innen- und Außenreinigung sowie Desinfektion gewährleisten [3].

Obwohl die Notwendigkeit einer suffizienten Aufbereitung außer Frage steht, erfolgt in den meisten zahnärztlichen Praxen lediglich eine äußerliche Wischdesinfektion der HWS [9, 10]. Nach einer Umfrage unter Berliner Zahnärzten finden bei nur 26 % der befragten Teilnehmer Aufbereitungsverfahren Anwendung, mit denen ein zufriedenstellendes Ergebnis der Desinfektion und Sterilisation zu erwarten ist [11]. In der Untersuchung von KRAMER et al. [12] bezüglich der Hygienemaßnahmen in 331 Zahnarztpraxen stellt sich heraus, dass eine suffiziente Aufbereitung der HWS in nur 8 - 10 % der Praxen stattfindet.

CHAUFOR et al. [13] beweisen mit ihren Untersuchungen an mit Hepatitis B-Viren infizierten Enten die enorme Wichtigkeit der suffizienten Reinigung eines Übertragungsinstrumentes. In den Untersuchungen an Angioskopen, die lediglich desinfiziert bzw. sterilisiert, nicht aber vorher gereinigt waren, konnte festgestellt werden, dass diese immer noch im Stande sind, mit der noch vorhandenen Restkontamination eine HBV-Infektion an vorher gesunden Enten auszulösen.

MILES [14] zeigt, dass es ohne eine entsprechend adäquate Reinigung des Übertragungsinstrumentes durch den Sterilisationsprozess zur Fixierung proteinhaltigen Materials kommen kann. Aus diesem Grunde sieht er die Reinigung bereits als Teil der Desinfektion.

Die Durchführung einer effektiven Reinigung erfolgt gemäß der KRINKO-Empfehlung "Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene" aus

dem Jahre 2006 [1] und kann sowohl manuell als auch in einem maschinellen Verfahren mit dafür geeigneten Geräten durchgeführt werden. Zwar wird laut KRINKO-/BfArM-Empfehlung aus dem Jahr 2012 [3] auch gefordert, alle Reinigungs- und Desinfektionsverfahren validierbar zu realisieren und maschinellen Verfahren den Vorzug zu geben, jedoch wird die grundsätzliche Anwendbarkeit manueller Verfahren nicht ausgeschlossen. Die Anwendung manueller Verfahren zur Reinigung und Desinfektion setzt nach den Anforderungen der RKI-/BfArM-Empfehlung 2012 "bei Verfügbarkeit maschineller Verfahren voraus, dass der Beleg über die Äquivalenz der Leistungsfähigkeit manueller und maschineller Verfahren erbracht wurde" [3] .

### 3. Schrifttum

#### 3.1 Infektionsgefahr durch zahnärztliche Hand- und Winkelstücke

Aufgrund des Gebrauchs zahnärztlicher HWS bei der intraoralen Patientenbehandlung erfolgt eine Kontamination dieser mit Blut, Speichel, Mikroorganismen und Bohrabrieb [6, 7, 8, 11, 12]. Der Kontakt der HWS mit den beschriebenen Substanzen findet dabei nicht nur äußerlich statt, sondern auch im Instrumenteninnenraum. Die Kontamination der Innenflächen ist bedingt durch den äußerst komplexen Aufbau des Instrumentes und einem beim Abstoppen stattfindenden Reflux. Dieser sog. Rücksog der oben genannten Stoffe und Flüssigkeiten in das Instrumenteninnere, vorwiegend in die Spraywasser- und Sprayluftkanäle, stellt hohe Anforderungen an die Instrumentenaufbereitung [4, 11, 12, 15].

Die Möglichkeit eines Übertragungsweges von z.B. Hepatitis B- oder C-Viren, bzw. HI- oder Grippeviren auf folgende Patienten durch unsachgemäße Wiederaufbereitung von HWS und deren Kanalsystem ist aufgrund einer fehlenden Evidenz unter Experten umstritten. Die Beweisführung gestaltet sich jedoch äußerst schwierig bzw. ist fast unmöglich. Nach einer Inkubationszeit von 40 - 180 Tagen und dem Auftreten der ersten Krankheitssymptome 2 - 4 Wochen später [9, 16] ist ein Zusammenhang des auftretenden Krankheitsbildes, nach einer derart langen Zeitspanne, mit einer zahnärztlichen Behandlung meist nicht mehr in Verbindung zu bringen. LEWIS und ARENS beweisen in einer in-vitro Studie die Möglichkeit der Infektion von Lymphozyten durch HIV-positiv getestetes Blut. Allerdings bemerken sie, dass trotz bestehendem Risiko einer Kreuzinfektion durch HWS kein solcher Fall in der Literatur beschrieben ist [17]. Der einzige in der Literatur vorkommende Fall aus Florida dokumentiert eine Reihe von HIV-Infektionen während zahnärztlichen Behandlungen. Die vorkommende HIV-Spezies war mit derjenigen des behandelnden Arztes verwandt, wobei der eigentliche Übertragungsweg des Erregers auf die Patienten nicht geklärt werden konnte [18].

HAUMAN kann in einer Studie an mit *Staphylococcus aureus* kontaminierten HWS belegen, dass nach einem 5 Minuten andauernden Durchspülen und anschließender Betätigung der HWS für zwei Sekunden immer noch *Staphylococcus aureus* Bakterien vorhanden waren, die Kontamination somit also nicht beseitigt war [19].

Auch ANDERSEN zeigt in seinen Untersuchungen, dass nach dem Durchspülen eines kontaminierten HWS mit 1 ml Flüssigkeit noch bis zu 98% der Ausgangskontamination nachgewiesen werden kann [20].

Aus diesem Grund ist die Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation eines HWS nach jeder Behandlung zwingend erforderlich. Hierbei bildet die Reinigung der inneren und äußeren Oberflächen der komplex konstruierten HWS die Voraussetzung für den Erfolg einer anschließenden Desinfektion und ggf. einer folgenden Sterilisation, der ohne Reinigung nicht sichergestellt werden kann [1, 3, 13, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27].

### **3.2 Reinigung, Desinfektion und Sterilisation**

#### ***Reinigung***

Die Reinigung, die anschließende Desinfektion und ggf. die Sterilisation eines HWS stellen einzelne Teilschritte der Aufbereitung dar. Diese ist als Prozess definiert, welcher die Sicherstellung eines gefahrlosen Kontaktes mit einer Oberfläche oder einem Instrument gewährleistet. Ziel der Reinigung ist dabei die Entfernung von vorhandenen Kontaminationen in möglichst großen Teilen [28]. Nur bei suffizient gereinigten Oberflächen ist eine Desinfektion bzw. Sterilisation effizient durchführbar [13, 22, 29, 30]. Die Reinigung stellt deshalb den wichtigsten Schritt einer adäquat durchgeführten Aufbereitung dar. Jedoch ist der Grad, ab dem ein Instrument als effektiv gereinigt gilt, international nicht standardisiert. Allerdings ist mithilfe der Reinigung ein Grenzwert zu unterschreiten, der noch zu bestimmen ist [31].

HORNUNG und JUNHANNß zeigen in ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen der Intensität der Reinigung und der Absterbekurve von Mikroorganismen. Je effektiver die Reinigung verläuft, desto schneller bewegt sich die Absterbekurve der Mikroorganismen gegen Null. Die Reinigung wird von HORNUNG und JUNGHANNß als ausreichend angesehen, sobald eine Reduzierung der ursprünglichen Menge der Anschmutzung um 87% erreicht wird, was einer Verringerung der Anfangskontamination von 200 µl um 174 µl zur ursprünglichen Kontamination entspricht [23].

Den besonderen Stellenwert der effektiven Reinigung unterstreichen die Untersuchungen von CHAUFOR et al. [13]. Diese beweisen, dass auch nach

durchgeführter Desinfektion bzw. Sterilisation ohne eine vorhergehende Reinigung die noch vorhandene Restkontamination auf Angioskopen im Stande ist, eine Hepatitis B - Infektion bei Enten auszulösen.

Da es sich bei den HWS um Instrumente mit englumigen Hohlräumen handelt, gelingt eine Überprüfung der Reinigungsleistung nicht mit optischen, sondern nur mithilfe spezieller laborchemischer Methoden. DROOP fordert, den Reinigungserfolg durch die Verminderung von Oberflächenbelägen verschiedener Substanzen wie z.B. Blut-, Gewebe- und Desinfektionsmittelresten festzulegen. Der anerkannte zu unterschreitende Grenzwert ist jedoch noch zu bestimmen [31].

Nach der aus dem Jahr 2012 veröffentlichten KRINKO-/BfArM-Empfehlung "Anforderung an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten" [3] muss die Validierbarkeit von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren gegeben sein. Zudem wird gefordert, maschinellen Verfahren den Vorrang zu geben. Die Anwendung manueller Verfahren ist jedoch nicht ausgeschlossen. Bei der Anwendung manueller Verfahren zur Reinigung und Desinfektion sind diese immer nach Standardarbeitsanweisungen validiert durchzuführen und zu dokumentieren. Zum Einsatz dürfen nur Mittel kommen, welche auf das Produkt abgestimmt, geeignet und materialverträglich sind [3]. Auch wird gefordert, manuelle Verfahren nur dann zum Einsatz zu bringen, sofern der Beweis über eine Äquivalenz von manuellem und maschinelltem Verfahren erbracht ist. Ziel ist die rückstandsfreie Entfernung von z.B. Blut-, Sekret- oder Geweberückständen zur Gewährleistung der Wirksamkeit einer anschließenden Desinfektion und Sterilisation des Medizinproduktes. Dieses soll nach erfolgter Aufbereitung unter Vermeidung von möglichen Kreuzkontaminationen wieder gefahrlos in Verkehr gebracht werden können [1, 2, 3].

Die Überprüfung der Reinigung kann z.B. an im Praxisalltag kontaminierten Instrumentarium erfolgen [32]. Zum anderen ist auch der Einsatz einer geeigneten Testanschmutzung zur Reinigungs- und Prozesskontrolle möglich. Diese muss den Anforderungen einer im Praxisalltag auftretenden Kontamination gerecht werden, um möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen [33, 34, 35, 36, 37, 38, 39].

## **Desinfektion**

Desinfektion bedeutet die Abtötung bzw. Inaktivierung von infektiösen Erregern auf einem Objekt durch geeignete Verfahren. Ziel ist es, diese soweit zu reduzieren, dass nach Abschluss des Verfahrens vom entsprechenden Objekt keinerlei Infektionsgefahr mehr ausgeht. Angestrebt wird eine Reduktion auf Flächen und Instrumenten um mindestens  $10^5$  Bakterien bzw. Erreger.

Dies kann durch verschiedene Verfahren erreicht werden. Zum einen bieten sich physikalische Verfahren an, welche mit der thermischen Desinfektion durch feuchte oder trockene Hitze bzw. einer nicht thermischen Desinfektion mit Hilfe von UV-Strahlung oder Filtration arbeiten. Bei chemischen Verfahren kommen Desinfektionsmittel zum Einsatz, deren desinfizierende Wirkung z.B. durch Alkohole, Aldehyde, Peroxide, Säuren und Laugen erreicht wird. Auch sind, durch die Kombination von feuchter Hitze und Desinfektionsmitteln, chemo-thermische Verfahrensweisen möglich.

Ein Nachteil der chemischen Desinfektion ist das Anfallen von Chemikalien als Abfallprodukte, zudem könnten noch Desinfektionsmittelreste auf bereits desinfizierten Medizinprodukten vorhanden sein. Aufgrund dessen ist die thermische Desinfektion der chemischen vorzuziehen. Auf die chemische Desinfektion sollte nur zurückgegriffen werden, sofern eine thermische nicht durchführbar ist [28]. Grundsätzlich bestimmen die Materialeigenschaften der zu desinfizierenden Medizinprodukte das für sie geeignete Desinfektionsverfahren.

Der wichtigste Schritt vor jeder Desinfektion ist eine gründliche und effektiv durchgeführte Reinigung zur Entfernung organischer Substanzen auf dem Medizinprodukt. Zusätzlich kann durch Blut die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln vermindert werden [13, 21, 27]. Nur nach erfolgreich durchgeführter Reinigung kann es zum ausreichenden Kontakt zwischen den noch vorhandenen Mikroorganismen und dem Desinfektionsmittel bzw. heißem Wasser kommen [30]. Je niedriger zudem die Ausgangskoloniezahl der Mikroorganismen ist, desto schneller geht auch deren Absterbekurve gegen Null [23]. Aus diesem Grund werden ausschließlich durch eine erfolgreiche Reinigung beste Voraussetzungen für eine wirksame Desinfektion und ggf. Sterilisation geschaffen [13, 29].

## ***Sterilisation***

Ziel der Sterilisation ist, neben der Abtötung von verbleibenden Mikroorganismen, besonders die Abtötung von Sporen. Als steril gelten Medizinprodukte, bei denen die theoretische Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins eines lebenden Organismus kleiner bzw. gleich  $1 \times 10^{-6}$  ist, d.h. auf maximal einem von 1 000 000 Medizinprodukten darf theoretisch noch ein lebender Organismus vorhanden sein [40].

Wiederum unterscheidet man zwischen rein physikalischen Verfahren und kombinierten physikalisch-chemischen Verfahren. Bei ersteren erfolgt eine Sterilisation entweder durch feuchte oder trockene Hitze bzw. durch energiereiche Strahlung. Bei kombinierten physikalisch-chemischen Verfahren findet eine Sterilisation durch Ethylenoxid bzw. Formaldehyd statt. Desweiteren ist die Sterilisation durch Niedertemperaturverfahren mittels Plasma möglich.

Aus den genannten Alternativen muss ein dem zu sterilisierenden Gut angepasstes Verfahren ausgewählt werden. Dieses ist in den meisten Kliniken und Praxen die Sterilisation mittels gesättigtem Wasserdampf (Autoklavieren), was allerdings nur bei thermostabilem Material durchführbar ist. Bei allen anderen Materialien muss auf Alternativen zurückgegriffen werden.

Durch die Untersuchungen von CHAUFOR et al. [13] wird gezeigt, dass auf nicht vorher gereinigten Angioskopen keine ausreichenden Sterilisationsergebnisse erreicht werden können. Auch birgt ein ungünstiges Design der Instrumente erschwerte Bedingungen für die Reinigung und hat damit Einfluss auf die Sterilisierbarkeit. ROTH et al. [29] belegen, dass bei Instrumenten, mit einem für die Reinigung sehr ungünstigen Design, keine ausreichenden Desinfektions- und Sterilisationsergebnisse erreicht werden können. Beide Untersuchungen unterstreichen die Wichtigkeit der vorangehenden Reinigung eines Instrumentes im Aufbereitungsprozess, um eine effektive Desinfektion bzw. Sterilisation zu gewährleisten.

### 3.3 Testanschmutzung

Wie bereits erläutert (siehe 3.2) ist zur Überprüfung der Reinigung und Prozesskontrolle unter realen Bedingungen der Einsatz einer geeigneten künstlichen Testanschmutzung erforderlich. Bis heute existiert jedoch keine allgemein anerkannte Testanschmutzung, welche gänzlich einer im täglichen Arbeitsablauf entstehenden Anschmutzung entspricht und somit eine hohe Praxisrelevanz aufweist [36, 41]. In den verschiedenen Ländern finden deshalb unterschiedliche Anschmutzungen auf der Basis von z.B. Hafermehl, Grießbrei, Eigelb und Milchpulver Anwendung [36]. Die meisten und wesentlichen Kontaminationen in zahnärztlichen Instrumenten sind proteinhaltiger Natur. Anschmutzungen aus Grießbrei oder Hafermehl können die praxisrelevanten, also möglicherweise in einer Praxis vorkommenden Anschmutzungen daher nur im begrenzten Maße darstellen.

#### **Blut**

Die wichtigste Form der Anschmutzung wird durch das menschliche Blut verursacht. Es besitzt durch seinen Proteinanteil und die Möglichkeit zur Gerinnung eine äußerst hohe Reinigungs- und Praxisrelevanz. Die fibrinbasierte Gerinnungsreaktion stellt eine erhöhte Anforderung an die Reinigung des Objekts [42]. Auch erfolgt die Übertragung von gefährlichen Erregern wie z.B. Hepatitis B-, C- und HI-Viren über den Blutweg. Aus diesem Grund wird Blut als Testanschmutzung in hohem Maße der Anforderung an eine möglichst hohe Praxisrelevanz gerecht und sollte in gerinnungsfähiger Form eingesetzt werden [33, 34, 35, 37, 38, 39].

Blut setzt sich zusammen aus einer Zellfraktion, den Erythrozyten, Thrombozyten und den Leukozyten sowie dem sie umgebenden Blutplasma, dessen Anteil ca. 2,8 Liter von den insgesamt im menschlichen Körper vorkommenden 5 Litern beträgt. Diese Plasmafraktion lässt sich unterteilen in die Bestandteile Wasser, Proteine und kleinere organische molekulare Substanzen. Die Proteinfraction wiederum besteht aus  $\alpha_1$ -Globulinen,  $\alpha_2$ -Globulinen,  $\beta$ -Globulinen, Albumin, Fibrinogen und  $\gamma$ -Globulinen [43]. Der Anteil der Proteinfraction im Plasma liegt bei einem gesunden Erwachsenen zwischen 65 - 80 g/l [43].

Dieser äußerst komplexe Aufbau erschwert die Findung einer adäquaten standardisierten künstlichen Testanschmutzung, welche allen Anforderungen gerecht werden kann. PFEIFER [42] simuliert mit einer Matrix aus Albumin und Hämoglobin

die Proteinmatrix sowie durch Fibrinogen und Thrombin die Gerinnung zur Schaffung einer standardisierbaren künstlichen Testanschmutzung.

### ***Blutgerinnung***

Als Blutgerinnung gilt im Wesentlichen der Umbau von wasserlöslichem Fibrinogen in wasserunlösliches Fibrin durch die Bildung eines polymeren Fibrinnetzes. Für den menschlichen Organismus ist diese Eigenschaft existentiell, da nur so Blutungen nach Verletzungen der Blutgefäße wieder zum Stillstand gebracht werden können. Diese Hämostase ist ein wesentliches Problem für die Aufbereitung von mit Blut kontaminierten Instrumenten, da mit ihr ein erhöhter Aufwand in der Reinigung einhergeht. Die komplexe und mehrstufige Umbildung von Fibrinogen zu Fibrin kann auf zwei Wegen erfolgen:

- durch den extrinsischen Weg wird die Gerinnung durch die Verletzung des Blutgefäßes selbst ausgelöst und läuft innerhalb von wenigen Sekunden
- durch den intrinsischen Weg wird die Gerinnung durch den Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen, Kniogen und Kallikrein ausgelöst. Dieser Weg findet erst innerhalb von mehreren Minuten statt.

Beide Systeme besitzen nach der Aktivierung des Faktor-X-Aktivierungskomplexes die gleiche Endstrecke der Hämostase. Prothrombin wird in aktives Thrombin durch Faktor X, Kalzium sowie durch die Gegenwart von Faktor V umgewandelt. Das Thrombin wiederum bewirkt die Umsetzung von Fibrinogen zu Fibrin. Durch den Faktor XIII und Faktor IV ( $\text{Ca}^{++}$ ) wird die Längs- und Quervernetzung und damit die Entstehung eines wasserunlöslichen Fibringerinsels ermöglicht [43].

### ***Proteine***

Die chemischen Eigenschaften von Proteinen sind für die Aufbereitung von besonderer Bedeutung. Bestimmte Proteine besitzen immer die gleiche Anzahl an Aminosäuren, diese Zahl ist jedoch zwischen verschiedenen Proteinen variabel. Sie bestehen aus einer oder mehreren Polypeptidketten. Insgesamt kommen beim Menschen 21 Aminosäuren vor. Diese sind über Peptidbindungen zu Ketten

verbunden, wobei die Anzahl der Peptidbindungen in einem Molekül immer um eins kleiner ist als die am Aufbau beteiligten Aminosäuren.

Proteine können nach der räumlichen Anordnung der Peptidketten in Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur aufgeteilt werden. Die Primärstruktur bezeichnet die Folge der einzelnen Aminosäuren. Die Sekundärstruktur wird in die  $\alpha$ -Helix und die  $\beta$ -Faltblattstruktur unterteilt. Treten Helices und Faltblätter etc. in größeren globulären Strukturen im Raum auf, wird dies als Tertiärstruktur bezeichnet. Treten mehrere Einheiten mit je Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur zusammen, stabilisiert durch nicht kovalente Bindungen, so werden diese als Quartärstruktur bezeichnet. Durch den komplexen Aufbau der Proteine sind diese enorm empfindlich gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen [44].

### ***Denaturierung***

Viele Proteine weisen eine gute Wasserlöslichkeit auf, wobei die hydrophoben unpolaren Regionen nach innen und die hydrophilen Regionen mit polaren und ionischen Seitenketten nach außen gerichtet sind. Durch die physikalische oder chemische Veränderung der äußeren Faktoren (z.B. Temperatur) kann die Sekundär- bzw. Tertiärstruktur, nicht aber die Primärstruktur des Proteins, verändert oder komplett aufgehoben werden. Somit verliert das Protein seine spezifischen Eigenschaften und man spricht von Denaturierung. Blut denaturiert bereits bei 60 - 70 °C vollständig [44], wobei die Anwesenheit von Wasser von entscheidender Bedeutung ist.

Als Alternativen zur Hitzeeinwirkung bewirken auch stark basische oder saure Reaktionen einer Lösung, UV-Strahlen, organische Lösungsmittel und Harnstoff bzw. Guanidin eine Denaturierung der Proteine [44]. Auch können Aldehyde, welche in Form von Glutaraldehyd oder Formaldehyd Bestandteile von Desinfektionsmitteln darstellen, denaturierend wirken [44]. KAMPF et al. [24] belegen das Problem der Fixierung von Blut auf dem Medizinprodukt. Diese Fixierung liegt bei glutaraldehydhaltigen Desinfektionsmitteln zwischen 77 - 100% und bei peressigsäurehaltigen Mitteln zwischen 19 - 78%. Diese Ergebnisse bekräftigen die Wichtigkeit einer effizienten Reinigung vor der weiteren Aufbereitung eines Medizinproduktes.

### **3.4 Nachweismethoden für Proteine**

Zur Kontrolle der erfolgreichen Aufbereitung von Medizinprodukten nach den Angaben des Herstellers mittels Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation wird in der Medizinprodukte-Betreiberverordnung der Einsatz von validierbaren Verfahren gefordert, durch welche der Erfolg der Aufbereitung nachvollziehbar gewährleistet ist [45]. Das bedeutet die Anwendung standardisierter Methoden, welche quantitativ auswertbar sind. Dies ist zum einen durch visuelle Kontrollen, zum anderen auch durch halb-quantitative und quantitative proteinanalytische Methoden möglich. Die große Anzahl an verschiedenen Tests erschwert die richtige Auswahl des passenden Tests für jede denkbare Art proteinbasierter Anschmutzung. Zudem sind viele Prüfmethode eine Weiterentwicklung bzw. Modifikation einer Originalmethode. Grundsätzlich werden fünf verschiedene Methoden zur Überprüfung von proteinbasierten Rückständen verwendet.

#### ***Radionuklid-Methode***

Durch die Radionuklid-Methode, entwickelt in Tübingen von Siegfried, können eventuelle Restkontaminationen einer vorher mit radioaktivem Technetium 99 markierten Testanschmutzung detektiert werden. Es besteht nicht nur die Möglichkeit der quantitativen sondern zusätzlich der topografischen Erfassung eventueller Anschmutzungsrückstände [46, 47].

Hierfür wird ein Makroalbumin mit Technetium 99 markiert und anschließend einer Testanschmutzung zugesetzt. Nach der Anschmutzung der zu untersuchenden Testkörper werden diese mit einer Gamma-Kamera zur Feststellung der Lage und Aktivität des radioaktiven Nuklids untersucht. Nach dem erfolgten Aufbereitungsprozess findet eine erneute Begutachtung der Testkörper mithilfe der Gamma-Kamera statt. Es ist nun möglich, eventuell auftretende Restkontaminationen und auch deren Lage am Objekt festzustellen [47]. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,1 µl Blut / ml Testlösung [48].

#### ***Ninhydrin-Methode***

Bei der Ninhydrin-Methode handelt es sich um einen leicht umzusetzenden Wischtest. Die Beurteilung von eventuell vorhandenen Restkontaminationen erfolgt rein qualitativ. Zur Probengewinnung wird eine Fläche von 5 - 50 cm<sup>2</sup> mittels

angefeuchteten Wattestäbchen abgewischt und anschließend mit Ninhydrinlösung versetzt. Nach einer Trocknung von ca. 5 min bei Raumluft zeigt sich das Vorhandensein von Restprotein in einer purpurroten Färbung. Bei Nicht-Vorhandensein einer Verfärbung ist die Probe nach einer Erhitzung über 30 min bei 100 °C - 110 °C im Wärmeschrank erneut auf mögliche Verfärbung zu überprüfen [49]. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,5 µl Blut / ml Testlösung [48].

### ***Biuret-Methode***

Die Biuret-Methode findet hauptsächlich in der Biochemie und Biologie Anwendung und bezeichnet eine halb-quantitative Prüfmethode zum Proteinnachweis. Hierbei wird eine Mischung aus Natriumkarbonat-Monohydrat, Natriumhydroxid, Natriumtartrat, Natriumhydrogenkarbonat und Bichinonsäure-Na<sub>2</sub> mit einer Lösung aus Kupfersulfat-Pentahydrat hergestellt. Bei Vorhandensein von Proteinen zeigt sich eine spezifische Verfärbung des Reagenz. Diese reicht je nach der vorhandenen Menge von dunkel-violett über hell-violett bis hin zu blau bzw. grün. Aufgrund dieser Verfärbung kann der Proteingehalt halb-quantitativ bestimmt [50] bzw. mit einem Reflektometer gemessen werden [51]. Die Nachweisgrenze der Biuret-Methode liegt bei 1 µl Blut / ml Testlösung [48].

### ***Peroxidase-Methode***

Die Peroxidase-Methode ist eine halb-quantitative Testmethode zum Nachweis von Hämoglobin. Die Nachweismethode basiert auf der pseudoperoxidativen Aktivität des Hämoglobins [52]. Hierbei erfolgt die Umwandlung von Chromogenen in gefärbte Verbindungen, dadurch also ein indirekter Hämoglobin- und Erythrozytennachweis. Hauptsächlich kommt diese Methode mittels Teststreifen zum Nachweis einer Mikrohämaturie zum Einsatz [44]. Nach dem Eintauchen der Teststreifen in die zu untersuchenden Probe erfolgt bei Anwesenheit von Erythrozyten oder deren Bestandteilen ein Farbumschlag. Anhand der Intensität der Verfärbung können mithilfe einer Vergleichsskala Konzentrationen von 10 - 250 Erythrozyten / µl Probelösung bestimmt werden. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,01 - 0,1 µl Blut / ml [48]. MICHELS untersucht mit dieser Methodik den Reinigungserfolg bei Hohlrauminstrumenten [52].

### **OPA-Methode**

Bei der OPA-Methode reagiert das ortho-Phthaldialdehyd in Gegenwart einer Thiolverbindung mit den freien  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -terminalen Aminogruppen der Aminosäuren, Proteinen und Peptiden zu einem Endprodukt, welches fluoreszierend ist und im Photometer vermessen werden kann [53].

#### **3.4.1 Modifizierte OPA-Methode**

Die modifizierte OPA-Methode ist eine sehr empfindliche Untersuchungsmethode zur quantitativen Bestimmung von hydrolysierten Proteinen jeglicher Art [54, 55]. Es bieten sich zudem breite Anwendungsfelder in der Protein-, Peptid- und Aminosäureanalytik [56]. Die modifizierte OPA-Methode zählt zu den empfindlicheren Methoden [54].

Die Methodik beruht auf der chemischen Umsetzung von freien  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -terminalen Aminogruppen mit ortho-Phthaldialdehyd in Gegenwart einer Thiolverbindung zu einem fluoreszierenden Endprodukt. Das entstehende Endprodukt kann durch Messung im Spektralphotometer bis in den Picomolbereich nachgewiesen werden [56, 57]. Durch den Ersatz der Thiolverbindung Mercaptoethanol in der Originalmethode durch N,N-Dimethyl-2-mercaptoethyl-ammoniumchlorid ließ sich zudem eine längere Stabilität des OPA-Reagenz im Extinktionsverhalten erzielen, wodurch heute fast ausschließlich die modifizierte OPA-Methode Anwendung findet [58]. Um die Proteine vom Testobjekt ablösen zu können, kommt eine 1%ige Sodiumdodecylsulfat (SDS) Lösung mit einer denaturierenden Wirkung zum Einsatz. Die Wiederfindungsrate von Proteinkonzentrationen unter 10  $\mu$ l liegt noch bei 90% [41, 59]. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,03 - 1  $\mu$ g Protein / ml Testlösung [54, 56, 57, 60]. Somit ist eine sehr gute quantitative Erfassung von Kontaminationen sowohl auf Außen- als auch auf Innenflächen möglich.

## **3.5 Vorgaben zur Aufbereitung wieder verwendbarer**

### **Medizinprodukte**

Die Art und Weise der Aufbereitung von zahnärztlichen Übertragungsinstrumenten ist sowohl von der KRINKO in der im Jahre 2006 veröffentlichten KRINKO-Empfehlung "Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene" [1] als auch in der KRINKO-/BfArM-Empfehlung "Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten" [3] aus dem Jahr 2012 beschrieben. Diese haben Gesetzescharakter und sind mit der "Medizinprodukte-Betreiberverordnung" (MPBetreibV) [45], dem "Medizinproduktegesetz" (MPG) [61] und der "Biostoffverordnung" [62] mehr als eine Empfehlung geworden.

Ein wichtiger Punkt ist die Verhinderung einer möglichen Kreuzinfektion durch zahnärztliche Instrumente, insbesondere durch HWS. Nicht adäquat aufbereitete Instrumente stellen eine Gefahr als mögliche Infektionsquelle gefährlicher Erreger beim Einsatz des Instrumentes am folgenden Patienten dar. Es kommt speziell der Reinigung der Instrumente, vor einer Desinfektion bzw. Sterilisation, eine besondere Bedeutung zu [1, 3]. Auch eine Empfehlung des "AK Qualität" kommt zu diesem Schluss [2].

Besonders besitzt die mögliche Belastung der zahnärztlichen Turbinen bzw. HWS mit potentiell gefährlichen Erregern große Tragweite. Diese tritt durch einen beim Abstoppen des jeweiligen Instrumentes stattfindenden Rücksog in die Spraywasser- und Sprayluftkanäle auf. Durch diesen ist es möglich, dass Blut und pathogene Erreger in die wasser- und luftführenden Teile der HWS gelangen. Somit können folglich die Spraywasser- und Sprayluftkanäle ebenso wie die wasserführenden Teile der Behandlungseinheit mit Erregern kontaminiert sein und stellen, nicht korrekt wieder aufbereitet, ein mögliches Infektionsrisiko für den jeweils folgenden Patienten dar.

Da es sich bei HWS um Übertragungsinstrumente mit einem komplexen Aufbau handelt, fallen diese in die Kategorie "semikritisch B" oder "kritisch B". Da bei "semikritisch B" oder "kritisch B" eingestuft Instrumenten sowohl eine Außen- als auch eine Innenkontamination stattfinden kann, ergeben sich erhöhte Anforderungen an Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation. Die höchste Sicherheit vor der möglichen Übertragung potentiell pathogener Organismen ist ausschließlich bei sorgfältiger Reinigung und Desinfektion sichergestellt [3, 6, 25, 63].

Die Vermeidung dieses Risikos erfordert ein konsequentes und lückenloses Qualitätsmanagement mit einer Risikobewertung, die Anwendung validierter Verfahren und zugelassener chemischer Mittel sowie deren Dokumentation und speziell geschultes Personal. Anwenderprotokolle sind strikt einzuhalten und eine Reproduzierbarkeit angewendeter Verfahren muss gewährleistet sein [3, 64].

Zwar wird bei der Aufbereitung die maschinelle der manuellen Reinigung bevorzugt gefordert, die Anwendung der manuellen Reinigung ist jedoch nicht grundsätzlich ausgeschlossen, sofern eine Äquivalenz zum maschinellen Verfahren gegeben und belegbar ist [3]. Dieser Nachweis ist oftmals nicht leicht durchführbar. So konnten zwei in einer Gemeinschaftspraxis tätige Zahnärzte in einem gerichtlichen Verfahren gegen die Auflage einer ausschließlich maschinell durchzuführenden Aufbereitung nicht ausreichend belegen, dass das von ihnen durchgeführte manuelle Reinigungsverfahren den Vorgaben entsprach [65].

Es stellt sich die Frage, ob mit manueller Reinigung die gleiche Effizienz wie bei maschineller Reinigung erreichbar ist. JATZWAK zeigt in seinen Untersuchungen die grundsätzliche Wirksamkeit einer manuellen Reinigung [64]. Um eine effektive und zusätzlich reproduzierbare manuelle Reinigung zu gewährleisten, sind manuelle Reinigungsprozesse nach der "Leitlinie zur Validierung der manuellen Reinigung und manuellen und chemischen Desinfektion von Medizinprodukten" [66] nach einer standardisierten Verfahrensweise durchzuführen. Dies ist außerdem im Rahmen einer Validierung der standardisierten Prozesse nachzuweisen und zu dokumentieren, wobei Validierung ein dokumentiertes Verfahren bezeichnet, durch welches bewiesen wird, dass ein Prozess nachweisbar immer gleiche Ergebnisse liefert [66]. Zudem wird auch in § 4 Absatz 2 der Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV) die Validierung von Aufbereitungsverfahren gefordert.

### **3.6 Fragestellungen der Arbeit**

Zahnärztliche HWS, insbesondere deren Spraywasser- und Sprayluftkanäle, müssen mithilfe der Aufbereitung fachgerecht, d.h. mit einer standardisierbaren und reproduzierbaren Methode gereinigt und somit für eine folgende Desinfektion und ggf. Sterilisation vorbereitet werden. Grundsätzlich wird hier einem maschinellen Verfahren zwar der Vorzug gegeben, jedoch wird die Anwendbarkeit eines

manuellen Verfahrens nicht generell ausgeschlossen [3]. Meist bestehen solche manuelle Verfahren aus Systemen mit unter Druck stehenden Sprayflaschen, die ein Reinigungsliquid enthalten.

Über die Wirksamkeit eines solchen manuellen Verfahrens und einer standardisierten Methode zur Reinigung zahnärztlicher HWS herrscht bei Experten, Gerichten und Gesundheitsämtern derzeit keine Einigkeit.

Vor diesem Hintergrund ist das Ziel der vergleichenden Untersuchungen die Klärung folgender Fragestellungen:

- Sind die Austrittsvolumina der verwendeten Sprayflaschen reproduzierbar?
- Eignet sich die modifizierte OPA-Methode zur Überprüfung des Reinigungserfolges?
- Ist der Reinigungserfolg zusätzlich mit einem Peroxidasetest überprüfbar und wo liegt dessen Nachweisgrenze?
- Ist es möglich, mithilfe einer manuellen Methode zahnärztliche HWS, insbesondere deren Spraywasser- und Sprayluftkanäle, standardisierbar und reproduzierbar zu reinigen?

## **4. Material und Methode**

Die Untersuchungen fanden an klinikeigenen Hand- und Winkelstücken (HWS) statt. Diese wurden laborintern nur zu Untersuchungen der Instrumentenaufbereitung bereits verwendet und waren zu keiner Zeit am Patienten im Einsatz. Nach der Kontamination durch Humanblut wurde zur Reinigung das Mittel WL-clean, in Kombination mit WL-dry, der Firma Alpro Medical GmbH, St. Georgen, verwendet.

### **4.1 Material**

#### **4.1.1 Probekörper**

Als Probekörper für die Studie dienten sieben nur für Untersuchungen der Instrumentenaufbereitung eingesetzte klinikeigene HWS der Firma KaVo – Dental, Biberach, in der Konfiguration: Intramatic LUX 2, Unterteil 20 LN mit Kopfstück 68 LDN (Abb.1) mit jeweils fabrikneuen Spraywasser- und Sprayluftkanälen. Dieser Winkelstücktyp ist in seine Einzelteile zerlegbar und der Ausbau des Spraywasser- und Sprayluftkanals ist verhältnismäßig einfach (Abb. 2). Aufgabe der Spraywasser- und Sprayluftkanäle ist der Transport von Druckluft und von Wasser, welches zur Kühlung der rotierenden Instrumente, der Schleifkörper, in der zahnärztlichen Praxis gebraucht wird.

Der Spraywasserkanal ist mit dem Sprayluftkanal über ein gemeinsames Segment verbunden (Abb. 2), wodurch die Kanäle ausschließlich gemeinsam aus dem Winkelstück entfernbar sind. Die Kanallänge beträgt 73 mm bei einem Innendurchmesser von 0,7 mm. Nach 32 mm ist eine Abwinklung entsprechend der Ergonomie des HWS vorhanden. Außer den unten beschriebenen Dichtungen befinden sich zudem keinerlei Kunststoffteile oder Dichtungen in der Strecke vor oder nach den Kanälen. Die Spraywasser- und Sprayluftkanäle bestehen aus Metall, wie auf Abb. 2 ersichtlich ist. Sie verfügen über keinerlei zusätzliche Innenbeschichtungen. Bereits erfolgte Untersuchungen belegen, dass keine mit der OPA-Lösung reagierenden Substanzen vorhanden sind [60, 64, 67, 68]. Alle im HWS verlaufenden Lichtleiter wurden für die Untersuchungen ausgebaut und die verbleibenden Ein- und Austrittsstellen mit zahnärztlichem lichthärtenden Kunststoff verschlossen. Durch die verwendete Methode wurde verhindert, dass die Testanschmutzung mit dem zum Verschluss der Lichtleiter verwendeten Kunststoff in

Kontakt kam. Zur Gewährleistung gleicher Versuchsbedingungen und zum Ausschluss möglicher Undichtigkeiten aufgrund der Tatsache, dass die HWS bereits in anderen Studien zum Einsatz kamen, wurden sämtliche Dichtungen der HWS vor Beginn der Versuche durch fabrikneue Dichtungen ersetzt. Vor jedem Versuch erfolgte der Einbau fabrikneuer Kanäle wie vom Hersteller bezogen, in die HWS. SCHÖNHERR konnte nachweisen, dass durch den Einbau der fabrikneuen Kanäle in die HWS keine Undichtigkeiten entstehen, welche die Wiederfindungsrate der Testanschmutzung beeinflussen könnten [68] .



Abb.1: Zahnärztliches Hand- und Winkelstück



Abb. 2: Zerlegtes Hand- und Winkelstück, X: Spraywasser- und Sprayluftkanäle

## 4.1.2 Reinigungsmittel

Zur Reinigung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle wurde das Mittel WL-clean in Kombination mit WL-dry der Firma Alpro Medical GmbH, laut Gebrauchsanweisung angewendet (Abb. 3).



Abb. 3: WL-clean / WL-dry-System

### WL-clean

Laut Herstellerangaben ist WL-clean eine Druckspraylösung zur nicht proteinfixierenden Reinigung ärztlicher Hohlkörperinstrumente vor der Desinfektion bzw. Sterilisation. WL-clean ist aldehyd- und alkoholfrei. Die Inhaltsstoffe sind laut Herstellerangaben:

- Ethylendiamintetraacetat
- p-Hydroxybenzoesäureester
- Polyhexamethylenbiguanid

Die Reinigung erfolgt laut Gebrauchsanweisung mit einem Adapter Typ 02 (Edelstahl) für Spraykanäle, REF 3522, ebenfalls Firma Alpro (Abb. 4 und Abb. 5). Dieser ist speziell für zahnärztliche HWS mit ISO-Schnittstelle konfiguriert. Die Kanalreinigung soll laut Hersteller mit drei Sprühstößen für je zwei Sekunden und einer sich daran anschließenden Einwirkdauer von 60 Sekunden erfolgen.



Abb. 4: Adapter Typ 02



Abb. 5: Foto der Anwendung von WL-clean

## WL-dry

Zur anschließenden Trocknung und zudem zur Reinigungsunterstützung der Kanäle wird WL-dry verwendet. Die Inhaltsstoffe sind laut Herstellerangaben:

- 1,1,1,2-Tetrafluorethan
- 1,1-Difluorethan

Die Anwendung erfolgt direkt nach der Einwirkzeit des WL-clean mit einem Sprühstoß von mindestens drei Sekunden, der zur Trocknung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle nach Herstellerangaben laut Gebrauchsanweisung führen soll.

### 4.1.3 Testanschmutzung

Die Wirksamkeitsprüfung des Reinigungssystems erfolgte durch am Versuchstag jeweils frisch entnommenes venöses Humanblut als Testanschmutzung, welches zur Kontamination der Kanäle diente. Die Entnahme erfolgte unter Punktion der

Vena mediana cubiti bzw. der Vena basilica in der Fossa cubitalis. Das Blut wurde stets von demselben Probanden (Eigenblut des Doktoranden) mithilfe des BD Vacutainer® Blutentnahmesystems (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) gewonnen.

Dieses System beinhaltet drei Komponenten:

- BD Vacutainer® Safety-Lok Set (Flügelkanüle mit Entnahmeschlauch und Luer Adapter), Produktnummer: 367261
- BD Vacutainer® Halter, Produktnummer: 364815
- BD Vacutainer® PST II Auffangröhrchen (Volumen 3 ml), beinhaltend 17 UI/ml Lithium - Heparin, Produktnummer: 367374

Durch die Beschichtung des Auffangröhrchens mit Lithium-Heparin, welches ein Antikoagulanzen darstellt, wird Antithrombin aktiviert, das die Gerinnungskaskade blockiert und somit die Blutgerinnung verhindert.

Da für die folgenden Versuche gerinnungsfähiges Humanblut benötigt wird, musste diese Blockade bei jedem Versuch durch die Zugabe des Antagonisten Protamin wieder aufgehoben werden. Hierfür wurde das Protamin Valeant (Pharmazentralnummer 905701, Valeant Pharmaceuticals Germany GmbH, Eschborn, Deutschland) verwendet. Die in 1 ml enthaltene Menge an Protaminhydrochlorid neutralisiert 1000 I.U. Heparin. Zum Start der Koagulation wurde zu den 3 ml entnommenem Humanblut vor jedem Versuch, in Anlehnung an die Versuche von GERNER [69] und DIETRICH [70], zur Inaktivierung des Heparins 60 µl Protamin mittels einer Eppendorff-Kolbenhubpipette hinzugefügt.

#### **4.1.4 Kontamination**

Zur Kontamination wurde das Humanblut unverzüglich nach Zusetzen des Protamins unverdünnt in die jeweiligen Spraywasser- und Sprayluftkanäle eingebracht. Die eingebrachte Menge betrug, zur Vergleichbarkeit mit bereits durchgeführten Untersuchungen, je 10 µl pro Spraywasser- bzw. Sprayluftkanal. Die exakte Abmessung der Anschmutzungsmenge von 10 µl erfolgte mit einer Eppendorff-Kolbenhubpipette. Die abgemessenen je 10 µl Blut wurden anschließend in eine

Einwegspritze mit Endodontiekanüle (Endoneedle Dr. J. Buquet) der Firma VEDEFAR N.V./S.A., Dilbeek (Belgien) pipettiert und im Anschluss mithilfe dieser gezielt in jeden Spraywasser- und Sprayluftkanal zur Kontamination eingebracht.

#### 4.1.5 SuperFloss

Zur Gewinnung möglicher Verunreinigungen auch an den schwer zugänglichen Kanalinnenwänden wurde SuperFloss der Firma Oral-B, Gillette Gruppe Deutschland, Frankfurt, eingesetzt. SuperFloss ist eine spezielle Zahnseide zur Reinigung von Zahnzwischenräumen, kieferorthopädischen Apparaturen und des Raumes unterhalb von Brückengliedern. Der SuperFloss-Faden besteht aus drei verschiedenen Segmenten: einem Nylonstück (A), einem flauschigen Mittelteil (B) und einem Zahnseidenteil (C) (Abb. 6).

SIEHE hat gezeigt, dass zahnärztliches SuperFloss nicht mit der als Elutionsmittel verwendeten 1%igen SDS-Lösung reagiert und dass bei der anschließenden Messung der Extinktion keine Veränderung messbar war [71].

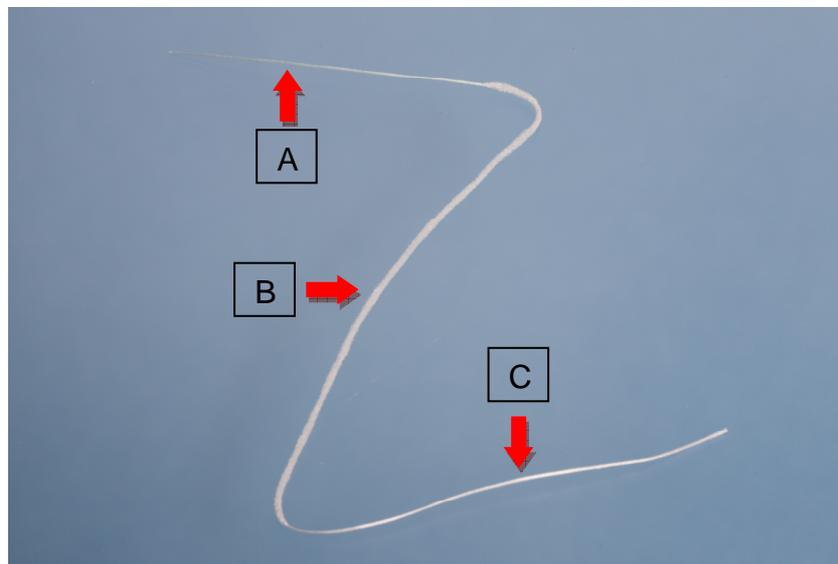


Abb. 6: Zahnärztliches Superfloss; A = Nylonstück; B = flauschiger Mittelteil; C = Zahnseidenteil

## 4.1.6 Chemikalien

Folgende Chemikalien wurden zur Durchführung der Versuche verwendet:

1. Aqua dest. Technische Hygiene, Berlin
2. bovines Serumalbumin A  
Fraktion V (BSA) Firma Serva Electrophoresis GmbH,  
Heidelberg, Deutschland, Best.-Nr.: T844.2  
LOT 13049
3. 2-Dimethylamino-ethanthiol-  
hydrochlorid Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH,  
Steinheim, Deutschland,  
Best.-Nr.: D141003-25G, LOT A 14200325
4. di-Natriumtetraborat Firma Merck KGaA., Darmstadt, Deutschland  
Best.-Nr.: 27716.290, LOT A965906928
5. Dodecysulfate Na-salt (SDS) Firma Serva Electrophoresis GmbH,  
Heidelberg, Deutschland, Best.-Nr.: 20760,  
LOT 080082
6. L-Leucin Firma Merck KGaA., Darmstadt, Deutschland  
LOT 2300546062, Best.-Nr.: 1.05360.0025
7. Li Chrosolv Water  
HPLC-Qualität Firma Merck KGaA., Darmstadt, Deutschland  
Best.-Nr.: 1.15333.2500, LOT 224933102
8. Methanol (32,04 g/mol) Firma Merck KGaA., Darmstadt, Deutschland  
Best.-Nr.: 1.06009.1011, LOT 32325007331
9. NaCl Firma Serumwerk Bernburg AG, Bernburg  
Best.-Nr.: 4604462
10. 0,1 M NaOH - Lösung Firma Merck KGaA., Darmstadt, Deutschland  
LOT 470126
11. N,N-Dimethyl-2-mercaptoethyl-  
ammoniumchlorid Firma Merck-Schuchardt, Darmstadt,  
Deutschland, Best.-Nr.: 820497
12. o-Phthaldialdehyd (97%) Firma Sigma- Aldrich Chemie GmbH,  
Steinheim, Deutschland, Best.-Nr.: P-1378  
LOT: 1370225
13. Protamin Firma Valeant Pharmacenticals, Eschborn,  
Deutschland, LOT 905903

14. Tickopur R30  
Firma Dr. H. Stamm GmbH, Berlin,  
Deutschland, pH Wert 7, LOT 090116

#### 4.1.7 Geräte

1. UV Spektralphotometer  
BECKMANN Model 25  
Firma: Scientific Instruments Division, Irvine,  
USA
2. Präzisionswaage  
Precisa, Modell : ES 320 A  
Firma: Gravimetrics AG, Schweiz
3. Magnetrührer  
Typ MR 2002  
Firma: Heidolph, Schwabach, Deutschland
4. Schüttler  
Typ CERTOMAT ® U  
Firma: B. Braun, Melsungen, Deutschland
5. Küvetten  
HELLMA ® Präzisionsküvetten aus  
optischem Spezialglas SUPRASIL ® mit  
Falzdeckel  
Firma: Hellma GmbH & Co KG, Mühlheim,  
Baden, Deutschland
6. Eppendorff-Kolbenhubpipetten  
Typ Research ® (variabel)  
Firma: Eppendorff AG, Hamburg,  
Deutschland  
Pipettierbereiche: 1 - 10 µl, 10 - 100 µl,  
100 - 1000 µl
7. Messpipette aus Glas  
Firma: Brand GmbH & Co KG, Wertheim,  
Deutschland
8. Reagenzgläser  
Länge 100, Durchmesser 16 mm;  
Firma: Schott Duran, Mainz, Deutschland
9. Messzylinder, handelsüblich  
Messbereiche: 10 ml – 2000 ml
10. pH - Messgerät  
Consort C553  
Firma: Fisher Bioblock Scientific, Schwerte,  
Deutschland

10. Adapter für Edelstahlkanäle  
Typ 02 (grün)

Firma : ALPRO, St. Georgen, Deutschland  
REF 3522

## **4.2 Methode**

Bei den durchgeführten Untersuchungen zur Reinigungsleistung des WL-Clean- / WL-dry-Systems erfolgte die Überprüfung auf eine vorhandene Restproteinmenge mittels eines quantitativen und zur zusätzlichen Absicherung mittels eines halbquantitativen Verfahrens.

### **4.2.1 Proteinbestimmung mittels modifizierter OPA-Methode**

Bei der modifizierten ortho-Phthaldialdehyd- (OPA-) Methode handelt es sich um ein quantitatives Verfahren zur Bestimmung einer Proteinmenge jeglicher Art in einem erhaltenen Probeneluat. Hierbei werden die freien  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -terminalen Aminogruppen, welche in Aminosäuren, Proteinen und Peptiden vorhanden sind, bis zu einer Restproteinmenge von 0,1  $\mu\text{g} / \text{ml}$  erfasst [72, 73].

Das ortho-Phthaldialdehyd stellt den Reaktionspartner mit den freien primären Aminogruppen dar und setzt diese in Gegenwart von Thiolkomponenten zu Isoindolen um. Diese weisen ein Absorptionsmaximum bei 340 nm auf, welches photometrisch erfasst werden kann. Bei dieser Wellenlänge besteht ein lineares Verhältnis zwischen der gemessenen Extinktion und der Konzentration an freien Aminogruppen [74].

Das in der ursprünglichen Version verwendete Mercaptoethanol wird bei der modifizierten OPA-Methode durch das im Extinktionsverhalten stabilere N,N-Dimethyl-2-mercaptoethyl-ammoniumchlorid ersetzt. Zusätzlich zum stabileren Extinktionsverhalten ergeben sich kürzere Analysezeiten und eine einfachere Handhabung.

### Bestimmung der Restproteinmenge

Die Restproteinmenge, d.h. der Gehalt an freien Aminosäuren, im untersuchten Eluat kann über das Lambert-Beersche-Gesetz bestimmt werden:

$$E = \epsilon \times c \times d$$

E = Extinktion

$\epsilon$  = molarer Extinktionskoeffizient

c = Konzentration

d = Schichtdicke

Außerdem besteht die Möglichkeit der Untersuchung und Vermessung von Proben, mit unbekannter Proteinmenge und Zusammensetzung über die Wahl eines definierten Proteins mit bekannter Menge und Konzentration. Bei diesem handelt es sich um Rinderserumalbumin (Bovine Serum Albumin = BSA) Fraktion V, welches als Äquivalent dient. Nach der Herstellung einer Stammlösung aus 100 mg Rinderserumalbumin und 100 ml H<sub>2</sub>O (HPLC-Qualität) in einem Messkolben, werden aus diesem Standards in unterschiedlichen Konzentrationen gewonnen.

Standard-Nr.	Proteingehalt ( $\mu\text{g BSA} / \text{ml}$ )	Volumen BSA- Stammlösung ( $\mu\text{l}$ )
1	5	50
2	10	100
3	20	200
4	30	300
5	50	500
6	100	1000
7	200	2000
8	400	4000

Tabelle 1: BSA - Kalibrierungsstandard

BSA: Bovines Serumalbumin Fraktion V

Die in Tabelle 1 aufgezeigten Volumina an BSA-Stammlösung werden in Messkolben pipettiert und anschließend mit 1%iger SDS-Lösung auf 10 ml aufgefüllt. Im Anschluss folgt die photometrische Analyse und die Vermessung der Proben. Da der Proteingehalt in  $\mu\text{g BSA} / \text{ml}$  bekannt ist, ergeben die erhaltenen Extinktionswerte

eine Kalibriergerade (vgl. 4.2.3, Versuch 6), deren Geradengleichung „ $y = mx + b$ “ zur Berechnung des Proteingehaltes unbekannter Proben dient. Hierbei wird die gemessene Extinktion der Proben mit unbekanntem Proteingehalt mit der Extinktion der bekannten BSA-Standards verglichen. Das Ergebnis wird ausgedrückt in „ $\mu\text{g}$  Protein in Bezug auf das BSA-Äquivalent“.

### Herstellung des OPA-Reagenz

Zur Herstellung eines Endvolumens von 50 ml an OPA-Reagenz wurde, in je einem Erlenmeyerkolben mit 10 ml Fassungsvermögen, 0,08 g ortho-Phthaldialdehyd (A) und 0,2 g N,N-Dimethyl-2-mercaptoethyl-ammoniumchlorid (B) abgewogen. Hierbei handelt es sich um die festen Bestandteile. Das ortho-Phthaldialdehyd (A) wurde, da es eine geringere Löslichkeit besitzt, zuerst in 2 ml Ethanol unter Zuhilfenahme des Magnetrührers gelöst. Anschließend wurde die erhaltene Lösung (A) mit Hilfe einer Pasteurpipette in den zweiten Erlenmeyerkolben (B) überführt, wodurch Lösung (C) entstand.

Desweiteren wurden 2,01 g di-Natriumtetraborat und 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , HPLC-Qualität, mit dem Magnetrührer verrührt, bis eine klare Lösung entstand (D). Im Anschluss wurde die beschriebene Lösung (C) in das erhaltene Gemisch (D) mit Hilfe einer Pasteurpipette überführt. Abschließend wurde die erhaltene Lösung mit 2,5 ml 20%iger SDS-Lösung versetzt, um das fertige OPA-Reagenz zu erhalten. Falls mehr als 50 ml OPA-Reagenz zur Durchführung der Versuchsreihen nötig waren, wurden die Werte in der Herstellung entsprechend multipliziert.

Das OPA-Reagenz wurde an jedem Versuchstag neu angesetzt. Für jede zu untersuchende Probe ist 1 ml OPA-Reagenz nötig.

Die Nachweisgrenze der OPA-Methode liegt, unter Zugrundelegung der Versuche von SIEHE und von SCHÖNHERR, bei einer Extinktion von 0,003. Dies entspricht einer Proteinmenge von  $0,052 \mu\text{mol} / \text{ml}$  [68, 71].

### Probenmessung

Vor der Messung der Proben wurde stets ein Nullabgleich im Photometer durchgeführt. Hierfür wurden mit Hilfe einer Eppendorff-Kolbenhubpipette zwei Küvetten mit je 500  $\mu\text{l}$  OPA-Reagenz und 500  $\mu\text{l}$  1%iger SDS-Lösung befüllt,

verschlossen und invertiert. Nach einer dreiminütigen Reaktionszeit erfolgte die Einstellung des Nullpunktes am Photometer.

Für die Messung der Extinktion wurden je 500 µl OPA-Reagenz und 500 µl der zu untersuchenden Probe in eine Küvette gegeben, anschließend wurde diese verschlossen und invertiert. Die Messung der Extinktion erfolgte nach einer Reaktionszeit von drei Minuten in Doppelbestimmung. Aus beiden Werten wurde das arithmetische Mittel gebildet.

Zur Gewährleistung der korrekten Herstellung und Reaktionsfähigkeit des OPA-Reagenz wurde an jedem Versuchstag zudem der Leucin-Standard vermessen. Hierfür wurden 65,5 mg Leucin im Messkolben (50 ml) eingewogen und mit H<sub>2</sub>O HPLC-Qualität aufgefüllt, um die Leucin-Standardlösung zu erhalten. Zur Messung des Leucin-Standards wurden 490 µl H<sub>2</sub>O HPLC-Qualität, 10 µl Leucin-Standardlösung und 500 µl OPA-Reagenz in eine Küvette pipettiert, im Anschluss verschlossen und invertiert. Die Messung im Photometer erfolgte nach einer Reaktionszeit von 3 Minuten. Die erhaltene Extinktion sollte bei 0,641 +/- 0,032 liegen.

### Bestimmung der Eigenextinktion

Zur Berechnung der tatsächlichen Extinktion einer zu untersuchenden Probe muss die Eigenextinktion der Probe bestimmt und von der gemessenen Extinktion abgezogen werden.

Zur Messung der Eigenextinktion wurden zunächst zwei Küvetten für einen Nullabgleich mit je 1000 µl 1%iger SDS-Lösung befüllt, danach der Nullpunkt abgeglichen und eingestellt. Anschließend verbleibt eine Küvette als Referenz im Photometer. In die zweite Küvette wurden je 500 µl 1%ige SDS-Lösung und 500 µl Probe pipettiert, danach verschlossen, invertiert und vermessen. Der erhaltene Wert stellt die Eigenextinktion dar und muss, wie bereits dargestellt, zur Bestimmung des tatsächlichen Extinktionswertes einer Probe, von der gemessenen Extinktion abgezogen werden.

#### **4.2.2 Proteinbestimmung mittels HemoCheck-S-Peroxidasetest**

Zusätzlich zur quantitativen Untersuchung der Eluate mittels modifizierter OPA-Methode sollte zur Absicherung der Ergebnisse ein halbquantitatives Verfahren zum Einsatz kommen. Hierfür bieten sich Verfahren an, wie sie unter anderem bei vielen Urintests Anwendung finden. Beispielsweise werden durch das Enzym Peroxidase so genannte Chromogene in gefärbte Verbindungen umgewandelt (Peroxidase-Methode).

Bei diesem Test erfolgt der Nachweis von Blut bzw. von Blutbestandteilen indirekt mithilfe der pseudoperoxidatischen Aktivität des Hämoglobins, welche die Oxidation von Tetramethylbenzidin in Gegenwart von Cumolhydroperoxid katalysiert. Hierbei wird ein Farbumschlag sichtbar. Somit können in einfacher ja- / nein-Testung Hämoglobin und damit indirekt Erythrozyten und deren Bestandteile in dem Eluat der Spraywasser- und Sprayluftkanäle nachgewiesen werden, welche von der OPA-Methode nicht erfasst werden.

In den Versuchsreihen unter Punkt 4.2.3 (Versuch 5), 4.2.4 (Versuche mit Blutanschmutzung) findet der HemoCheck-S-Test (Firma PEREG GmbH, Waldkraiburg, BAG Best-Nr.: 8295) Anwendung. Dieser Test beruht auf der beschriebenen chemischen Reaktion und ist speziell zur Überprüfung von Hämoglobinresten auf Oberflächen und Instrumenten konzipiert. Der Test (Abb.7) besteht insgesamt aus drei Komponenten: einem Fläschchen mit Indikatorlösung (A), einem Fläschchen mit Aktivator (B) und einem Teststäbchen mit verdicktem Kopf (C). Bei den durchgeführten Versuchsreihen, in denen der Test zur Anwendung kam, wurden je 100 µl der zu untersuchenden Probe auf das Teststäbchen pipettiert. Nach der Öffnung eines Indikators (A) wurde dieser in ein Fläschchen mit Aktivator (B) verbracht. Im Anschluss wurde das Teststäbchen mit der Probe mit dem Kopf zuerst in das vorbereitete Fläschchen gegeben, fünfmal geschüttelt und eine Reaktion abgewartet. Der Farbumschlag wurde nach 30 Sekunden visuell beurteilt. Hämoglobinreste bis 0,1 µg lassen sich durch den Test detektieren und werden als leichte grün-blaue Verfärbungen sichtbar. Hämoglobinmengen über 1 µg färben das Teststäbchen und mitunter die Lösung stark grün-blau (Abb. 8) [75]. Der Test fand in den Versuchsreihen zur zusätzlichen Absicherung der Ergebnisse der OPA-Messungen Verwendung.



Abb. 7: HemoCheck-S-Test; A: Indikatorlösung; B: Aktivatorlösung; C: Teststäbchen



Abb. 8: HemoCheck-S-Test: Färbung nach Aktivierung; links: starke Reaktion; rechts: keine Reaktion

#### 4.2.3 Versuche zur Methode

Zur Ermittlung einer evtl. vorhandenen Restproteinmenge nach der Verwendung von WL-clean wurde in zahlreichen Versuchen eine validierbare Methode erarbeitet. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht aller erfolgten Einzelversuche, welche folgend im Einzelnen erläutert werden.

<b>Versuchsnummer</b>	<b>Versuchsinhalt</b>
<b>1</b>	<b>Versuch 1 zum WL-clean Druckgassystem</b>
<b>2</b>	<b>Versuch 2 zum WL-dry Druckgassystem</b>
<b>3</b>	<b>Versuch 3 zur Untersuchung von Kreuzreaktionen zwischen WL-clean und OPA-Lösung</b>
<b>4</b>	<b>Versuch 4 zur Blutrückgewinnung</b>
<b>5</b>	<b>Versuch 5 zur zusätzlichen Hämoglobindetektion mittels Peroxidasetests</b>
<b>6</b>	<b>Versuch 6 zur Ermittlung der BSA-Äquivalentgeraden</b>

Tabelle 2 : Übersicht zur Etablierung der Methode

### Versuch 1 zum WL-clean Druckgassystem

Beim WL-clean-System wird das reinigende Liquid mittels Gasdruck in die HWS verbracht. Zu Beginn war zu klären, ob eine zunehmende Betriebsdauer Auswirkungen auf den Flaschendruck und somit die Austrittsmenge des Liquids zeigt. Dies erfolgte in zwei Einzelversuchen an insgesamt drei neuen WL-clean Flaschen. Die Kontrolle der Austrittsdauer des Liquids wurde in beiden Versuchen per Stoppuhr durchgeführt.

Anfangs wurde mit zwei neuen Flaschen die Austrittsmenge in jeweils 15 Wiederholungen gemessen. Hierfür wurde der Auslöseschalter für je zwei Sekunden unter maximalem Ausschlag betätigt. Das in dieser Zeit ausgetretene Liquid wurde in einem Laborgefäß aufgefangen und anschließend in Gramm vermessen.

Im zweiten Versuch erfolgte in gleicher beschriebener Abfolge die Vermessung der Austrittsmenge einer neuen WL-clean Flasche, jedoch im Unterschied zum vorherigen Versuch bis zur kompletten Leerung. Die Austrittsdauer betrug auch hier zwei Sekunden je Wiederholung.

## Versuch 2 zum WL-dry-Druckgassystem

Da nach der durchgeführten Reinigung zur weiteren Behandlung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle die Trocknung durch das WL-dry-Druckgassystem zur Sicherstellung einer validierbaren Methode nötig ist, stellte sich auch hier die Frage, ob die Austrittsmenge aus der Flasche mit zunehmender Betriebsdauer stets konstant bleibt. Hierfür wurde eine Versuchsanordnung mit kommunizierenden Röhren angefertigt (Abb. 9).

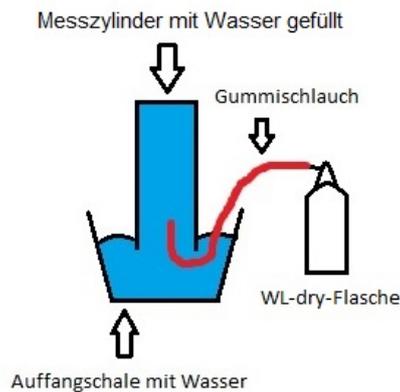


Abb. 9.: Schematischer Aufbau eines WL-dry-Versuches zur Messung der Gasaustrittsmenge

Das Messgefäß und die Auffangschale wurden beide mit Wasser gefüllt. Mittels eines Gummischlauches als Verbindung zwischen WL-dry-Flasche und Messgefäß konnte bei maximaler Betätigung des Auslösers an der Flasche das Gas unter Verdrängung des Wassers in den Messzylinder strömen und somit die Menge des freigesetzten Gases abgelesen werden. Je Einzelwiederholung wurde der Messzylinder wieder vollständig mit Wasser befüllt. Die Betätigungszeit war, wie in der Gebrauchsanweisung vorgegeben, drei Sekunden und wurde mittels Stoppuhr gemessen. Die ausgetretene Gasmenge in je 15 Wiederholungen pro Versuch konnte direkt vom Messzylinder abgelesen werden.

Die Durchführung des Versuchs erfolgte zweimal im identischen Aufbau mit je einer neuen und einer bereits 63x gebrauchten WL-dry-Flasche.

### Versuch 3 zur Untersuchung von Interaktionen zwischen WL-clean und OPA-Reagenz

Zur Vermeidung der Verfälschung der Versuchsergebnisse erfolgte die Untersuchung eventueller Interaktionen zwischen WL-clean und der OPA-Lösung.

Als Probe wurde das reine WL-clean aus der Flasche entnommen und in einem Laborgefäß aufgefangen. Es folgte die Vermessung der Extinktion des reinen WL-clean mithilfe der modifizierten OPA-Methode wie unter Punkt 4.2.1ff beschrieben.

Die Durchführung des kompletten Versuchs fand an zwei verschiedenen Tagen, mit zweimal frisch angesetzter OPA-Reagenz und frisch entnommenem WL-clean aus zwei verschiedenen Flaschen, in je zehn und sechs Wiederholungen statt.

### Versuch 4 zur Blutrückgewinnung

Zur Sicherstellung der vollständigen Rückgewinnung der eingesetzten Anschmutzungsmenge aus den Spraywasser- und Sprayluftkanälen der HWS wurden mehrmals die Rückgewinnungsrate der Anschmutzung und zusätzlich der theoretisch mögliche Einfluss durch die Trocknung nach der Reinigung mithilfe von WL-dry untersucht. Als standardisierte Probekörper kamen rechteckige Metallplättchen mit einer Größe von 50 x 15 x 1mm und einem Gewicht von 5,9 g zum Einsatz.

Zur Bestimmung der Rückgewinnung wurde Humanblut zum Start der Koagulation mit Protamin versetzt (vgl. 4.1.3) und sofort unverdünnt in einer Menge von 10 µl auf sechs Metallplättchen pipettiert und ausgestrichen. Zudem wurden zur Untersuchung eines möglichen Einflusses von WL-dry auf die Rückgewinnung je 10 µl Blut auf sechs Metallplättchen ausgestrichen. Diese wurden im Vorhinein drei Sekunden mit WL-dry benetzt. Abschließend wurden zur Detektion der Rückgewinnung 10 µl Blut auf 2 ml 1%ige SDS-Lösung pipettiert. Nach einer Antrocknungszeit von 60 Minuten wurden die Metallplättchen mit dem mittlerweile koagulierten Blut in Laborgefäße verbracht und mit 2 ml 1%iger SDS-Lösung benetzt. Nach einer Schüttelzeit von weiteren 60 Minuten wurden die Proben im Photometer, mithilfe der modifizierten OPA-Methode vermessen, wie unter Punkt 4.2.1 dargestellt.

Hierfür wurden je 500 µl Probe mit 500 µl OPA-Reagenz in Küvetten pipettiert. Diese wurden verschlossen, invertiert und nach drei minütiger Reaktionszeit im Photometer analysiert. Zusätzlich wurde der Leucin-Standard ermittelt.

### Versuch 5 zur zusätzlichen Hämoglobindetektion mittels Peroxidasetest

Zusätzlich zur Überprüfung des Reinigungserfolges des WL-clean-Systems mittels der modifizierten OPA-Methode sollte eine Kontrolle unter Zuhilfenahme eines halbquantitativen Peroxidasetests erfolgen. Zur Auswahl standen zwei Testsysteme. Zum grundsätzlich ersten Ausschluss eventueller Kreuzreaktionen zwischen WL-clean und der Peroxidase-reaktion an sich wurde zur Voruntersuchung der Combur 5 Test<sup>®</sup> HC, Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland (PZN: 0838594) herangezogen (Abb. 10). Dieser Test kommt in der Medizin zur Bestimmung von Glucose, Leukozyten, Nitrit, Protein und Blut im Urin zum Einsatz. Er ist leicht anzuwenden und zudem relativ preisgünstig.

Die Anwendung erfolgt, indem der Teststreifen etwa eine Sekunde in die zu testende Flüssigkeit getaucht wird, so dass er komplett benetzt ist. Nach einer Reaktionszeit von 60 Sekunden werden die Farben der Testfelder mit denen der Referenzfelder verglichen. Die Intensität der gemessenen Verfärbung wird visuell beurteilt.

Es wurde an je 10 Teststäbchen eine Reaktion mit WL-clean, 20%iger SDS-Lösung, 1%iger SDS-Lösung und einer Suspension aus je 3 ml 1%iger SDS-Lösung mit 3 ml WL-clean untersucht.

Nach dieser Voruntersuchung wurde für die nachfolgenden genaueren Testungen der speziell für die Praxishygiene entwickelte HemoCheck-S-Test (vgl. 4.2.2) zur Detektion feinsten Hämoglobinreste mithilfe einer blauen Farbreaktion ausgewählt. Dieser eignet sich in besonderem Maße, besser als der Combur 5 Test<sup>®</sup> HC, aufgrund seiner leichten Verfügbarkeit und besseren labortechnischen Validierbarkeit und besser reproduzierbaren Handhabung für die weiteren Untersuchungen. Zudem wurde ein Peroxidasetest in bereits bestehenden und früher durchgeführten Testungen verwendet. [32]

Zur Ermittlung der Nachweisgrenze des Tests wurde aus einer Stammlösung von 50 µl frisch entnommenem Humanblut und 10 ml 1%iger SDS-Lösung eine Verdünnungsreihe erstellt und die jeweiligen Verdünnungen mithilfe der modifizierten OPA-Methode vermessen. Zusätzlich wurden die Verdünnungen mit dem

HemoCheck-S-Test geprüft und auf eine etwaige Farbreaktion hin untersucht. Als Nachweisgrenze wurde die Extinktion der Verdünnung definiert, bei der neben einer messbaren Extinktion eine gerade noch sichtbare Farbreaktion erkennbar war. Die Durchführung des kompletten beschriebenen Verfahrens erfolgte insgesamt vier Mal.



Abb. 10: Combur 5 Test<sup>®</sup> HC, FA Roche

### Versuch 6 zur Ermittlung der BSA-Kalibriergeraden

Die Ermittlung der BSA-Kalibriergeraden erfolgte in zwei Einzelversuchsreihen, wie unter Punkt 4.2.1 beschrieben. Zur Minderung eines eventuellen Fehlers wurden die Werte beider Geraden gemittelt und ein für die anschließenden Versuche gültiger BSA-Kalibrierstandard bestimmt.

### **4.2.4 Analyse der Reinigungsleistung durch Proteinbestimmung**

Nach der Herausarbeitung validierbarer Versuchsbedingungen folgten die eigentlichen Versuche zur Reinigungsleistung des WL-clean-Systems an den beschriebenen Spraywasser- und Sprayluftkanälen der HWS der Firma KaVo in der Konfiguration Intramatic LUX 2 Unterteil 20 LN mit Kopfstück 68 LDN (siehe 4.1.1).

### Versuch ohne Kontamination

Aufgrund der Ergebnisse der Validierungsversuche bezüglich einer Interaktion zwischen OPA-Reagenz und Bestandteilen des WL-clean wurde zuerst ein Versuch ohne Kontamination mit Humanblut durchgeführt. Abb. 11 zeigt den schematischen Versuchsablauf, welcher folgend erläutert wird.

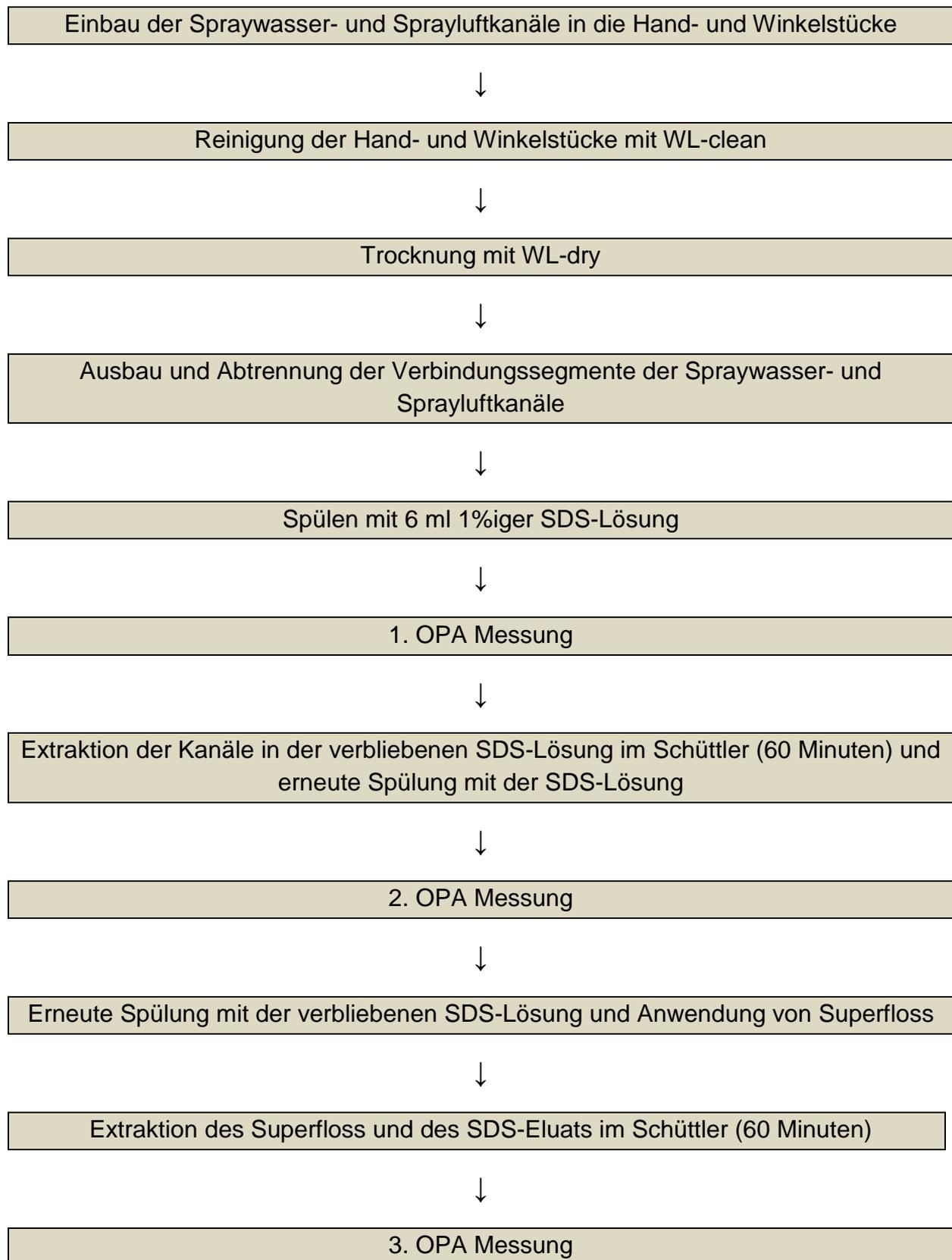


Abb. 11: Fließschema zum Versuchsablauf des Leerversuchs

Nach dem Einbau der Spraywasser- und Sprayluftkanäle in die sechs HWS der Firma KaVo erfolgte die Reinigung mit WL-clean nach Gebrauchsanweisung. Gereinigt wurde mit drei Sprühstößen für je 2 Sekunden. Nach einer Einwirkzeit von einer Minute wurden die Kanäle mit WL-dry getrocknet, aus den HWS ausgebaut und die Verbindungssegmente (Abb. 12) zur Ermöglichung der Spülung und Messung mit einem Seitenschneider entfernt. Vorhandene Verbiegungen wurden mit einer Flachzange korrigiert. Die nun einzelnen Kanäle wurden anschließend mit 6 ml 1%iger SDS-Lösung gespült. Die SDS-Lösung wurde mithilfe einer Einwegspritze mit Endodontiekanülen (Endoneedle Dr. J. Buquet) der Firma VEDEFAR N.V./S.A., Dilbeek (Belgien) durch die Kanäle gespült. Endodontiekanülen werden normalerweise zur Spülung der Wurzelkanäle eines Zahnes bei einer Wurzelkanalbehandlung verwendet. Diese sind sehr filigran und eignen sich deshalb zur punktgenauen Applikation der SDS-Lösung in die Kanallumina. Nach der ersten Vermessung der Eluate mittels modifizierter OPA-Methode (vgl. 4.2.1) wurden die Kanäle zusammen mit der verbleibenden SDS-Lösung in ein Laborreagenzglas gegeben und auf dem Schüttler weiter bei 50 rpm eluiert. Nach 60 Minuten wurde erneut mit der jeweiligen SDS-Lösung gespült, um eventuell weitere Reste aus den Kanälen zu lösen. Nach der zweiten Vermessung mittels modifizierter OPA-Methode wurden die Kanäle zur weiteren Lösung eventueller Reste mit dem verbleibenden SDS-Eluat gespült und zusätzlich dreimal mit zahnärztlichem SuperFloss durchfädelt (Abb. 13). Zur besseren Handhabung wurde der Zahnseideanteil des SuperFlossfadens entfernt. Es folgte die weitere Extraktion des SuperFlossfadens zusammen mit dem erhaltenen Eluat für 60 Minuten im Schüttler. Im Anschluss daran wurde das Eluat ein drittes Mal mittels modifizierter OPA-Methode vermessen. Alle zeitlichen Messungen erfolgten unter Zuhilfenahme einer Stoppuhr. Bei jeder OPA-Messung wurde zusätzlich die Eigenextinktion bestimmt.

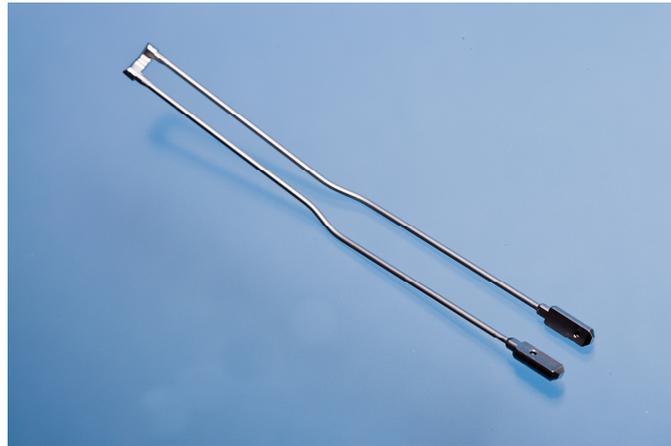


Abb. 12: Spraywasser- und Sprayluftkanalpaar

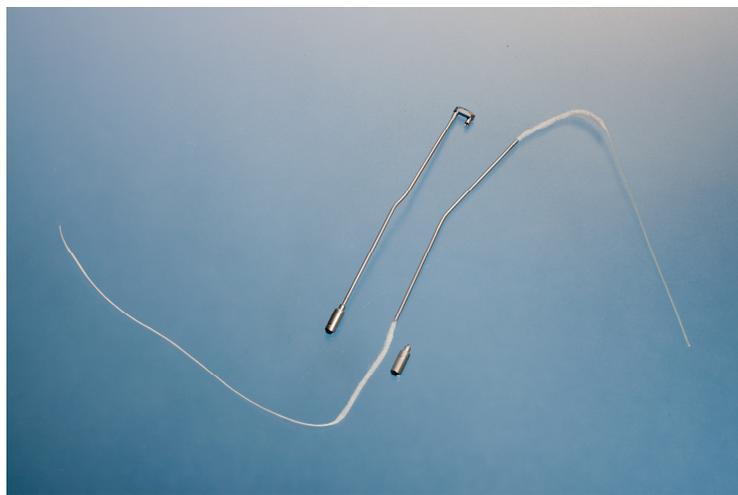


Abb. 13: Darstellung der Extraktion mit Superfloss

### Überprüfung der Reinigungsleistung mit Blutanschmutzung

Nach der Durchführung des Versuchs mit etablierter Methode ohne Kontamination (vgl. 4.2.4) folgte die Vermessung an je sieben HWS mit Einsatz der Testanschmutzung (vgl. 4.1.3 und 4.1.4). Der Versuchsablauf ist in Abbildung 14 dargestellt und wird nachfolgend erläutert.

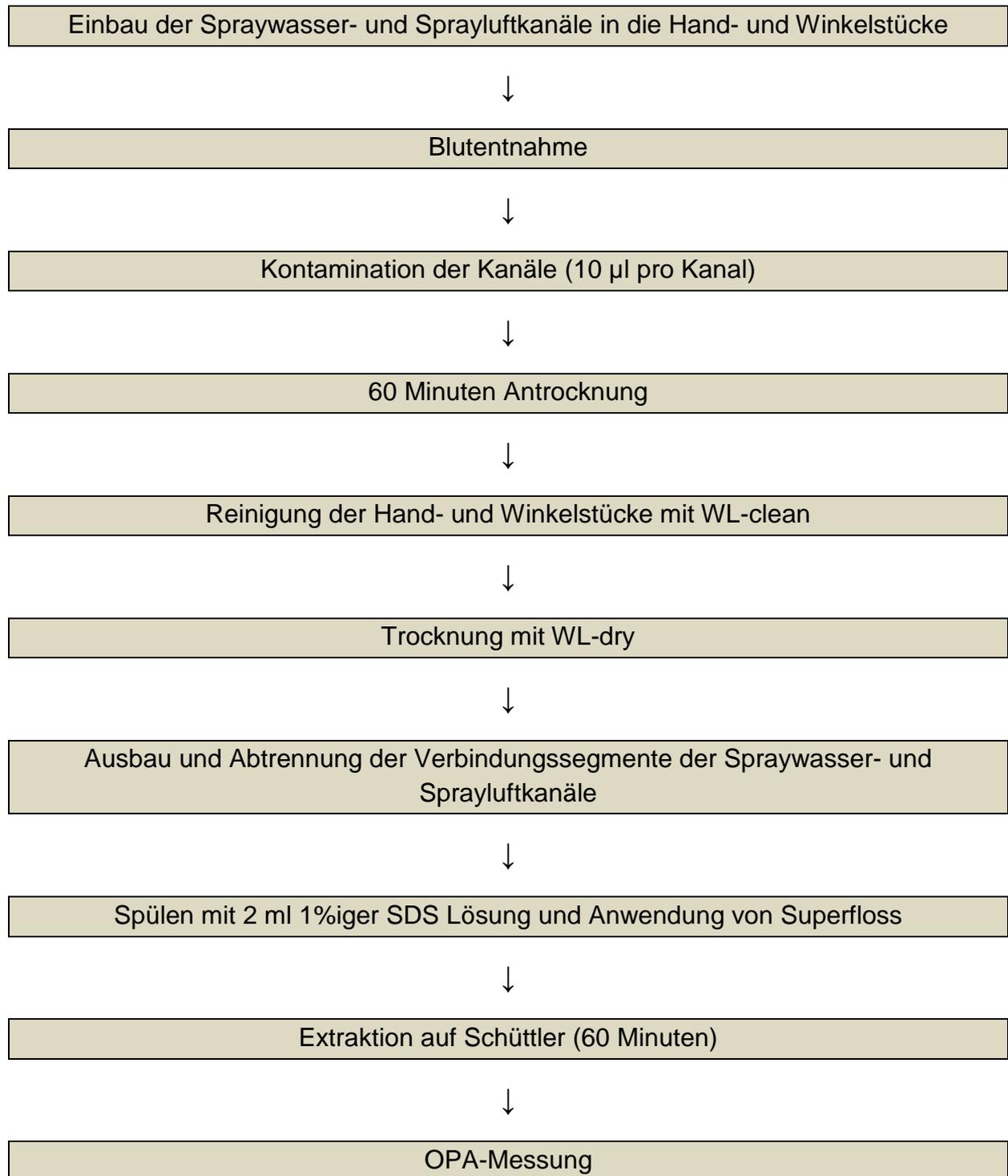


Abb. 14: Fließschema des ersten Versuchs mit Blutanschmutzung

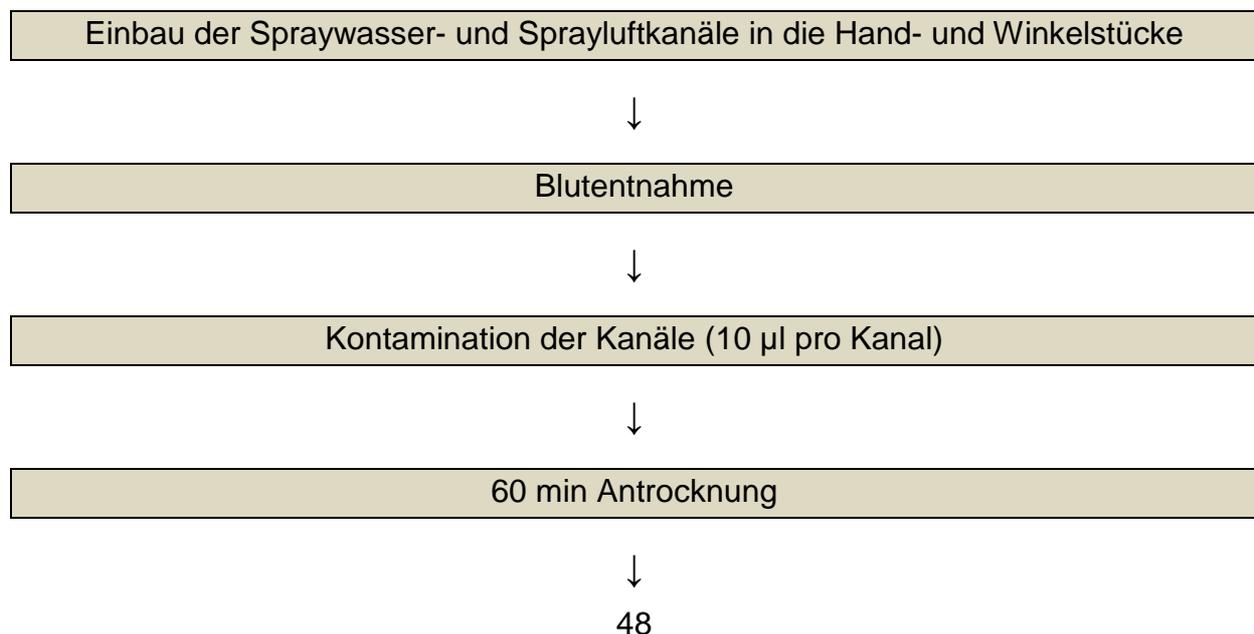
Nach dem Einbau der sieben Spraywasser- und Sprayluftkanäle in die sieben HWS (vgl. 4.1.1) und erfolgter Blutentnahme und Kontamination (vgl. 4.1.3 und 4.1.4) der Kanäle mit je 10 µl Blut pro Kanal wurde eine Wartezeit von 60 Minuten gewählt, um eine Koagulation der Testanschmutzung abzuwarten. Die erfolgte Gerinnung wurde

zudem am nicht benötigten Blutrestvolumen nach Ablauf der Zeit visuell überprüft. Es folgte die Anwendung des WL-clean-Sprays in drei Sprühstößen für je zwei Sekunden. Nach anschließender Einwirkzeit von einer Minute wurden die Kanäle mit WL-dry für drei Sekunden getrocknet. Nach dem Ausbau der Kanäle und dem Abtrennen des Verbindungsstücks wurden diese mit je 2 ml 1%iger SDS-Lösung, appliziert mit einer Endodontiekanüle und einer Einwegspritze, durchspült. Zusätzlich kam der SuperFlossfaden (Abb.13) zum Einsatz, welcher dreimal durch den Kanal gefädelt wurde, um eventuell verbliebene Anhaftungen der Anschmutzung an den Kanalinnenwänden zu erfassen. Anschließend folgte die Extraktion der erhaltenen Proben für 60 Minuten auf dem Schüttler bei 50 rpm. Die Probenvermessung erfolge mittels modifizierter OPA-Methode (vgl. 4.2.1). Der Versuch inklusive der jeweiligen Vermessung mittels modifizierter OPA-Methode wurde dreimal an drei verschiedenen Tagen mit je sieben HWS durchgeführt.

### Überprüfungsversuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge

Es sollte mithilfe eines modifizierten Versuchsablaufes untersucht werden, ob und wie weit sich die Extinktionen der erhaltenen Proben durch verschiedene Extraktionsmethoden verändern.

Zusätzlich fand die Prüfung der Proben auf eventuell vorhandene Blutrückstände mit dem HemoCheck-S-Test statt. Abbildung 15 zeigt den Versuchsablauf im Diagramm.



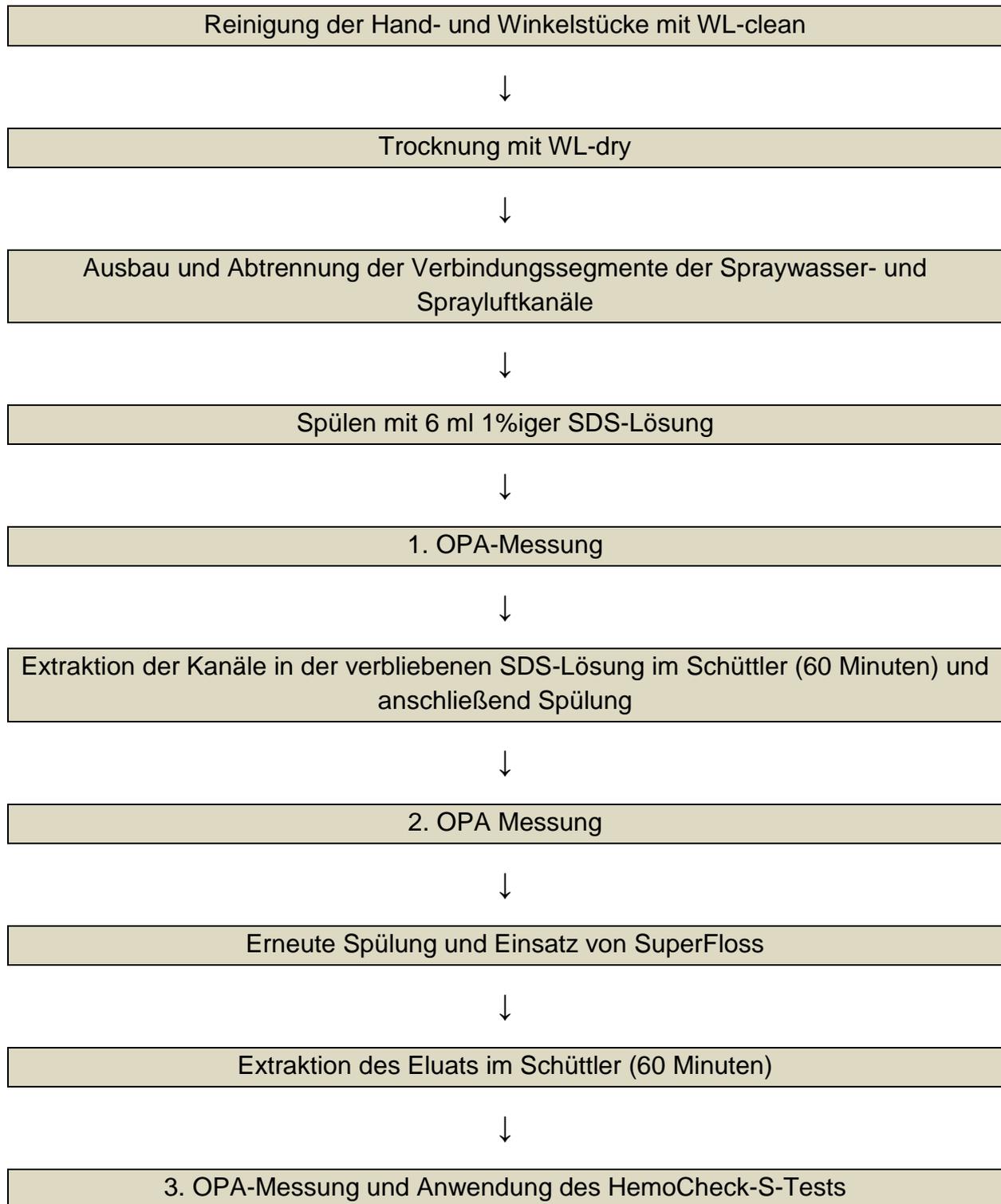


Abb. 15: Fließschema des zweiten Versuchs mit Blutanschmutzung

Nach dem Einbau der Spraywasser- und Sprayluftkanäle, der Kontamination mit Humanblut und einer Antrocknungszeit von 60 Minuten folgte die Reinigung mithilfe des WL-clean mittels drei Sprühstößen zu je zwei Sekunden Einwirkzeit und der anschließenden Trocknung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle mittels WL-dry für

je drei Sekunden. Die Kanäle wurden anschließend aus den HWS ausgebaut und das Verbindungsstück entfernt. Zur ersten Messung wurden die Kanäle mit 6 ml 1%iger SDS-Lösung gespült und das erhaltene Eluat mittels modifizierter OPA-Methode (vgl. 4.2.1) vermessen. Aufgrund der mehrmaligen Messung musste ein größeres Volumen an SDS-Lösung zur Spülung verwendet werden als beim vorhergehenden Versuch. Anschließend wurden die Kanäle in die verbliebene SDS-Lösung eingelegt und für 60 Minuten auf dem Schüttler bei 50 rpm extrahiert. Es folgte eine zweite OPA-Messung. Nach dieser wurden die Kanäle abermals mit der verbliebenen 1%igen SDS-Lösung gespült und zusätzlich zur Intensivierung und mechanischen Erfassung eventueller Anhaftungen an den Kanalwandungen dreimal mit SuperFloss durchfädelt. Dieses wurde zusammen mit dem SDS-Eluat eine weitere Stunde auf dem Schüttler bei 50 rpm extrahiert und anschließend mittels OPA-Methode vermessen. Nach der dritten OPA-Messung kam zusätzlich der HemoCheck-S-Test zur Detektion eventueller Blutreste zum Einsatz. Hierfür wurden 100 µl Probe jeweils auf ein Wattestäbchen pipettiert, der Test wie beschrieben durchgeführt und eine eventuelle Farbreaktion abgewartet. Der gesamte Versuch inklusive der jeweiligen Vermessung mittels OPA-Methode wurde an drei verschiedenen Tagen mit je sieben HWS durchgeführt.

### **4.3 Auswertung mittels Boxplotdiagramm**

Die im Überprüfungsversuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge (vgl. 4.2.4) ermittelten Werte wurden nach der statistischen Auswertung mithilfe eines Boxplot-Diagrammes dargestellt. Ein Beispiel zeigt Abb.16. Die dargestellte Box beinhaltet 50% aller Werte, d.h. der Interquartil-Abstand zwischen 25% und 75% aller ermittelten Werte wird dargestellt. Innerhalb der Box verläuft der Median. Beide parallele Balken ober- und unterhalb der Box stellen kleinste bzw. größte, nicht extreme, Werte dar. Die Verbindungslinie von der Box zu diesen beschriebenen Balken wird als Federbalken oder Whisker bezeichnet. Ausreißer beschreiben Werte bis zum 1,5-fachen des Interquartilsabstandes vom Federbalken und werden mit einem Kreis gekennzeichnet. Werte, die das 7-fache des Interquartilsabstandes betragen, gelten als extreme Ausreißer und werden mit einem Stern markiert.

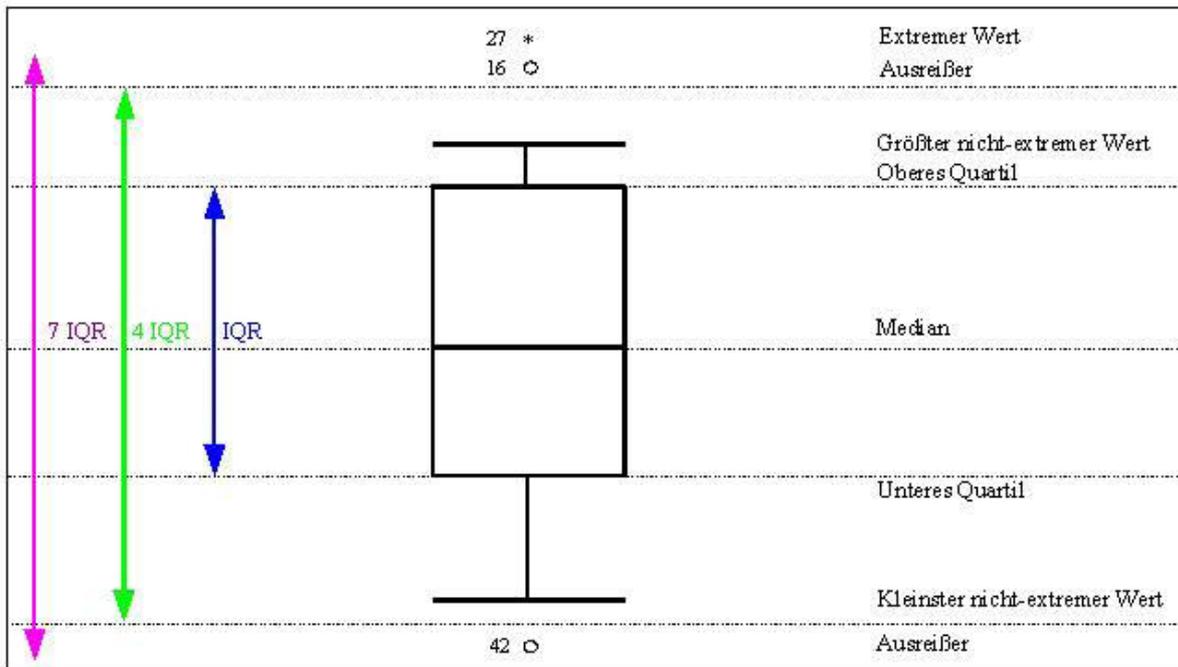


Abb. 16: Schematische Boxplotdiagrammdarstellung

(Quelle: [http://images2.wikia.nocookie.net/\\_\\_cb20070711154245/marktforschung/images/9/9c/Box-plot.jpg](http://images2.wikia.nocookie.net/__cb20070711154245/marktforschung/images/9/9c/Box-plot.jpg))

## 5. Ergebnisse

Folgend werden die Ergebnisse aus den Versuchsreihen zur Etablierung der Methode und aus den Versuchsreihen mit etablierter Methode zur Wirkungsweise des WL-clean Systems dargestellt.

### 5.1 Versuche zur Methode

Nachfolgend werden die Ergebnisse der Testreihen zur Methode für die Standardisierung des Reinigungserfolges des WL-clean Systems dargestellt.

#### Versuch 1 zur Ermittlung des Austrittsvolumens des WL-clean Druckgassystems

Die Testung erfolgte an zwei neuen Flaschen WL-clean in je 15 Wiederholungen und einer weiteren Flasche bis zur kompletten Leerung mithilfe von 172 Wiederholungen. Die Ergebnisse sind der Tabelle 3 und der Tabelle 8 im Anhang (siehe Kapitel 9) zu entnehmen.

Tabelle 3: Ermittlung des Austrittsvolumens an zwei neuen Flaschen des WL-clean Druckgassystems bei zwei-sekündlicher Betätigung der WL-clean Flasche (n=30)

Messung	Flasche 1 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]	Flasche 2 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]
1	3,35	3,04	3,19	1,91
2	3,49	7,41	3,33	2,42
3	3,26	0,35	3,21	1,39
4	3,26	0,31	3,35	2,84
5	3,26	0,33	3,40	4,37
6	3,10	4,46	3,32	2,11
7	3,21	1,13	3,27	0,60
8	3,31	1,92	3,30	1,42
9	3,30	1,52	3,23	0,76
10	3,24	0,19	3,15	3,25
11	3,19	1,68	3,23	0,85
12	3,31	1,92	3,02	7,26
13	3,05	6,11	3,39	4,15
14	3,20	1,29	3,18	2,26
15	3,18	1,96	3,25	0,22
Mittelwert	<b>3,25</b>		<b>3,25</b>	

Tabelle 3 zeigt bei beiden Flaschen eine Austrittsmenge an WL-clean von 3,25 g als Mittelwert bei der Betätigung für zwei Sekunden. Als Maximalwert für Flasche 1 konnte 3,49 g, als Minimalwert 3,05 g bzw. 3,40 g und 3,02 g bei Flasche 2 ermittelt werden. Die Werte der 15 Einzelmessungen zeigen bei Flasche 1 eine Standardabweichung von durchschnittlich 3,17 % und bei Flasche 2 von 3,07 %, je vom Mittelwert.

Die 172 Einzelmessungen in Tabelle 8 (siehe Kapitel 9), bei kompletter Leerung der Flasche, zeigen einen Mittelwert von 2,98 g und eine Standardabweichung vom Mittelwert in Höhe von 15,92 %. Maximalste Austrittsmenge waren 3,53 g in der 21. Wiederholung, minimalste 1,52 g in der 172. Wiederholung. Ab Messung Nr. 106 zeigte sich eine abnehmende Austrittsmenge.

### Versuch 2 zum WL-dry Druckgassystem

Insgesamt wurden je 15 Messungen der Gasvolumina, bei Betätigung der WL-dry Flasche für drei Sekunden, an zwei verschiedenen WL-dry Flaschen durchgeführt. Der Mittelwert der Gasaustrittsmenge beträgt bei Flasche Nr. 1 1117 ml und bei Flasche Nr. 2 1107 ml. Die Standardabweichung beträgt 5,5 % bei Flasche 1 und 4,5% bei Flasche 2. Bei Flasche 1 wurden als Maximum 1200 ml und Minimum 1050 ml erreicht bzw. bei Flasche 2 als Maximum 1200 ml und als Minimum 1050 ml. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 (siehe Kapitel 9) dargestellt.

### Versuch 3 zur Untersuchung von Interaktionen zwischen WL-clean und OPA-Reagenz

Für die Anwendung der modifizierten OPA-Methode zur Restproteinbestimmung wurden eventuelle Interaktionen zwischen dem WL-clean Reagenz und der OPA-Lösung insgesamt zwei Mal untersucht. Im Erstversuch wurde mit zehn Wiederholungen getestet. An einem zweiten Tag wurde die Testreihe zur Absicherung der erhaltenen Ergebnisse mit sechs Wiederholungen nochmals durchgeführt. Tabelle 10 (Kapitel 9) zeigt die Ergebnisse der ersten Testreihe.

Die Extinktionen wurden jeweils in Doppelbestimmung gemessen. Die Eigenextinktion beschreibt die Eigenfärbung der Lösung und muss deshalb nach der Ermittlung vom Extinktionswert subtrahiert werden, um die tatsächliche Extinktion der Probe zu erhalten. In der ersten Testreihe (Tab.10, Kapitel 9) zeigt sich eine mittlere

Extinktion von 0,545 mit dem höchsten Wert in Messung Nr. 9 mit 0,601 und dem niedrigsten bei Messung 5 mit 0,506. Die Höhe der Extinktionen der ersten Testreihe ist in Abb. 17 dargestellt. Es zeigen sich somit bereits in der ersten Messreihe aufgrund der gemessenen Extinktionen Interaktionen zwischen dem WL-clean und dem OPA-Reagenz.

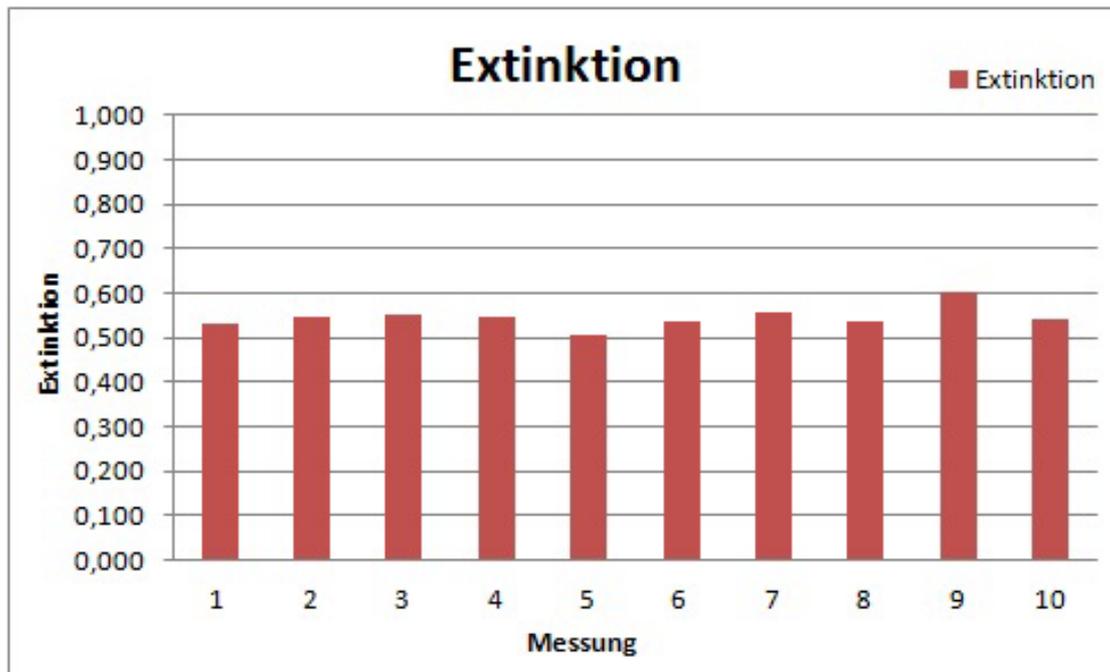


Abb. 17: Proteinbestimmung zur Untersuchung von Interaktionen zwischen WL-clean und OPA Reagenz, bestimmt mit der modifizierten OPA-Methode (n=10)

Zur zusätzlichen Absicherung der erhaltenen Ergebnisse wurde eine zweite Testreihe mit einer frisch angesetzten OPA-Lösung durchgeführt. Die erhaltenen Extinktionen sind in Tabelle 4 dargestellt. Mittlerer Extinktionswert war bei sechs Messungen 0,630, der höchste Einzelwert in Messung Nr. 3 lag bei 0,678, der niedrigste bei 0,604 in Messung Nr. 4. Auch in Testreihe 2, die zur Absicherung der in Testreihe 1 erhaltenen Ergebnisse durchgeführt wurde, ist aufgrund der erhaltenen Extinktionen eine Reaktion der WL-clean-Lösung mit dem OPA-Reagenz ersichtlich.

Tabelle 4: Überprüfungsversuch von Interaktionen zwischen WL-clean und OPA-Reagenz gemessen mit der modifizierten OPA-Methode (n=6)

Messung	Extinktion1	Extinktion 2	Eigenextinktion 1	Eigenextinktion 2	Extinktion
1	0,630	0,614	0,000	0,000	0,622
2	0,688	0,573	0,007	0,001	0,624
3	0,607	0,748	0,000	0,002	0,678
4	0,629	0,578	0,000	0,001	0,604
5	0,630	0,601	0,001	0,003	0,615
6	0,603	0,678	0,000	0,002	0,641
Mittelwert					0,630

Die Ergebnisse aus beiden Testreihen zeigen eine Reaktion des OPA-Reagenz mit der WL-clean-Lösung an.

#### Versuch 4 zur Blutrückgewinnung

Zum Beleg, dass die gesamte eingesetzte Anschmutzung, bestehend aus Humanblut, mit der angewendeten Extraktionsmethode zurückgewonnen werden kann, wurde ein Versuch zur Untersuchung der Rückgewinnung durchgeführt. Die Durchführung erfolgte an drei Tagen, insgesamt dreimal. Die Messung der Extinktion erfolgt in Doppelbestimmung. Es wurde vom arithmetischen Mittelwert der beiden Einzelwerte die Eigenextinktion der Lösung subtrahiert, um die bereinigte tatsächliche Extinktion zu erhalten.

Der Mittelwert der Extinktion der Blutlösung betrug 0,536 bzw. 0,571 bzw. 0,584. Der Mittelwert der Extinktion der extrahierten Lösung des Blutes auf dem Plättchen betrug 0,568 bzw. 0,546 bzw. 0,580. Der Mittelwert der extrahierten Lösung von den Plättchen, welche zusätzlich mit WL-dry behandelt wurden, betrug 0,548 bzw. 0,560 bzw. 0,594. Die einzelnen Ergebnisse sind in den Tabellen 11, 12 und 13 (Kapitel 9) dargestellt.

Zur Ermittlung der Rückgewinnungsrate wurde das Verhältnis des Mittelwertes des gelösten Blutes in SDS zum Mittelwert der Messungen der Lösung des Humanblutes vom Plättchen bestimmt. Zudem wurde auch das Verhältnis des Mittelwertes des gelösten Blutes in SDS zum Mittelwert der Lösung des Blutes vom Plättchen mit WL-dry Einfluss bestimmt. Die Zusammenfassung der Rückgewinnungsraten in Prozent ist in Tab. 5 dargestellt.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Rückgewinnungsraten der Testanschmutzung [%] (n=18)

Versuchstage	Rückgewinnungsrate Blut auf Plättchen mit SDS [%]	Rückgewinnungsrate Blut auf Plättchen mit SDS [%] + WL-dry
1	106	102
2	98	96
3	99	102
<b>Mittelwert</b>	101	100

Es zeigen sich Rückgewinnungsraten für das Plättchen ohne WL-dry-Einfluss von 98 - 106 %, im arithmetischen Mittel von 101 %. Bei den Plättchen mit WL-dry-Einfluss zwischen 96 - 102 %, im arithmetischen Mittel von 100 %. Aus den erhaltenen Werten ist ersichtlich, dass eine vollständige Rückgewinnung von mindestens 96 % der eingesetzten Menge der Anschmutzung gewährleistet ist.

### Versuch 5 zur Hämoglobin-Detektion mittels Peroxidasetest

In einem ersten Versuch wurde zur Voruntersuchung und zum Ausschluss eventueller Kreuzreaktionen, mit 10 Teststäbchen des Combur 5 Test<sup>®</sup> HC in Doppelbestimmung, eine Reaktion der Peroxidase mit WL-clean, 20%iger SDS-Lösung, 1%iger SDS-Lösung und einer Suspension aus je 3 ml 1%iger SDS-Lösung mit 3 ml WL-clean untersucht. Die Ergebnisse wurden nach Herstellerangaben optisch bestimmt.

Es lässt sich auf den Teststäbchen lediglich auf dem Proteinfeld bei Testung der WL-clean-Suspension eine Reaktion erkennen, ansonsten ist keine Reaktion auf den Feldern für Erythrozyten und Hämoglobin zu beobachten. Zudem zeigt der Test eine schwach positive Reaktion für Protein in der 1:2 Verdünnung mit einer 1%igen SDS-Lösung. Dies zeigt zum einen, dass keine eventuellen Kreuzreaktionen zwischen WL-clean, SDS-Lösung und der Peroxidasereaktion vorliegen, belegt aber zum anderen das mögliche Vorhandensein von Proteinen in der WL-clean-Suspension. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 (Kapitel 9) dargestellt.

In einem zweiten Versuch wurde mithilfe einer Verdünnungsreihe aus Humanblut und SDS-Lösung mit der modifizierten OPA-Methode die Nachweisgrenze des HemoCheck-S-Tests bestimmt. Die Durchführung des unter Punkt 4.2.2 und 4.2.3

(Versuch 5) beschriebenen Verfahrens erfolgte insgesamt vier Mal an verschiedenen Tagen (n=28).

Es wurden Blut- zu SDS-Verdünnungen in den Verhältnissen 1:10 bis 1:100 hergestellt. Da sich diejenige Verdünnung, bei der der HemoCheck-S-Test gerade noch positiv reagiert, zwischen 1:40 und 1:70 nach der ersten Testung befand, wurde auf Verdünnungen von 1:90 und 1:100 in den folgenden Versuchsreihen verzichtet. Die niedrigste Extinktion, bei der der HemoCheck-S-Test in den Versuchsreihen 1 - 4 gerade noch positiv reagiert, liegt bei einer Verdünnung von Blut zu SDS von 1:50 bei 0,051; die höchste Extinktion, bei der keine Reaktion mehr festzustellen ist, liegt einer Verdünnung von 1:70 entsprechend einer Extinktion von 0,048. Bei allen Extinktionen über 0,051 zeigte der Test eine positive, bei allen gemessenen Extinktionen unter 0,048 eine negative Reaktion. Somit liegt die Nachweisgrenze des Tests näherungsweise bei einer Extinktion von 0,051, bis zu der mittels des Tests Blut und Blutrückstände nachgewiesen werden können.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 15, 16, 17 und 18 (Kapitel 9) dargestellt.

### Versuch 6 zur Ermittlung der BSA-Äquivalentgeraden

Zur Ermittlung der BSA-Äquivalentgeraden, deren Gleichung als Berechnungsgrundlage zur Bestimmung eventueller Restproteinmengen dient, wurde ein Versuch in zwei Einzelversuchsreihen, wie unter Punkt 4.2.1 und 4.2.3 beschrieben, durchgeführt. Zur Minderung eines eventuellen Fehlers wurde aus den beiden erhaltenen Tagesextinktionen das arithmetische Mittel gebildet (Tabelle 6) und daraus eine Gerade erstellt (Abb.18). Die Ergebnisse der Einzelversuchsreihen sind in den Tabellen 19 und 20 (Kapitel 9) dargestellt.

Tabelle 6: Arithmetisches Mittel der Einzelextinktionen zur Bestimmung der BSA-Äquivalentgeraden mit der modifizierten OPA-Methode (n=8)

BSA Messung	Menge (µl)	Extinktion 1	Extinktion 2	Mittelwert
1	50	0,008	0,006	0,007
2	100	0,027	0,018	0,023
3	200	0,068	0,037	0,052
4	300	0,079	0,067	0,073
5	500	0,125	0,123	0,124
6	1000	0,264	0,254	0,259
7	2000	0,529	0,525	0,527
8	4000	1,003	1,067	1,035

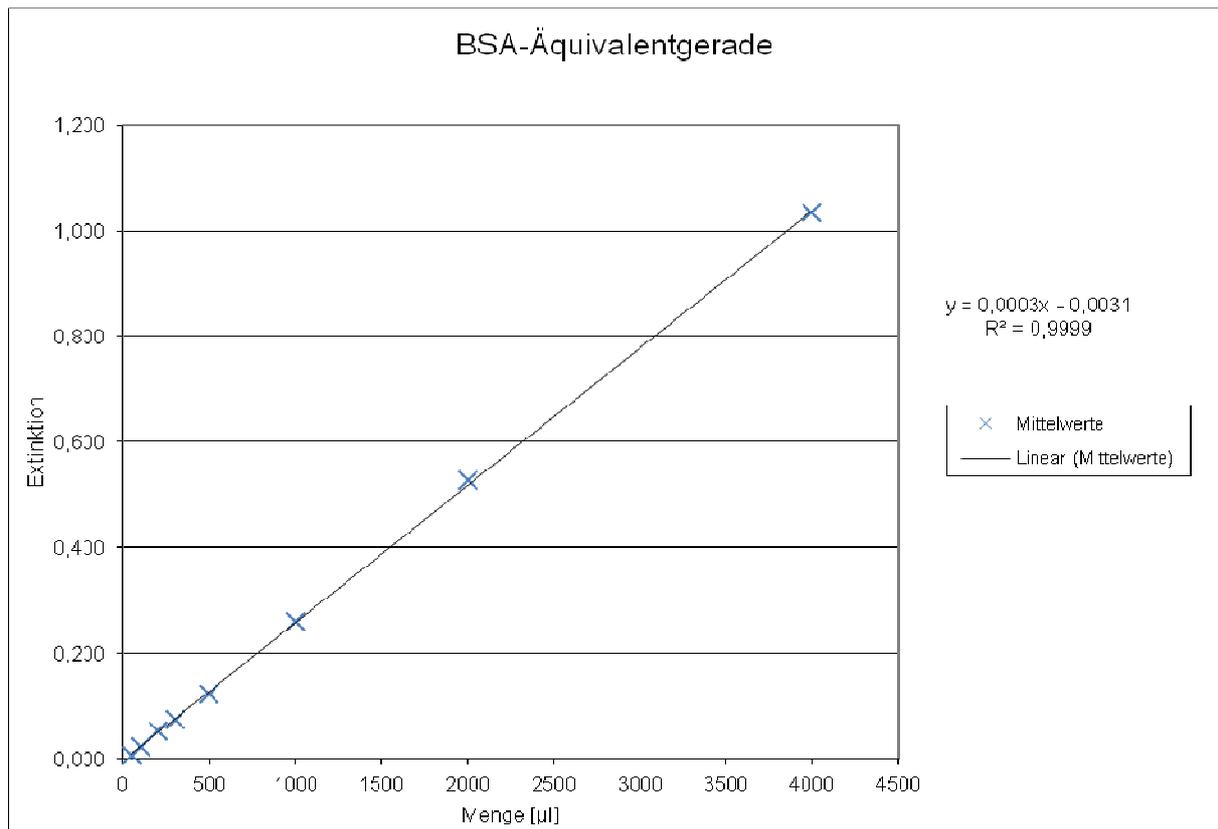


Abb.18: Grafische Bestimmung der BSA-Äquivalentgeraden aus dem arithmetischen Mittel der Extinktionen der beiden Einzelversuchsreihen (n=8)

Die so bestimmte BSA-Äquivalentgerade besitzt die Gleichung "y = 0,0003x - 0,0031". Diese wird nach x aufgelöst und dient als Berechnungsgrundlage eventuell gemessener Extinktionen in den Versuchen zur Reinigungsleistung des WL-clean-Systems. Das Ergebnis wird in „µg Protein in Bezug auf das BSA-Äquivalent" ausgedrückt.

## 5.2. Versuche zur Reinigungsleistung durch Proteinbestimmung

Folgend sind die Ergebnisse aus den Testreihen zur Reinigungsleistung des WL-clean-Systems mit etablierter Methode dargestellt.

### Leerversuch ohne Kontamination

Vor der Testung mittels der Anschmutzung durch Humanblut wurde der Versuchsablauf an je sechs Spraywasser- und Sprayluftkanälen ohne Anschmutzung, wie unter Punkt 4.2.4 beschrieben, durchgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen

Versuchsreihen sind in den Tabellen 21, 22 und 23 (Kapitel 9) dargestellt. Die jeweilige Menge an gemessenem Protein pro HWS zeigt Abb.19. Diese ergibt sich jeweils aus der Addition der Werte des Spraywasser- und Sprayluftkanales jedes HWS, auf deren einzelne Darstellung aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet wurde.

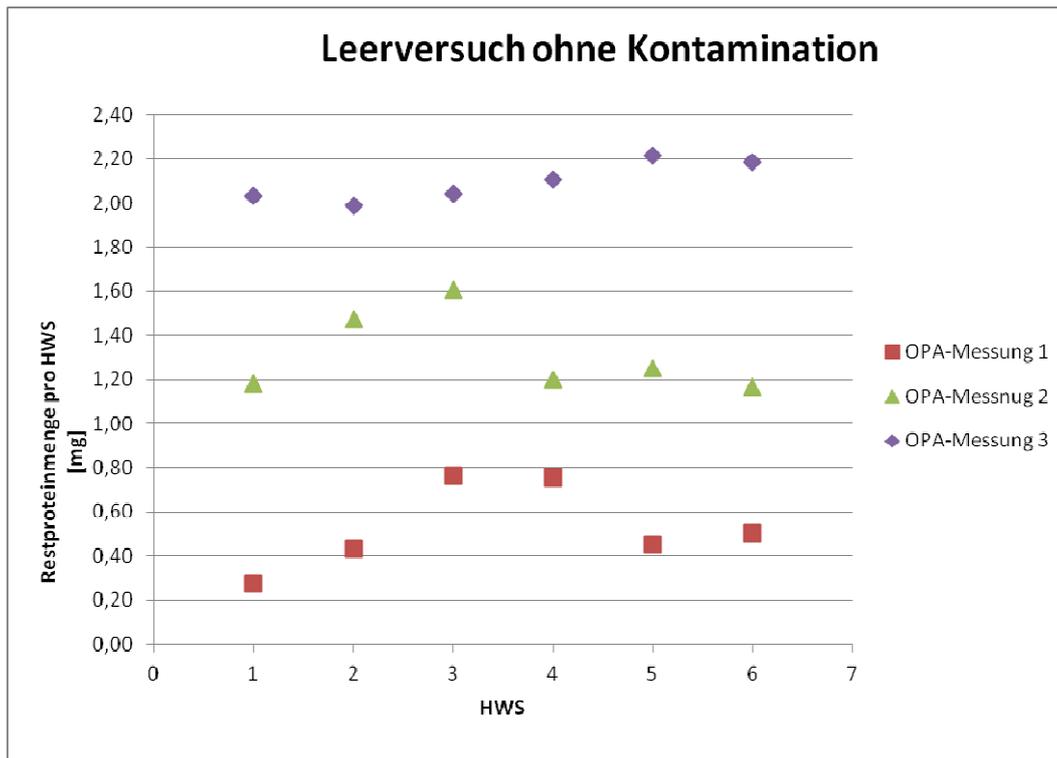


Abb. 19: Ergebnis der Restproteinmessung von 6 HWS ohne Blutkontamination, nach Reinigung mit WL-clean It. Herstellerangaben, bestimmt mit der modifizierten OPA-Methode  
 OPA-Messung 1 = nur Spülung  
 OPA-Messung 2 = Spülung + Extraktion (1h)  
 OPA-Messung 3 = Spülung + Extraktion (1h) + SuperFloss

Aus Abb.19 und den Tabellen 21, 22 und 23 (Kapitel 9) ist ersichtlich, dass bereits bei OPA-Messung 1, bei der lediglich eine Spülung mit SDS-Lösung und eine Extinktionsbestimmung stattfand, Restprotein detektiert wird. Alle gemessenen Werte der Belastungen pro HWS liegen bei OPA-Messung 1 zwischen 0,27 mg und 0,76 mg, der arithmetische Mittelwert liegt bei 0,53 mg BSA-Äquivalent.

Bei OPA-Messung 2, bei der die Kanäle nach der Spülung mit SDS-Lösung zusätzlich für eine Stunde auf dem Schüttler extrahiert wurden, liegen alle

gemessenen Werte zwischen 1,17 mg und 1,61 mg, das arithmetische Mittel bei 1,31 mg BSA-Äquivalent. Bei Messung 3, bei der die Kanäle noch zusätzlich mit SuperFloss durchfädelt wurden, liegen alle Werte zwischen 1,99 mg und 2,22 mg, das arithmetische Mittel bei 2,10 mg BSA-Äquivalent.

Bei den OPA-Messungen 2 und 3 zeigen sich höhere Werte pro HWS als bei Messung 1, die höchsten Werte wurden bei OPA-Messung 3 gemessen. Somit ist laut diesen Ergebnissen nach Messungsmethodik Nr. 3, d.h. einer Spülung, anschließender Extraktion der Lösung für 1 h auf dem Schüttler und danach zusätzlicher Anwendung von zahnärztlichem SuperFloss, die größte Konzentration an Restprotein vorhanden. Die Erhöhung der Werte pro Messung beweist zudem ein ständiges Anwachsen der Konzentration pro Messung in dem gemessenen Eluat in Abhängigkeit der Extraktionsmethode.

### Überprüfung der Reinigungsleistung mit Blutanschmutzung

Zur anschließenden Untersuchung der Reinigungsleistung des WL-clean-Systems wurde der komplette Versuch, wie unter Punkt 4.2.4 beschrieben, an je sieben HWS in insgesamt drei Versuchsreihen durchgeführt. Die Kanäle wurden nach Kontamination mit Blut und Antrocknung (1 h) mit SDS-Lösung gespült und zusätzlich mit SuperFloss durchfädelt. Anschließend wurden Kanäle und SuperFloss auf dem Schüttler extrahiert und das erhaltene Eluat mit der modifizierten OPA-Methode vermessen. Eine Zusammenfassung der Restproteinmengen laut Messung zeigt Abb. 20.

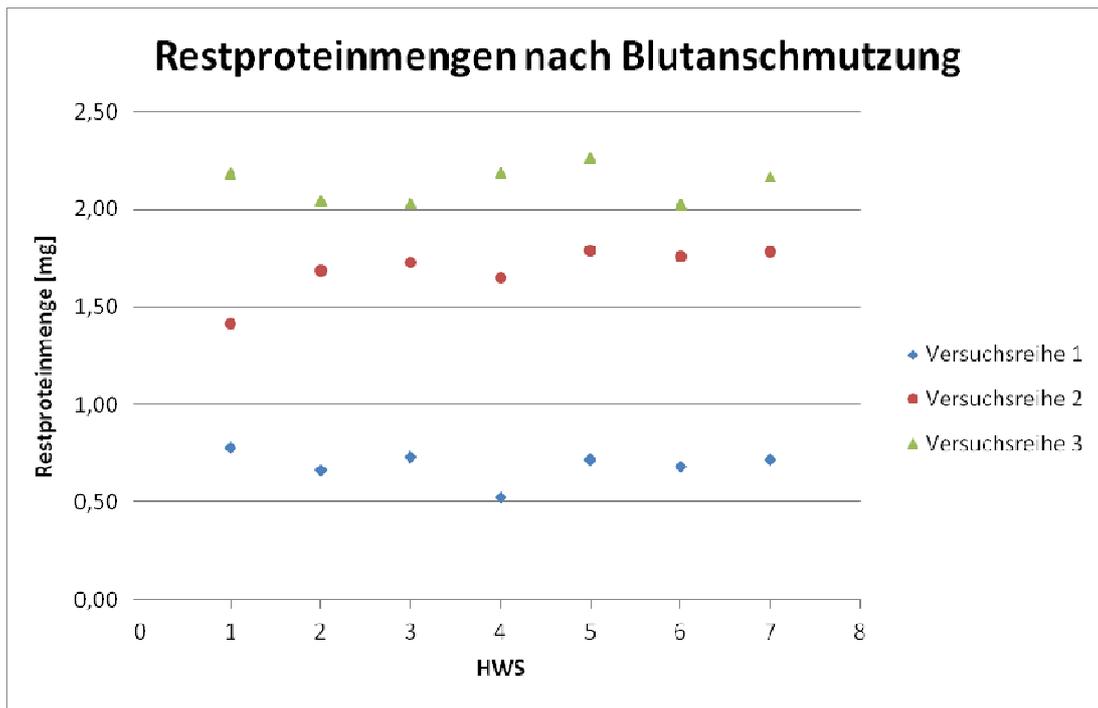


Abb. 20: Restproteinmengen der Versuchsreihen 1, 2 und 3 (jeweils Spülung + Einsatz von SuperFloss), nach Eluation, bestimmt mit der modifizierten OPA Methode (n=7)

In allen drei Versuchsreihen wurden im jeweiligen Eluat Restproteine mithilfe der modifizierten OPA-Methode gemessen. In Versuchsreihe 1 liegen alle gemessenen Werte zwischen 0,52 mg und 0,78 mg, das arithmetische Mittel bei 0,69 mg BSA-Äquivalent. In Versuchsreihe 2 liegen diese zwischen 1,41 mg und 1,79 mg, das arithmetische Mittel liegt bei 1,69 mg BSA-Äquivalent. In Versuchsreihe 3 liegen alle gemessenen Werte zwischen 2,03 mg und 2,06 mg, das arithmetische Mittel liegt bei 2,13 mg BSA-Äquivalent.

In Versuchsreihe 1 waren die gemessenen Werte im Verhältnis zu den Versuchsreihen 2 und 3 geringer. Um zu überprüfen, ob die gemessenen Extinktionen und damit Restproteinmengen nach der Reinigung eventuell durch die Anschmutzung oder das WL-clean hervorgerufen sein könnten, erfolgte die Durchführung eines weiteren Versuchs. Ziel war die Untersuchung des Einflusses der verschiedenen Extraktionsmethoden auf die Restproteinmenge und inwieweit sich die erhaltene Menge Restprotein im Eluat durch verschiedene Extraktionstechniken eventuell weiter steigern ließe. Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen zur Überprüfung der Reinigungsleistung nach Blutanschmutzung sind in den Tabellen 24, 25 und 26 (Kapitel 9) dargestellt.

## Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge

Aufgrund der Ergebnisse zur Überprüfung der Reinigungsleistung des WL-clean-Systems (vgl. 5.2) wurde zusätzlich ein Versuch zur Überprüfung des Einflusses der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge durchgeführt (vgl. 4.2.4). Ziel dessen war die nochmalige Untersuchung, ob verschiedene Extraktionsmethoden einen Einfluss auf die erhaltene Extinktion und somit auf die Proteinmenge haben. Die Tabellen 27, 28 und 29 (Kapitel 9) zeigen die Ergebnisse der Messungen der einzelnen Extraktionsmethoden der Menge pro HWS. Tabelle 7 zeigt als Zusammenfassung die Belastungen der HWS in Abhängigkeit bezüglich der unterschiedlichen Extraktionsmethode.

Tabelle 7: Ergebnisse der Restproteinmengen pro HWS mit verschiedenen Extraktionsmethoden, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode (n=21)

<b>Messung 1</b> (nur spülen) Menge pro HWS [mg]	<b>Messung 2</b> (Spülen 1 h, Extraktion) Menge pro HWS [mg]	<b>Messung 3</b> (Spülen, Extraktion und SuperFloss) Menge pro HWS [mg]
0,52	1,53	1,98
0,35	1,08	2,29
0,61	1,17	2,09
0,66	0,84	2,07
0,41	0,96	2,00
0,44	0,82	2,02
0,84	0,79	2,16
0,38	1,12	2,42
0,45	1,15	1,98
0,51	1,21	2,11
0,75	1,60	2,26
0,71	1,47	1,94
0,51	1,38	1,87
0,67	1,34	2,11
0,39	1,12	1,92
0,45	1,37	1,88
0,46	1,30	1,99
0,68	1,30	2,11
0,37	1,13	2,13
0,50	0,96	2,04
0,59	1,13	2,06
<b>Mittelwert: 0,54</b>	<b>Mittelwert: 1,18</b>	<b>Mittelwert: 2,07</b>

Aus den rückgewonnenen Proteinmengen der HWS pro Messung wird ersichtlich, dass diese in Abhängigkeit der Extraktionsmethode variieren. Messung 1, bei der nur eine Spülung stattfand, zeigte insgesamt die niedrigsten Werte. Alle in dieser Messung erhaltenen Werte liegen zwischen 0,35 mg und 0,84 mg, der arithmetische Mittelwert liegt bei 0,54 mg BSA-Äquivalent.

Bei Messung 2 wurden die Kanäle, wie beschrieben, nach der Spülung mit SDS-Lösung zusätzlich eine Stunde auf dem Schüttler extrahiert; die erhaltenen Werte liegen zwischen 0,79 mg und 1,53 mg, der arithmetische Mittelwert liegt bei 1,18 mg BSA-Äquivalent. Messung 2 zeigt im Vergleich höhere Werte als Messung 1. Alle gemessenen Werte lagen bei Messung 3 zwischen 1,87 mg und 2,42 mg, das arithmetische Mittel liegt bei 2,07 mg BSA-Äquivalent.

Somit ließ sich hier nochmals mehr Restprotein durch die Vermessung mit der modifizierten OPA-Methode nachweisen als bei den Messungen 1 und 2, was auch deren Effektivität untermauert. Die gemessene Menge an Restprotein ließ sich somit, pro Messung und Erweiterungen der Extraktionsmethode, im Mittel um den Faktor 2 im Vergleich zur jeweils vorhergehenden Messung steigern.

#### Auswertung mittels Boxplotdiagramm

Abb. 21 zeigt die statistische Auswertung des Überprüfungsversuchs zur Ergebnissicherung (5.2) mithilfe einer Boxplot Darstellung.

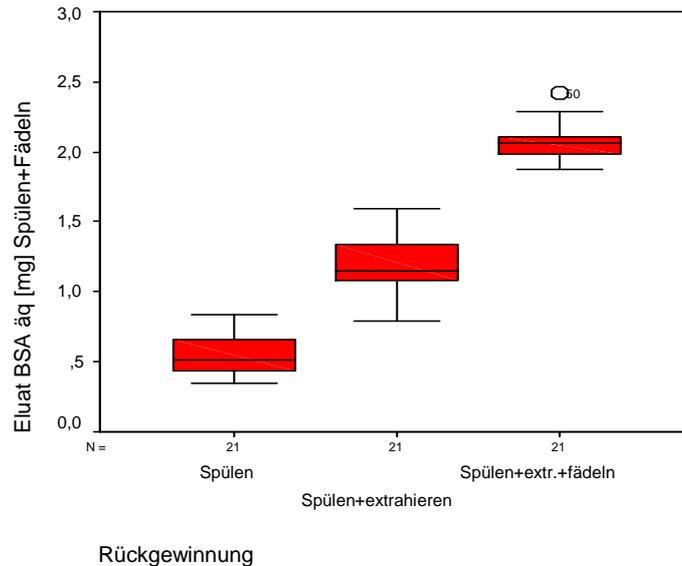


Abb. 21: Boxplot Darstellung des Überprüfungsvorgangs zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge (n=21)  
 Messung 1 = Spülen  
 Messung 2 = Spülen + extrahieren  
 Messung 3 = Spülen + extrahieren + durchfädeln

Die Werte der Messungen 1 und 3 weisen eine geringe Streuung auf, mit lediglich einem Ausreißer in Messung 3, die Werte für Messung 2 zeigen eine größere Streuung. Der Median bei Messung 1 (in der nur gespült wurde) liegt bei 0,51 mg BSA-Äquivalent. Bei Messung 2, in der die Proben zusätzlich für eine Stunde bei 50 rpm auf dem Schüttler extrahiert wurden, liegt dieser bei 1,15 mg BSA-Äquivalent und in Messung 3, bei der die Spraywasser- und Sprayluftkanäle zusätzlich zur Extraktion von einer Stunde auf dem Schüttler mit SuperFloss durchfädelt wurden, bei 2,06 mg BSA-Äquivalent. Somit ist dieser bei Messung 3 am höchsten, was die Effektivität der angewandten Methodik bekräftigt.

Zusätzlich erfolgte zum Nachweis eventueller vorhandener Hämoglobinreste die Untersuchung des gemessenen Eluats mit dem HemoCheck-S-Test. Dieser war bei allen untersuchten und vermessenen Proben negativ, es konnte also kein Hämoglobin und somit indirekt keine Blutbestandteile nachgewiesen werden.

## **6. Diskussion**

### **6.1 Rechtliche Rahmenbedingungen**

Sowohl die KRINKO-Empfehlung zur "Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene" [1] als auch die KRINKO-/BfArM- Empfehlung zu "Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten" [3] geben maschinellen Reinigungsverfahren aufgrund der standardisierten Bedingungen und der besseren Reproduzierbarkeit den Vorzug, schließen jedoch die Anwendung manueller Verfahren bis zur Risikogruppe "semikritisch B" nicht aus. Diese können zur Anwendung kommen, sofern durch Gutachten, validierte Verfahrensweisen sowie Ablaufprotokolle eine Äquivalenz zum maschinellen Verfahren sichergestellt ist.

Daher wurde in dieser Arbeit untersucht, ob es möglich ist, eine reproduzierbare manuelle Reinigung mit einem standardisierten Verfahren durchzuführen. Zudem wurde untersucht, ob das Reinigungsmittel WL-clean den gewünschten Reinigungserfolg, wie vom Hersteller angegeben, erzielt.

### **6.2 Verwendete Untersuchungsmethoden zur Proteinbestimmung**

Die Kontaminationen der Instrumente in einer zahnärztlichen Praxis sind durch vielfältige Weise mit organischen, anorganischen und chemischen Verunreinigungen möglich. Hierzu zählen Blut und dessen Bestandteile, wie auch Öl, Bohrabrieb und Muzin, wobei zu den organischen Bestandteilen hauptsächlich Proteinrückstände zählen [6, 11, 12]. ALFA et al. [34] gelang mithilfe einer Untersuchung an englumigen, bereits aufbereiteten Endoskopen der Nachweis insbesondere von Blut-, Protein- und Bakterienrückständen. Eine einzige Testmethode zum Nachweis aller verschiedenen Kontaminationen in der (zahn-) ärztlichen Praxis existiert zum derzeitigen Zeitpunkt nicht. Die DIN EN ISO 15883 fordert mindestens eine halb-quantitative proteinanalytische Prüfmethode zur Untersuchung von Restverschmutzungen und verweist in ihrer Anlage auf die Ninhydrin-Methode, die Biuret-Methode oder die OPA-Methode [76].

Bei der qualitativen Ninhydrin-Methode handelt es sich um einen Wischtest mithilfe von Wattestäbchen und einem Färbemittel, der sich lediglich für äußere Oberflächen,

jedoch nicht für englumige Kanäle eignet. Nicht-hydrolysierte Proteine werden zudem nicht angefärbt. Die Farbreaktion ist sowohl pH- als auch proteinabhängig, wodurch statt eines Farbumschlages oftmals lediglich das Vorhandensein von leicht bräunlichen oder gelblichen Verfärbungen zu beobachten ist. Dies führt evtl. zu falsch negativen Ergebnissen [72]. Aufgrund dieser Probleme wurde die Ninhydrin-Methode für die vorliegende Untersuchung nicht verwendet.

Bei der modifizierten halb-quantitativen Biuret-Methode erfolgt die Proteinmessung mittels der Biuret-Reaktion. Nach der Elution der Testlösung mit 1%iger SDS-Lösung folgt eine Zugabe von 1 ml des erhaltenen Eluats in eine  $\text{Cu}^{2+}$ -Lösung. Nach Zugabe zweier weiterer Reagenzien kommt es bei Anwesenheit von Proteinen zur Bildung eines rotvioletten Komplexes. Aufgrund des Farbumschlages kann der Proteingehalt halb-quantitativ bestimmt [50] bzw. gemessen werden [51]. Die Nachweisgrenze der Biuret-Methode liegt bei 1  $\mu\text{l}$  Blut / ml Testlösung [48].

Im Vergleich der OPA- zur Biuret-Methode hinsichtlich Sensivität und Spezifität zeigen sich Vorteile der OPA-Methode [72]. Jedoch ist diese im Vergleich aufwendiger in der Durchführung als die beschriebene Biuret-Methode, wird aber den Ansprüchen einer wissenschaftlichen Untersuchung in höherem Maße gerecht. Durch die OPA-Methode gelingt der Nachweis freier  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -terminaler Aminogruppen [56]. Bei den durchgeführten Versuchen wurden mit Humanblut kontaminierte Spraywasser- und Sprayluftkanäle zahnärztlicher HWS mit WL-clean nach Herstellerangaben gereinigt und anschließend untersucht. Hierfür wurden die Kanäle ausgebaut und mit SDS-Lösung durchspült. In einem weiteren Versuch zusätzlich für eine Stunde auf dem Schüttler in SDS-Lösung extrahiert und in einem weiteren Versuch zusätzlich nach der Extraktion auf dem Schüttler mechanisch mit SuperFloss gereinigt. In der Kombination von Spülung und Durchfädung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle mithilfe von SuperFloss liegt die Wiederfindungsrate der Proteine aus der Kontamination im Schnitt bei über 90 % [68, 77].

Zusätzlich zur Überprüfung mit der modifizierten OPA-Methode wurde der Peroxidasetest zum Nachweis von Hämoglobin und damit indirekt von Blut oder dessen Bestandteilen durchgeführt, um in Kombination der beiden Prüfmethode einen möglichst großen Bereich der relevanten Kontaminationen untersuchen zu können.

Bei beiden Versuchsreihen mit Blutanschmutzung (siehe 5.2) werden Proteine mithilfe der modifizierten OPA-Methode nachgewiesen. Die Höhe der Werte zeigt, dass die Methode bei welcher die Spraywasser- und Sprayluftkanäle lediglich mit SDS-Lösung gespült wurden die niedrigsten Werte liefert. Da durch diese Methode offensichtlich nicht alle eventuell noch vorhandenen Restproteine erfasst werden können, wird sie als die am wenigsten effektivste angesehen. Dies zeigt auch die Untersuchung von PAUL [32].

Effektiver, im Schnitt mindestens um den Faktor zwei, war die Methode des Spülens der Spraywasser- und Sprayluftkanäle mit SDS-Lösung und der zusätzlichen Extraktion für eine Stunde auf dem Schüttler um eventuell an den Wänden vorhandenes Restprotein zu lösen.

In einem weiteren Versuchsschritt sollten, nach der Extraktion der Spraywasser- und Sprayluftkanäle auf dem Schüttler, eventuelle Proteinrückstände zusätzlich mechanisch durch zahnärztliches SuperFloss gelöst werden. Diese Methode erzielte die höchsten Werte und stellt deshalb die effektivste Art der Probengewinnung zur Untersuchung auf eventuelle Proteinrückstände dar. Zudem bietet sie eine gute Vergleichbarkeit mit vorangegangenen Studien [60, 67, 68, 71].

### **6.3 Auswahl und Beschaffenheit der Probekörper**

Nahezu bei jeder Behandlung in der zahnärztlichen Praxis ist der Einsatz von HWS unverzichtbar. Diese weisen einen komplexen Aufbau sowohl im Inneren als auch auf ihrer Oberfläche auf, wodurch sich zahlreiche Retentionsnischen und Hohlräume für mögliche infektiöse Kontaminationen bieten.

Die HWS werden bereits bei bestimmungsgemäßer Verwendung durch verschiedenste Stoffe und Flüssigkeiten wie Speichel, Blut, Schleim und Bohrabrieb kontaminiert [6, 7, 8, 19, 78]. Zudem entsteht beim Stoppen des Schleifkörpers ein Rücksog, so dass diese potentiell infektiösen Stoffe in die Spraywasser- und Sprayluftkanäle eingesogen werden [4, 79]. KÖHNLEIN und WERNER [4] zeigen dies in ihren Studien an zahnärztlichen HWS und Turbinen. Die Kontamination der Turbinen und HWS erfolgt einerseits bei normaler Benutzung in zahnärztlichen Praxen und andererseits unter Laborbedingungen. Beide Gruppen werden mithilfe der modifizierten OPA-Methode untersucht. Die Ergebnisse zeigen klare Belastungen

der HWS sowie der Turbinen durch den entstehenden Rücksog beim Abstoppen der Instrumente. Zudem zeigt sich, dass die Höhe der Belastung nicht von der Betriebsdauer, sondern der Zahl der Inbetriebnahmen des Gerätes abhängig ist. Auch TOOMARIAN et al. [80] kommen zu dem Ergebnis, dass der beim Abstoppen entstehende Rücksog ursächlich für die Proteinbelastungen der untersuchten Instrumente ist. Sie zeigen auch, dass durch speziell konzipierte Mechanismen zur Verhinderung des Rücksoges die Belastung deutlich reduziert werden kann, diese sind jedoch derzeit in den meisten zahnärztlichen Praxen noch nicht im Einsatz.

### Spraywasser- und Sprayluftkanäle

Die in dieser Untersuchung eingesetzten HWS kamen bereits auch in früheren Laborstudien zum Einsatz. Da ein ungewollter Flüssigkeitsaustritt aus den HWS von vornherein ausgeschlossen werden sollte, wurden sämtliche Dichtungen vor Versuchsbeginn getauscht. SCHÖNHERR belegt, dass durch den Austausch der Dichtungen kein ungewollter Austritt von Flüssigkeit aus den HWS entsteht [68]. Bereits durchgeführte Untersuchungen weisen nach, dass in neuen Kanälen keine mit der OPA-Lösung reagierenden organischen Substanzen vorhanden sind [64, 68]. Zusätzlich wird durch die Einbringung der Testanschmutzung mittels einer Einwegspritze mit Endodontiekanüle (Endoneedle Dr. J. Buquet) ein ungewollter Kontakt des Blutes mit jeglichen Teilen vermieden. Hierzu zählt z.B. der Kunststoffverschluss des Lichtleiters aus in der Zahnmedizin verwendeten Komposit, wodurch eine Verfälschung der Ergebnisse denkbar wäre.

Leider bringt die eingesetzte Methode der Untersuchung der HWS einige Nachteile mit sich. Hierzu zählt, dass die HWS zur weiteren Untersuchung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle beinahe vollständig zerlegt und das Kanalsystem irreparabel zerstört werden muss. Wegen der irreparablen Zerstörung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle nach einer Messung ist somit systematisch nicht nachweisbar, dass bei neuen Kanälen generell keine durch die modifizierte OPA-Methode nachweisbaren Stoffe vorhanden sind. Denn es können eben diese untersuchten Kanäle für weitere Messungen nicht mehr verwendet werden.

Da eine große Anzahl von Spraywasser- und Sprayluftkanälen in Untersuchungen standardisierbar und reproduzierbar keine Auffälligkeiten bezüglich der durch die modifizierte OPA-Methode nachzuweisenden Stoffe zeigen, kann angenommen

werden, dass unter den gleichen Bedingungen und mit gleichen Materialien und Verfahren produzierte neue Spraywasser- und Sprayluftkanäle auch keine Reaktionen zeigen [32, 67, 68].

Ein weiterer Nachteil der Methode ist die Tatsache, dass das HWS zwar nach dem Einbau eines neuen Spraykanalsegments wieder vollkommen einsatzfähig ist, jedoch die Methode alleine aus wirtschaftlichen Gründen in der zahnärztlichen Praxis so nicht anwendbar ist. Für die vorliegende Laboruntersuchung erwies sie sich als praktikabel.

#### **6.4 Kontamination der Probekörper**

Gegenwärtig existiert keine einheitliche, international vereinbarte und anerkannte Testanschmutzung für die Prüfung von Reinigungsleistungen. Jedoch werden grundsätzlich praxisnahe Testanschmutzungen gefordert [36, 81]. Die Anforderungen, die an eine Testanschmutzung zur Prüfung gestellt werden, sind vielfältig. Sie sollen realistisch sein und weder eine zu leichte noch eine zu schwere Entfernbare aufweisen. Auch soll meist eine im Alltag realitätsnahe Konzentration verwendet und die Möglichkeit des Nachweises von kleinsten Restmengen nach erfolgter Reinigung geboten werden [36]. DE BRUJIN et al. [36] verwenden sieben verschiedene Anschmutzungen, teilweise auch gänzlich ohne Blutkomponenten. Dies führt zu unterschiedlichen Anforderungen an die Reinigung. Da jedoch Bestandteile und Proteinfragmente von Blut noch bis in kleinste Mengen nachweisbar sind, bildet dieses meist den Grundbaustein von möglichen Testanschmutzungen. Aber auch die Blutgerinnung, die es dem Menschen normalerweise ermöglicht bei Verletzungen einen größeren Blutverlust zu vermeiden, ist von großer Wichtigkeit. Die Fähigkeit der Thrombozyten, mithilfe eines mehrstufigen komplexen Prozesses aus löslichem Fibrin ein unlösliches strukturiertes Fibrinnetz zu bilden, ist für die Qualität einer Anschmutzung entscheidend, da sich dieser Prozess auch an Instrumentenoberflächen, wie z.B. Edelstahl, beobachten lässt. FRÜH et al. [81] beweisen, dass aufgrund der Bildung eines wasserunlöslichen Komplexes die Reinigung durch die vom Fibrin verursachte mechanische Stabilität erschwert wird. Der Vergleich der Ablösungszeiten wasserlöslicher Proteine in jeweils einer definierten Menge geronnenem und

getrocknetem Blut und getrocknetem defibrinierten Blut von einer Edelstahloberfläche ergab, dass die benötigte Zeit zum Ablösen von wasserlöslichen Proteinen in geronnenem und getrockneten Blut deutlich größer ist [44].

Da also geronnenes und getrocknetes Blut sehr schwer entfernt werden kann gibt PFEIFER [44] als Empfehlung für eine Testanschmutzung zur Prüfung von Reinigungsleistungen die Verwendung von Nativblut an. Anschmutzungen aus Muzin, Eigelb, Erythrozythenkonzentrat, Grießbrei oder Rinderalbumin weisen nicht die geforderten Eigenschaften von Nativblut auf, da mit diesen eine Gerinnung nicht adäquat simuliert werden kann. Auch weisen KRÜGER et al. [82] nicht nur auf die Bedeutung von Nativblut in einer Anschmutzung hin, sondern zeigen auch, dass die Anwesenheit von Schleim und Fetten zu höheren bzw. anderen Anforderungen an den Reinigungsprozess führt. FENGLER et al. [72] empfehlen die Entwicklung einer Anschmutzung auf Blut-Schleim-Lipid-Basis, was jedoch noch nicht umgesetzt wurde.

In Bezug auf die Entfernbarekeit einer Testanschmutzung zeigt CRUTWELL [83], dass reines Eigelb als Anschmutzung gute Widerstandseigenschaften gegen chemische Reinigungsmethoden aufweist. Auch sind Testanschmutzungen auf Blutbasis nach DIN EN ISO/TS 15883-5 leichter zu entfernen als Anschmutzungen basierend auf der Edinburgh Prüfanschmutzung nach MILES et al. [84], deren Hauptbestandteile Mucin, Pferdeblut und Eigelb sind.

In der vorliegenden Untersuchung wurde gerinnungsfähiges Humanblut als Testanschmutzung gewählt, um eine möglichst praxisnahe und realistische Verschmutzung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle zu gewährleisten. Überdies ist damit eine gute Vergleichbarkeit mit bereits durchgeführten Studien gegeben [60, 67, 68].

## **6.5 Antrocknungszeit der Testanschmutzung**

Für die erfolgreiche Simulation einer möglichst praxisnahen Anschmutzung ist nicht nur die Zusammensetzung, sondern auch die Antrocknungszeit entscheidend. Diese entsteht in der Praxis aufgrund der unterschiedlichen Lagerungszeiten der HWS bis zur Reinigung bzw. Aufbereitung. Hierzu lassen sich zahlreiche Angaben in der Literatur finden, diese reichen von 10 min bzw. 30 min [85] über 1 h [86] bis hin zu

5 h [15]. In Anlehnung an die Untersuchungen von RAAB [87], SCHÖNHERR [68] und RADIMERSKI [60] wurde eine Antrocknungszeit von einer Stunde gewählt, um dem täglichen Praxisbetrieb am ehesten gerecht zu werden und die Problematik der Blutgerinnung mit einzubeziehen.

## **6.6 Rückgewinnung und Wiederfindung der Testanschmutzung**

Damit nach der erfolgten Reinigung eventuell vorhandene Restkontaminationen der Spraywasser- und Sprayluftkanäle festgestellt werden können, muss die Möglichkeit der Elution und Wiederfindung dieser Restkontaminationen mittels der eingesetzten Methode gegeben sein. So sollte auch eine kleinste Menge an Restproteinen wiedergefunden werden können. FENGLER [22] fordert eine mindestens 90%ige Wiederfindungsrate zur Erreichung aussagekräftiger Ergebnisse. MICHELS [88] fordert eine Wiederfindung über 80% optimalerweise über 90%, sofern die Möglichkeit gegeben ist. Die Elution mit einem definiertem Volumen SDS wird als geeignet angesehen [88]. Jedoch weist MICHELS [88] auch auf die nicht generelle Anwendbarkeit der OPA-Methode hin, da spezielle Kenntnisse in einer entsprechenden Ausbildung erworben werden müssen. In der Untersuchung von DÜRR et al. [89] über die Reinigung von HWS mithilfe eines Reinigungs- und Desinfektionsgerätes liegt die Wiederfindungsrate der modifizierten OPA-Methode bei >85%, jedoch erfolgt hier lediglich die Elution mittels einer Durchspülung von 2 ml SDS-Lösung.

Zur Erfassung möglichst aller eventuell auftretenden Restkontaminationen, nach erfolgter Reinigung, wird in der vorliegenden Untersuchung zusätzlich zur Spülung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle eine mechanische Reinigung mittels SuperFloss durchgeführt. SCHÖNHERR [68] zeigt, dass mit dieser Methode eine Wiederfindungsrate von bis zu 91 % erreicht werden kann, somit ist diese Methode zur Probengewinnung als geeignet anzusehen. Zudem ist gerade eine Wiederfindungsrate > 90 % bei extrem geringen Proteinrückständen mehr von Bedeutung als bei größeren [88].

Die in dieser Arbeit ermittelte Wiederfindungsrate liegt in den durchgeführten Versuchen im arithmetischen Mittel bei 100 %, bzw. 101 %. Die Tatsache, dass in einigen Versuchen Wiederfindungsraten über 100 % auftreten, könnte durch

minimalste proteinhaltige Verunreinigungen oder Schwankungen in der Methode begünstigt gewesen sein. Dennoch besteht mit der angewandten Methode die Möglichkeit der Wiederfindung der gesamten eingesetzten Anschmutzungsmenge und damit auch der Nachweis eventuell vorhandener Restkontaminationen nach der Reinigung.

## **6.7 Versuche zur Standardisierung der Methode**

Um die Methode zu standardisieren müssen alle Einzelkomponenten und Verfahren auf ihre Genauigkeit und Reproduzierbarkeit hin untersucht werden. In der vorliegenden Untersuchung musste deshalb die Menge an Reinigungsmittel, die von der WL-clean Druckgasflasche abgegeben wurde bestimmt und auf ihre Konstanz hin untersucht werden. Die Prüfung zur Konstanz der Austrittsmenge erfolgte auch bei dem für die Trocknung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle verwendeten WL-dry. Zusätzlich musste die Rückgewinnungsrate der eingesetzten Anschmutzung bestimmt werden um zu gewährleisten, dass die eingesetzte Anschmutzungsmenge mit der Methode wieder rückgewonnen werden kann. Außerdem sollte nachgewiesen werden, dass keinerlei Reaktionen zwischen den Komponenten der Peroxidasereaktion und WL-clean bestehen, durch welche das Testergebnis verfälscht werden könnte.

Der Versuch zur Austrittsmenge des WL-clean-Druckgassystems fand an zwei neuen Flaschen statt und zeigt relativ stabile Werte mit einer Standardabweichung von 3,17 % bzw. 3,07 % in den ersten 15 Wiederholungen. Hierbei wurde bei einer vorgegebenen Betätigungsdauer je das Austrittsvolumen des Liquids aus der Flasche gemessen. Die geringen Abweichungen wurden durch geringe zeitliche Differenzen in der Betätigungszeit des Auslösers hervorgerufen. Dies ist der manuellen Ausführung geschuldet. Da jedoch größtmögliche Nähe zur täglichen Praxis angestrebt wurde, um zu untersuchen, ob trotz manueller Reinigung eine ausreichende Sauberkeit der Instrumente gewährleistet werden kann, sind diese Schwankungen in der Versuchsausführung tolerabel. Bei der kompletten Leerung einer Flasche WL-clean in 172 Einzelmessungen bestätigten sich diese relativ geringen Abweichungen nicht. Es zeigte sich ab Messung Nr. 106 eine abnehmende Austrittsmenge an WL-clean. Dies könnte, da es sich um ein druckgasbetriebenes

System handelt, durch das kleiner werdende Gasvolumen in der Flasche hervorgerufen werden. Aufgrund der abnehmenden Menge an WL-clean ist somit nicht sicher gewährleistet, dass bei einer Flasche, welche über 106-mal betätigt wird, noch eine ausreichende Menge für die Reinigung abgegeben wird.

Die Untersuchungen zum WL-dry Druckgassystem zeigen relativ konstante Werte um einen Mittelwert von 1117 ml bzw. 1107 ml und eine Standardabweichung von 4,5 % bzw. 5,5 %, wobei etwaige Abweichungen hier ebenfalls vermutlich der manuellen Ausführung des Versuchs geschuldet waren. Für die Gewährleistung einer ausreichenden Reinigung sind diese aber aufgrund der weiteren Versuchsergebnisse tolerabel.

Um zu gewährleisten, dass die eingesetzte Anschmutzungsmenge mit der eingesetzten Methode wieder rückgewonnen werden kann wurde eine definierte Menge Blut auf Metallplättchen aufgebracht und die Rückgewinnung mithilfe einer SDS-Lösung untersucht. Es zeigen sich bei dem durchgeführten Versuch zur Blutrückgewinnung teilweise Rückgewinnungsraten von über 100 %, welche durch Messungenauigkeiten verursacht worden sein könnten. Dennoch zeigt sich in allen Versuchen eine Rückgewinnung der eingesetzten Anschmutzungsmenge von mindestens 96 %.

Um eine Verfälschung von Messergebnissen auszuschließen solle in einer weiteren Untersuchung gezeigt werden, dass es bei der Verwendung eines Peroxidasetests mit dem WL-clean Reagenz zu keiner Reaktion der beiden Komponenten kommt. Da im Leerversuch weder der Combur 5 Test<sup>®</sup> HC noch der HemoCheck-S-Test sensibel auf Hämoglobin oder dessen Bestandteile im WL-clean-Liquid reagieren, ist keine Interaktion mit Substanzen vorhanden, durch welche eventuell die erhaltenen Versuchsergebnisse verfälscht worden wären. Zudem stellt ein Peroxidasetest ein leicht und schnell anzuwendendes Verfahren zum Nachweis von Blut bzw. dessen Bestandteilen dar. Im Vergleich hierzu ist die modifizierte OPA-Methode wesentlich komplizierter und aufwendiger in der Anwendung. Im durchgeführten Versuch zur Standardisierung der Nachweisgrenze gemessen mit der modifizierten OPA-Methode zeigt er sich noch bis zu einer Extinktion von 0,051 sensibel. Bis zu dieser Grenze des Tests können noch Blut und Blutrückstände nachgewiesen werden.

## 6.8 Diskussion der Ergebnisse

Im ersten Versuch erfolgte die Untersuchung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle ohne eine Kontamination mit Humanblut, aber nach Reinigung mit WL-clean. Die Werte für diesen Leerversuch (siehe 5.2) weisen für die OPA-Messung 1, bei der lediglich eine Spülung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle stattfand, Proteinmengen mit einem arithmetischen Mittel von 0,53 mg BSA-Äquivalent auf. Es wird somit bereits in der ersten Messung, ohne den Einsatz der Anschmutzung, Restprotein durch die OPA-Messung nachgewiesen. Die OPA-Messung 2 zeigt Werte im arithmetischen Mittel bei 1,31 mg BSA-Äquivalent und damit eine um den Faktor 2,5 höheres Ergebnis als in Messung 1. Der Unterschied der Versuchsreihen liegt in der zusätzlichen Extraktion der Kanäle auf dem Schüttler. In OPA-Messung 3 liegen die erhaltenen Werte im arithmetischen Mittel bei 2,10 mg BSA-Äquivalent, was im Vergleich zu OPA-Messung 1 eine um den Faktor 4 und im Vergleich zu OPA-Messung 2 eine um den Faktor 1,6 höhere Messung zeigt. Der Unterschied der Versuchsreihen liegt im zusätzlichen Durchfädeln der Kanäle mit zahnärztlichem SuperFloss. In den weiteren Versuchsreihen steigt durch die zusätzliche Extraktion auf dem Schüttler bzw. die zusätzliche mechanische Reinigung von Proteinresten aus den Spraywasser- und Sprayluftkanälen durch SuperFloss der Wert kontinuierlich im arithmetischen Mittel von 1,31 mg BSA-Äquivalent bis 2,10 mg BSA-Äquivalent an. Die Methode des zusätzlichen Einsatzes von zahnärztlichem SuperFloss ist die effektivste und zeigt die höchsten Werte.

Dieses Bild setzt sich auch in den Versuchen mit Blutanschmutzung fort, auch hier liegen die Werte bei OPA-Messung 1 im arithmetischen Mittel bei 0,69 mg BSA-Äquivalent. Die Werte für OPA-Messung 2 liegen im arithmetischen Mittel bei 1,69 mg BSA-Äquivalent. Es ergibt sich somit eine Steigerung der gemessenen Werte um den Faktor 2,5, bedingt durch die aufwendigere Extraktionsmethode. Die Werte der OPA-Messung 3 im arithmetischen Mittel bei 2,13 mg BSA-Äquivalent, es ergibt sich somit eine Steigerung der gemessenen Werte durch den zusätzlichen Einsatz von SuperFloss um den Faktor 3 im Vergleich mit OPA-Messung 1 und um den Faktor 1,3 im Vergleich mit OPA-Messung 2. Auch in den Versuchsreihen mit Einsatz der Anschmutzung ist die zusätzliche mechanische Reinigung mit SuperFloss am effektivsten und zeigt die besten Ergebnisse.

Auch bei der Überprüfung der Werte in einem weiteren Versuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge liegen diese für OPA-Messung 1 im arithmetischen Mittel bei 0,54 mg BSA-Äquivalent. Für OPA-Messung 2 im arithmetischen Mittel bei 1,18 mg BSA-Äquivalent, d.h. eine Steigerung der gemessenen Werte um den Faktor 2. Die Werte für OPA-Messung 3 liegen im arithmetischen Mittel von 2,07 mg BSA-Äquivalent. Es zeigt sich somit eine Steigerung der gemessenen Werte um den Faktor 4 im Vergleich zu OPA-Messung 1 und um den Faktor 2 im Vergleich zu OPA-Messung 2. Auch in diesem Versuch ließen sich mit dem Einsatz von SuperFloss die höchsten Werte erzielen.

Anhand der gemessenen Werte wird deutlich, dass nicht alle eventuell vorhandenen Proteine mit einer reinen Spülung aus den Spraywasser- bzw. Sprayluftkanälen der HWS zu entfernen sind. Auch eine Spülung und Extraktion der Kanäle mit SDS-Lösung erfasst zwar mehr, aber trotzdem nur einen Teil der Proteine. Am meisten Proteine ließen sich in jeder Versuchsreihe durch die zusätzliche mechanische Reinigung der Spraywasser- und Sprayluftkanäle mit zahnärztlichem SuperFloss nachweisen.

Auch die Messung der Spüllösung aus den Spraywasser- und Sprayluftkanälen ohne Anschmutzung zeigt bereits Werte im Mittel zwischen 0,53 und 2,10 mg BSA-Äquivalent, in Abhängigkeit von der verwendeten Extraktionsmethode. Unter Berücksichtigung des durchgeführten Versuchs Nr. 3 zur Validierung der Methode (siehe 5.1), der auch eine Reaktion der WL-clean-Lösung mit dem OPA-Eluat zeigt, kann man schließen, dass ein Teil der Proteine in der Spülflüssigkeit nicht von der in weiteren Versuchen eingesetzten Anschmutzung stammen, da bereits ein Proteinnachweis vorhanden ist, obwohl ohne Testanschmutzung gearbeitet wurde.

Dies bekräftigen die Ergebnisse mit dem Combur 5 Test<sup>®</sup> HC aus Versuch Nr. 5 (siehe 5.1) zur Validierung der Methode. Auch in dieser Untersuchung fand in den durchgeführten Versuchsreihen eine Reaktion der WL-clean-Suspension auf Protein mit dem eingesetzten Combur 5 Test<sup>®</sup> HC statt. Hierfür könnten  $\alpha$ - und  $\epsilon$ - terminale Aminogruppen in den Inhaltsstoffen des Reinigers bzw. deren Reaktionsprodukte, die mit den Nachweistests reagieren, verantwortlich sein. JATZWAK et. al [64] stellen ebenfalls eine Reaktion fest. Auch bei JATZWAK et. al [64] ließen sich die vermutlich dafür verantwortlichen Inhaltsstoffe nicht aus der Lösung extrahieren. Die

Vermessung der Proben erfolgte auch bei JATZWALK et. al [64] mit der modifizierten OPA-Methode.

Die Untersuchungsergebnisse der MAZI-Studie lagen jedoch zum Zeitpunkt des Abschlusses der Ergebnisse dieser Studie noch nicht vor, bestätigen jedoch die erhaltenen Ergebnisse und Schlussfolgerungen.

Aus diesem Grund erfolgte die Anwendung des HemoCheck-S-Tests, welcher das Vorhandensein von Hämoglobin durch seine bläuliche Farbreaktion anzeigt. Dieser Test zum Hämoglobin-Nachweis blieb, im Gegensatz zum Combur 5 Test® HC, durchweg negativ. Damit kann belegt werden, dass sich im untersuchten Eluat kein Hämoglobin oder dessen Bestandteile bis zur untersuchten Messbarkeitsgrenze des Tests befinden. Zum anderen wird die Vermutung bekräftigt, dass die detektierten Proteinbelastungen der Versuche mithilfe der modifizierten OPA-Methode nicht durch die eingesetzte Anschmutzung verursacht werden.

## **6.9 Vergleichsmessungen**

Zur Wirksamkeit und Validierung der maschinellen Aufbereitung von HWS gibt es zahlreiche Untersuchungen. So zeigte RADIMERSKI [60] in einer Studie die Wirksamkeit des "DAC Universal Gerätes". Hierbei wurden die Spraywasser- und Sprayluftkanäle von HWS mit einer Mischung aus Blut und Aqua dest. kontaminiert und anschließend im "DAC Universal Gerät" bei 134 °C aufbereitet. Dieses umfasste eine Reinigung von außen und innen mit kalter und heißer Reinigungslösung, eine Dampfdesinfektion bei 134 °C und eine Trocknung der Instrumente. Anschließend erfolgte die Untersuchung der Restverschmutzung der Kanäle mithilfe der modifizierten OPA-Methode. Als Ergebnis konnte gezeigt werden, dass das "DAC Universal Gerät" sehr gute Reinigungsergebnisse liefert. SCHÖNHERR [68] fand in ihrer vergleichenden Untersuchung zum KaVo-Lifetime Gerät und dem Sirona-Hygiene-Center heraus, dass der Reinigungserfolg geräteabhängig ist, denn das KaVo-Lifetime Gerät lieferte bessere Reinigungsergebnisse als das Sirona-Hygiene-Center. Somit kann nicht davon ausgegangen werden, dass durch jedes Reinigungsgerät gleich gute Ergebnisse erzielt werden, geschweige denn diese Ergebnisse immer von höherer Qualität sind als die der manuellen Reinigung von HWS.

JATZWAK et al. [64] zeigen in ihren Untersuchungen zur manuellen Aufbereitung an zahnärztlichen HWS die Notwendigkeit einer Spülung mit Wasser nach der Kontamination und vor der Reinigung. HWS, welche nach einer solchen Vorspülung gereinigt wurden, zeigten stets bessere Reinigungsergebnisse als HWS ohne Spülung. Laut Untersuchung zeigte sich auch die Abhängigkeit der Reinigungsergebnisse von der Qualifikation und Arbeitsweise des durchführenden Personals, denn trainierte Mitarbeiter erreichten bessere Ergebnisse als solche, die nur eine kurze Einweisung erhielten. Somit müssen zur Gewährleistung des Erfolges des manuellen Verfahrens klare Arbeitsanweisungen vorhanden sein, sowie ein intensives Training der Mitarbeiter, wie es auch von JATZWAK et al. [64] gefordert wird. Außerdem wurden durch die messbare Erhöhung der Leitfähigkeit des Spülwassers, nach Einsatz von WL-clean, mögliche Reste des Reinigungsmittels detektiert, weshalb eine Spülung vor der Trocknung, zur Entfernung von eventuellen Resten der Aufbereitungskemikalien, gefordert wird. Es wird aber auch gezeigt, dass mit einer manuellen Aufbereitung nach strikter Arbeitsanweisung durch entsprechend geschultes und qualifiziertes Personal sehr gute Reinigungserfolge zu erzielen sind [64]. Im Vergleich der Ergebnisse zur Aufbereitung im maschinellen Verfahren mit der durchgeführten Untersuchung zeigt sich, dass auch die Reinigungsergebnisse einer manuellen Reinigung mittels WL-clean, mit denen maschineller Verfahren vergleichbar sind.

Die Annahme von WL-clean-Rückständen korreliert auch mit den in dieser Studie erhaltenen Ergebnissen, da mit der OPA-Messung zwar Proteine nachgewiesen wurden, jedoch der HemoCheck-S-Test durchweg ein negatives Messergebnis aufwies, trotz einer relativ großen Menge unverdünnten Humanblutes als Kontamination. Eventuell vorhandenes Hämoglobin und damit Reste der Anschmutzung sind somit nicht nachweisbar, wie auch in vergleichbaren Studien zu maschinellen Verfahren [60].

## 6.10 Schlussfolgerungen

Die Reinigung, Desinfektion und ggf. Sterilisation zahnärztlicher HWS stellt aufgrund der komplexen Geometrie der Instrumente hohe Anforderungen an die Aufbereitung. In der vorliegenden Untersuchung sollte die Äquivalenz eines manuellen mit einem maschinellen Reinigungsverfahren untersucht werden.

Es ließ sich in den Untersuchungsreihen mithilfe der modifizierten OPA-Methode vorhandenes Restprotein nachweisen, Hämoglobin konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Würde die nachgewiesene Menge an Protein aus der Testanschmutzung stammen, hätte auch bei den HemoCheck-S-Testungen eine blaue Farbreaktion aufgrund von vorhandenem Hämoglobin erkennbar sein müssen. Deswegen liegt die Schlussfolgerung nahe, dass es sich hier nicht um Rückstände von Blut oder dessen Bestandteilen also der Anschmutzung handelt, sondern um Proteine anderer Herkunft. Als einzige Quelle kommt das Reinigungsmittel WL-clean in Betracht. Hierfür spricht auch die Reaktion der WL-clean-Suspension mit dem OPA-Reagenz und die positive Reaktion auf Protein im Combur 5 Test<sup>®</sup> HC. Das bedeutet, dass es sich um proteinhaltige Rückstände des Reinigungsmittels handeln kann. Die Art der verbleibenden Proteinrückstände ist jedoch mit den in dieser Studie eingesetzten Methoden nicht näher bestimmbar, da mit der modifizierten OPA-Methode lediglich die Detektion von Proteinen oder deren Bestandteilen möglich ist, nicht aber eine Unterscheidung zwischen verschiedenen Proteinen bzw. Proteinfractionen. Da eine Extraktion der entsprechenden Proteine, wie auch bei JATZWAIK et. al [64], mit den eingesetzten Methoden nicht möglich ist, kann somit nicht eindeutig zwischen Rückständen des Reinigers und Rückständen der Anschmutzung unterschieden werden. Die genaue Bestimmung der die Extinktion verursachenden Restproteine sollte das Ziel anschließender Studien sein.

Ungeklärt ist außerdem die Frage, falls es sich um Restbestandteile der WL-clean-Suspension handelt, was mit diesen bei bzw. nach der Desinfektion bzw. Sterilisation geschieht. Problematisch können Veränderungen durch die hohe Temperatur bzw. den Wasserdampf und eingesetztes Öl sein. Ungeklärt ist die Frage ob z.B. eine Fixierung an den Innenwandungen oder im Getriebe zu beobachten ist und falls ja, welche Langzeitwirkung diese auf das Spraywasser- und Sprayluftkanalsystem hat. Würden Reste des Reinigers nach der Aufbereitung im Kanalsystem verbleiben wären für nachfolgende Patienten auch eventuelle

Gefährdungen denkbar. Würden diese Reste im Mund z.B. in eine offene Wunde gelangen könnten Wundheilungsstörungen als mögliche Folge auftreten.

Nachteilig an der Methode der Anschmutzung und Wiedergewinnung der Reste ist, dass das HWS komplett zerlegt und die Spraywasser- und Sprayluftkanäle nach der Probengewinnung unbrauchbar geworden sind. Das HWS ist zwar nach dem Einbau neuer Spraywasser- und Sprayluftkanäle wieder vollkommen funktionstüchtig, aber der Aufwand ist groß. Deswegen ist diese Methode so nicht in der Praxis anwendbar. Sie erfordert auch durch gezieltes Training und klar strukturierte Arbeitsanweisungen speziell geschultes Personal [52, 59].

Nach JATZWAUK [64] wird zudem gefordert die manuelle Aufbereitung in ein hochwertiges Qualitätsmanagement einzubetten, um eine Äquivalenz der manuellen Reinigung im Vergleich zu maschinellen Verfahren zu gewährleisten. Ist dies der Fall, so können auch mit manuellem Verfahren sehr gute und reproduzierbare Werte erzielt werden. Zur Erfolgskontrolle der Reinigung wäre der Einsatz eines speziell entwickelten Tests basierend auf der Peroxidasereaktion denkbar, der relativ einfach als orientierender Schnelltest in der Praxis angewendet werden könnte. Der Einsatz eines einfach validierbaren Verfahrens würde vielen Praxen eine wirtschaftliche Alternative zu Anschaffung und Unterhalt sehr kostenintensiver RDG bieten und wäre bei gebotener Äquivalenz laut "Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene" [1] zulässig.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in dieser Untersuchung vorgestellte Methode zur Überprüfung der Restproteinmenge nach manueller Reinigung von HWS aufgrund des sehr hohen materiellen Aufwandes und aufgrund der Tatsache, dass nicht zwischen verbliebenen Restproteinen aus der Anschmutzung oder aus dem Reiniger unterschieden werden kann, sich nicht zu Routinekontrollen bzw. einer Validierung für die Praxis eignet. Nach JATZWAUK et al. sind dahingehend aber grundsätzlich durchaus ausreichende Ergebnisse erzielbar [64].

## 7. Literaturverzeichnis

1. Kommission Für Krankenhaushygiene Und Infektionsprävention Am Rki, *Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene.* Bundesgesundheitsblatt, 2006. 49: 375-394.
2. Empfehlung Des Fachausschusses Qualität (Ak Qualität), *Aufbereitung von Übertragungsinstrumenten im zahnmedizinischen Bereich.* Zentr Steril, 2012. 3: 205-206.
3. Empfehlung Der Kommission Für Krankenhaushygiene Und Infektionsprävention (Krinko) Bei Robert Koch-Institut (Rki) Und Des Bundesinstitutes Für Arzneimittel Und Medizinprodukte (Bfarm), *Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten.* Bundesgesundheitsblatt, 2012. 55: 1244-1310.
4. Köhnlein, J., Werner, S., *Infektionsrisiko durch Übertragungsinstrumente in der Zahnarztpraxis.* Quintessenz, 2010. 61: 103-112.
5. Michels, W., *Qualitätssicherung bei der Aufbereitung - Dekontamination.* Zentr Steril, 1994. 2: 252-262.
6. Lewis, D. L., Arens, M., Appleton, S. S., Nakashima, K., Ryu, J., Boe, R. K., Patrick, J. B., Watanabe, D. T., Suzuki, M., *Cross-contamination potential with dental equipment.* Lancet, 1992. 340: 1252-4.
7. Lewis, D. L., Boe, R. K., *Cross-infection risks associated with current procedures for using high-speed dental handpieces.* J Clin Microbiol, 1992. 30: 401-406.
8. Kellett, M., Holbrook, W. P., *Bacterial contamination of dental handpieces.* J Dent, 1980. 8: 249-253.
9. Bößmann, K., *Hygiene in der Zahnarztpraxis.* Dentalhygiene Journal, 1999 7-10.
10. Reinthaler, F.F., Feier, G., Grisold, A., Maschner, F., Miorini, T., Stünzner, D., *Hygienestatuserhebungen in österreichischen Zahnarztpraxen.* Stomatologie, 1998. 95: 275-283.
11. Schrader, O, *Untersuchung über den Stand der Hygienemaßnahmen in Berliner Zahnarztpraxen;* Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2004

12. Kramer, A., Meyer, G., Ertzinger, S., Kietz, K., Schrader, O., Martiny, H., *Multicenterstudie zur Durchführung ausgewählter Hygienemaßnahmen in 331 Zahnarztpraxen.*  
Hyg Med, 2008. 33: 64-73.
13. Chaufour, X., Deva, A. K., Vickery, K., Zou, J., Kumaradeva, P., White, G. H., Cossart, Y. E., *Evaluation of disinfection and sterilization of reusable angioscopes with the duck hepatitis B model.*  
J Vasc Surg, 1999. 30: 277-282.
14. Miles, R. S., *What standards should we use for the disinfection of large equipment?*  
J Hosp Infect, 1991. 18: 264-273.
15. Gräf, W., Kunz, B., Loisl, B., *Zur hygienischen Aufbereitung dentaler Übertragungsinstrumente.*  
Zbl Hyg, 1995. 198: 72-83.
16. Drescher, J., Wagner, D., Flik, J., Stachan-Kunstyr, R., Haverich, A., Wagenbreth, I., *Nosocomial hepatitis B virus infection in cardiac transplant recipients transmitted during transvenous endomyocardial biopsy.*  
J Hosp Infect, 1994. 26: 81-92.
17. Lewis, D.L., Arens, M., *Resistance of microorganisms to disinfection in dental and medical devices.*  
Nat Med, 1995. 9: 956-958.
18. Centers for Disease Control, *Transmission of HIV Infection during an Invasive Dental Procedure* Morbidity and Mortality Weekly Report, 1991. 40: 21-40.
19. Hauman, C. H., *Cross-infection risks associated with high-speed dental handpieces.*  
J Dent Assoc S Afr, 1993. 48: 389-91.
20. Andersen, H.K., Frost, L., Hansen, D.B., Fiehn, N.E., *Decontamination of dental equipment - A validation of three devices designed for cleaning, disinfecting, and lubricating of dental high-speed turbines and handpieces.*  
Zbl. Hyg., 1995. 196: 437-443.
21. Jülich, W.D., Kramer, A., Reinholz, D., Hoppe, H., Manigk, W., Nordheim, W., Bräuninger, S., *Vergleichende Untersuchung verschiedener Methoden zur Erfassung der Wirkungsbeeinträchtigung von Desinfektionsmitteln durch Blut.*  
Hyg Med, 1990. 15: 357-361.
22. Fengler, T., *Was ist sauber, was ist rein?*  
Forum 99 Instrumenten-Aufbereitung, 1999 9.
23. Hornung, M., Junghannß, U., *Beurteilung der Reinigungsleistung bei Reinigungs- und Desinfektionsgeräten.*  
Zentr Steril, 1999. 7: 221-233.

24. Kampf, G., Bloß, R., Martiny, H., *Surface fixation of dried blood by glutaraldehyde and peracetic acid.*  
J Hosp Infect, 2004. 57: 129-143.
25. Martiny, H., Floss, H., Zuhlsdorf, B., *The importance of cleaning for the overall results of processing endoscopes.*  
J Hosp Infect, 2004. 56 Suppl 2: S16-22.
26. Morrison, A., Conrod, S., *Dental Burs and Endodontic Files: Are Routine Sterilization Procedures Effective?*  
JCDA, 2009. 75: 39-39d.
27. Vickery, K., Pajkos, A., Cossart, Y., *Evaluation of the effectiveness of decontamination of dental syringes.*  
British Dental Journal, 2000. 189: 620-624.
28. Ojajärvi, J., *Grundlagen der Dekontamination.*  
Zentr Steril, 1993. 1: 277-282.
29. Roth, K., Heeg, P., Reichl, R., Cogdill, P., Bond, W., *Qualitätssicherung bei der Aufbereitung von Zubehör für flexible Endoskope - Wie sauber sind gereinigte Instrumente wirklich?*  
Zentr Steril, 1999. 7: 84-96.
30. Babb, J.R., *Reinigungs- und Desinfektionsverfahren.*  
Zentr Steril, 1993. 1: 227-237.
31. Droop, G., *Forum 2000: Prüfung maschineller Reinigungsleistung.*  
Zentr Steril, 2000. 8: 346-348.
32. Paul, Ch., *Zahnärztliche Übertragungsinstrumente aus hygienischer Sicht,*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2009
33. Spicher, G., Peters, J., *Eine Methode zur Kontamination von Testobjekten mit gerinnendem Blut.*  
Zbl. Bakt. Hyg. B, 1985. 182: 89-94.
34. Alfa, M. J., Degagne, P., Olson, N., *Worst-case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning.*  
Am J Infect Control, 1999. 27: 392-401.
35. Peters, J., Spricher, G., *Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln an Oberflächen in Modellversuchen III. Mitteilung: Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von der Art des Wirkstoffes und des Testkeimes (Staphylococcus aureus, Mycobacterium terrae).*  
Zbl Hyg, 1994. 195: 97-110.
36. De Bruijn, A.C.P., A.W., Van Drongelen, *EN ISO 15883: Norm prima, Testanschmutzung eher nicht.*  
Zentr Steril, 2005. 13: 330-333.

37. Spicher, G., *Eine neue Methode zur Wirksamkeitsprüfung von Mitteln zur chemischen Instrumentendesinfektion.*  
Hyg Med, 1989. 14: 237-241.
38. Spicher, G., *Struktur und Probleme der Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel.*  
Hyg Med, 1996. 21: 105-132.
39. Spicher, G., Peters, J., *Beeinflussung der mikrobiziden Wirksamkeit von Formaldehyd, Glutardialdehyd, Peressigsäure, Chloramin T (N-Chlor-4-toluolsulfonsäureamid), m-Kresol, Ethanol und Benzyltrimethylammoniumbromid durch Blut (Modellversuche zur chemischen Instrumentendesinfektion).*  
Zbl. Hyg Umweltmed, 1997/98. 200: 456-477.
40. *DIN EN 556, Sterilisation von Medizinprodukten.* 1995: Beuth Verlag Berlin.
41. Michels, W., Frister, H., Pahlke, H., Frery, R., *Überprüfung der Reinigung minimalinvasiver Instrumente nach maschineller Kontamination.*  
Hyg Med, 1996. 21: 324-330.
42. Pfeifer, M., *Standardisierte Testanschmutzung Blut1: Zusammensetzung, Herstellung, Anwendung.*  
Zentr Steril, 1998. 6: 381-385.
43. Gaehtgens, P., Pries, A., R., Walzog. *Blut.* In P. Deetjen, Speckmann, E.J. Physiologie. (S. 257 - 295). Urban & Fischer, München, 1999, 3. Auflage
44. Pfeifer, M., *Blut als Anschmutzung chirurgischer Instrumente: Chemisches Verhalten, Reinigung, Nachweis.*  
Zentr Steril, 1998. 6: 304-310.
45. Verordnung Über Das Errichten, Betreiben Und Anwenden Von Medizinprodukten (Medizinprodukte – Betreiberverordnung – Mpbetreibv), vom 29.06.1998, Medizinprodukte-Betreiberverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 21. August 2002 (BGBl. I S. 3396), zuletzt geändert durch Artikel 386 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407).
46. Kudicke, S., *Qualitätssicherung in der Krankenhaushygiene.*  
Zentr Steril, 2001. 9: 9-10.
47. Roth, K., *Validierung der Reinigung - die Radionukleotidmethode als orts aufgelöstes, quantitatives Verfahren.*  
Forum 99 Instrumenten-Aufbereitung, 1999: 22.
48. Friedrich, T., Roth, K., Gauer, J., Heeg, P., *Sensitivität von Nachweismethoden zur Beurteilung der Restkontamination chirurgischer Instrumente nach der Aufbereitung.*  
Zentr Steril, 2007. 15: 29-33.

49. De Bruijn, A.C.P., Orzechowski, T.J.H., Wassenaar, C., *Validierung des Ninhydrin-Wischtests zur Überprüfen des Reinigungserfolges bei medizinischen Instrumenten.*  
Zentr Steril, 2001. 9: 235-247.
50. Miele Pressemitteilung Nr. 143/2003, *Maschinelle Instrumentenreinigung jetzt objektiver überprüfbar*
51. Miele Pressemitteilung Nr. 194/2006, *Präzisere Kontrolle: Färbung des Protein-Schnelltests jetzt messbar*
52. Michels, W., *Bewertung eines Schnelltests zur Überprüfung des Reinigungserfolgs aufbereiteter chirurgischer, minimalinvasiver Instrumente.*  
Hyg Med, 1997. 22: 173-184.
53. Michels, W., Frister, H., *Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis - Teil 4.*  
aseptica, 2006. 12: 12-13.
54. Langheinrich, U., *Bestimmung von Proteinkonzentrationen in Lösungen - Teil 2.*  
CLB Chemie in Labor und Biotechnik, 1995. 46: 135-136.
55. Langheinrich, U., *Bestimmung von Proteinkonzentrationen in Lösungen - Teil 1.*  
CLB Chemie in Labor und Biotechnik, 1995. 46: 82-85.
56. Frister, H., Meisel, H., Schlimme, E., *Einsatzmöglichkeiten der modifizierten OPA-Methode in der Proteinanalytik.*  
Ernährungs Umschau 37, 1990. 11: 442-445.
57. Frister, H., *Die modifizierte OPA-Methode als Schlüssel zum quantitativen Protein-Monitoring.*  
Hyg Med, 2000. 25: 18-19.
58. Frister, H., Meisel, H., Schlimme, E., *OPA method modified by use of N,N-dimethyl-2-mercaptoethylammonium chloride as thiol component.*  
Fresenius Z Anal Chem, 1988. 330: 631-633.
59. Krüger, S., *Überprüfung der Reinigungswirkung in Dekontaminationsanlagen.*  
Zentr Steril, 1999. 7: 180-188.
60. Radimerski, L., *Thermische Reinigung zahnärztlicher Hand- und Winkelstücke in einem Reinigungs- und Desinfektions-Gerät.*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2012.
61. Gesetz Über Medizinprodukte (Mpg), vom 21. August 1994, BGBl. I: 1963; zuletzt geändert durch Art. 145 V vom 31. Oktober 2006, BGBl. I: 2407,.

62. Verordnung Über Sicherheit Und Gesundheitsschutz Bei Tätigkeiten Mit Biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung - Boistoffv), vom 27. Januar 1999 BGBl.I:50; zuletzt geändert durch Artikel 2 V vom 6. März 2007; BGBl.I: 261.
63. Checchi, L., Montebugnoli, L., Samaritani, S., *Contamination of the turbine air chamber: a risk of cross infection.*  
J Clin Periodontol, 1998. 25: 607-11.
64. Jatzwauk, L., *Untersuchungen zur Validierung der manuellen Reinigung und Desinfektion von als „kritisch B“ eingestuftem zahnärztlichen Übertragungsinstrumenten im Rahmen der Aufbereitung (MAZI);*  
TU Dresden, 2013
65. Bien, Annika S., Lücker, Volker, Schorn, Gert H., Wachenhausen, Heike, *Rechtsprechung zum Medizinprodukterecht.*  
Medizinprodukte Journal, 2011. 1: 42-44.
66. Deutsche Gesellschaft Für Krankenhaushygiene, (Dgkh), Deutsche Gesellschaft Für Sterilgutversorgung, (Dgsv), Arbeitskreis Instrumentenaufbereitung, (Aki), Verbund Für Angewandte Hygiene, (Vah), *Leitlinie zur Validierung der manuellen Reinigung und manuellen chemischen Desinfektion von Medizinprodukten.*  
mhp-Verlag GmbH, 2013 1-15.
67. Pantazi, E., *Maschinelle Aufbereitung zahnärztlicher Hand- und Winkelstücke in mehreren Reinigungs- und Desinfektionsgeräten.*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2015.
68. Schönherr, P, *Die Reinigung von zahnärztlichen Winkelstücken - geprüft mit der modifizierten OPA Methode, in zwei Reinigungs- und Desinfektionsgeräten;*  
Medizinische Dissertation, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2005
69. Gerner, C., *Entwicklung einer Methode zum Nachweis der Chairside-Reinigung ausgehend von einem Interim-Stand.*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2015.
70. Dietrich, S., *Einfluss der Chairside-Reinigung auf die Kontaminationsrückstände von Endodontiefleilen.*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2015.
71. Siehe, S, *Entwicklung einer Methode zum Nachweis von Restkontaminationen in zahnärztlichen Winkelstücken;*  
Dissertation in Arbeit, Charité Universitätsmedizin Berlin, 2000
72. Fengler, T, Pahlke, H, Frister, H, Michels, W, *Methoden der Überprüfung maschineller Reinigungsleistung.*  
Hyg Med, 2000. 2: 1-4.

73. Verjat, D, *Fluorescence-assay on traces of protein on re-usable medical devices: cleaning efficiency.*  
Int J Pharm, 1998 267-271.
74. Roth, M, *Fluorescence reaction for amino acids.*  
Anal Chem, 1971. 43: 880 - 882.
75. Produktinformation, *Firma Pereg AG.*  
Waldkraiburg.
76. *DIN EN ISO-15883-1, Reinigungs-Desinfektionsgeräte:Teil 1: Allgemeine Anforderungen, Begriffe, Prüfverfahren.* 2006: Beuth Verlag Berlin.
77. Michels, W., *Welche Prüfmöglichkeiten in der klinischen Praxis sind möglich?*  
Programmheft Forum 99 Instrumentenaufbereitung, Chirurgie-Instrumenten-Arbeitsgruppe am KH Moabit (Hrsg.). 1999: 19.
78. Orzechowski, T.J.H., De Bruijn, A.C.P., Wassenaar, C., *Reinigung von Dentalhandstücken.*  
Zentr Steril, 2000. 8: 371-385.
79. Soibelman, M., *Zur Problematik der Aufbereitung von Übertragungsinstrumenten - Hand- und Winkelstücken sowie Turbinen- in der zahnärztlichen Praxis.*  
Forum 2008 - Instrumenten- Aufbereitung. 2008: 21-22.
80. Toomarian, L., Rikhtegaran, S., Sadighi, M., Savadi Oskoe, S., Alizadeh Oskoe, P., *Contamination of dental unit water and air outlets following use of clean head system and conventional handpieces.*  
J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2007. 1: 43-7.
81. Früh, B., Pfeifer, M., *Effiziente Überprüfung der Reinigungswirkung in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) im Routinebetrieb.*  
Zentr Steril, 2002. 11: 41-52.
82. Krüger, S., Hofmann, T., Zühlsdorf, B., *Prüfanschmutzungen zur Prüfung der reinigenden Wirkung in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten nach prEN ISO 15883-1.*  
Zentr Steril, 2004. 12: 230-240.
83. Crutwell, M., *Ein Vergleich der in ISO/TS 15883-5 veröffentlichten Prüfanschmutzungen für chirurgische Instrumente.*  
Zentr Steril, 2008. 16: 256-265.
84. Miles, R. S., Wolfe, R., Malcolm-Smith, N., Bowick, G., *Evaluation of the Draeger Anaesthetic Equipment Washing Machine (ANDA 9002).*  
J Hosp Infect, 1989. 13: 399-411.

85. Guggenheim, B., Gander, M., Roth, U., *Tubocid ein Gerät zur Reinigung, Desinfektion und Schmierung von Hand- und Winkelstücken.*  
Schweiz Monatsschr Zahnmed, 1991. 101: 1571-1581.
86. Zöllner, C., *Untersuchungen zur thermischen Desinfektion und Reinigung von zahnärztlichen Winkelstücken und Turbinen;*  
Medizinische Dissertation; Universität Halle - Wittenberg, 2001
87. Raab, D., *Studien zur Wirksamkeit des Turbocids - einem Gerät zur Reinigung, Desinfektion und Schmierung von zahnärztlichen Winkelstücken;*  
Medizinische Dissertation; Charité-Universitätsmedizin Berlin, 2007
88. Michels, W., *Welche Prüfmöglichkeiten der Reinigung sind in der klinischen Praxis möglich?*  
Forum 99 Instrumenten-Aufbereitung, mhp - Verlag Wiesbaden, 1999 19.
89. Dürr, M., Dummert, M., Schulz-Fincke, D., Michels, W, Brömmelhaus, A., Borneff-Lipp, M., *Maschinelle thermische Aufbereitung von zahnärztlichen Übertragungsinstrumenten.*  
Hyg Med, 2008. 33: 74-79.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

AKI	Arbeitskreis Instrumentenaufbereitung
BSA-Äquivalent	Bovines Serumalbumin Fraktion V - Äquivalent
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HWS	Hand- und Winkelstück
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
MPBetreibV	Medizinprodukte Betreiberverordnung
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
PZN	Pharmazentralnummer
RDG	Reinigungs- und Desinfektionsgerät
RKI	Robert Koch-Institut
RPM	revolutions per minute
SDS	Sodiumdodecylsulfat

## 9. Tabellenanhang

Tabelle 8: Versuch zum WL-clean Druckgassystem, bei kompletter Leerung einer WL-clean-Flasche bei 2 Sekunden Betätigung (n=172)

Messung	Flasche 3 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]	Messung	Flasche 3 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]	Messung	Flasche 3 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]
1	3,50	17,33	51	3,28	9,91	101	3,06	2,60
2	3,29	10,12	52	3,29	10,15	102	3,19	6,78
3	3,36	12,58	53	3,36	12,55	103	3,04	1,69
4	3,27	9,54	54	3,44	15,09	104	3,06	2,41
5	3,34	11,84	55	3,40	13,85	105	3,02	1,06
6	3,40	13,95	56	3,31	10,92	106	2,83	5,33
7	3,36	12,60	57	3,44	15,28	107	2,90	2,83
8	3,39	13,61	58	3,37	12,93	108	2,90	2,99
9	3,31	10,95	59	3,31	11,02	109	2,75	7,97
10	3,37	12,76	60	3,40	13,78	110	2,73	8,51
11	3,35	12,41	61	3,35	12,35	111	2,95	1,22
12	3,44	15,11	62	3,24	8,51	112	2,80	6,33
13	3,38	13,22	63	3,34	12,01	113	2,72	8,95
14	3,37	12,74	64	3,29	10,38	114	2,74	8,15
15	3,33	11,70	65	3,34	11,90	115	2,83	5,34
16	3,48	16,44	66	3,39	13,55	116	2,76	7,37
17	3,44	15,14	67	3,38	13,34	117	2,68	10,33
18	3,41	14,15	68	3,35	12,09	118	2,81	5,95
19	3,47	16,32	69	3,36	12,41	119	2,64	11,44
20	3,47	16,31	70	3,43	15,00	120	2,65	11,27
21	3,53	18,35	71	3,40	14,03	121	2,70	9,66
22	3,45	15,54	72	3,32	11,25	122	2,58	13,68
23	3,42	14,63	73	3,38	13,25	123	2,51	15,97
24	3,49	16,77	74	3,35	12,30	124	2,51	15,90
25	3,41	14,39	75	3,30	10,60	125	2,57	13,86
26	3,44	15,33	76	3,19	7,02	126	2,49	16,52
27	3,45	15,70	77	3,27	9,51	127	2,52	15,64
28	3,43	14,80	78	3,35	12,09	128	2,32	22,24
29	3,35	12,10	79	3,32	11,12	129	2,40	19,46
30	3,51	17,74	80	3,35	12,35	130	2,44	18,34
31	3,28	9,77	81	3,37	12,92	131	2,37	20,50
32	3,38	13,32	82	3,39	13,50	132	2,44	18,33
33	3,40	14,00	83	3,29	10,18	133	2,27	23,86
34	3,30	10,58	84	3,35	12,24	134	2,29	23,44
35	3,26	9,30	85	3,34	11,78	135	2,38	20,23
36	3,28	10,06	86	3,22	7,96	136	2,35	21,21

37	3,38	13,27	87	3,33	11,54	137	2,25	24,45
38	3,32	11,19	88	3,34	11,79	138	2,29	23,27
39	3,36	12,67	89	3,37	12,75	139	2,33	22,00
40	3,47	16,13	90	3,14	5,10	140	2,32	22,22
41	3,30	10,62	91	3,35	12,07	141	2,42	18,94
42	3,34	11,98	92	3,20	7,23	142	2,26	24,15
43	3,44	15,23	93	3,22	7,86	143	2,32	22,31
44	3,32	11,33	94	3,36	12,70	144	2,40	19,67
45	3,35	12,10	95	3,30	10,48	145	2,14	28,42
46	3,36	12,46	96	3,32	11,18	146	2,29	23,34
47	3,32	11,10	97	3,29	10,20	147	2,17	27,46
48	3,27	9,64	98	3,20	7,11	148	2,21	26,00
49	3,39	13,49	99	3,20	7,19	149	2,20	26,19
50	3,37	13,02	100	3,19	6,98	150	2,30	22,87

Messung	Flasche 3 [g]	Differenz zum Mittelwert [%]
151	2,32	22,33
152	2,35	21,23
153	2,32	22,31
154	2,34	21,67
155	2,35	21,20
156	2,34	21,45
157	2,23	25,23
158	2,36	20,84
159	2,78	6,90
160	2,28	23,50
161	2,24	25,03
162	2,33	21,96
163	2,38	20,14
164	2,21	25,85
165	2,39	20,05
166	2,32	22,24
167	2,19	26,47
168	2,21	26,06
169	2,29	23,23
170	2,27	24,11
171	2,14	28,28
172	1,52	49,13

Mittelwert	2,98
------------	------

Standartabweichung (g)	0,48
in %	15,92

Tabelle 9: Versuch zum Gasaustrittsvolumen des WL-dry-Druckgassystems, gemessen mit zwei unterschiedlichen Flaschen bei je 3 Sekunden Betätigung (n=30)

Messung		Flasche 1 Vol. [ml]	Differenz zum Mittelwert [%]		Flasche 2 Vol. [ml]	Differenz zum Mittelwert [%]
1		1200	7,5		1200	8,4
2		1250	11,9		1100	0,6
3		1150	3,0		1200	8,4
4		1200	7,5		1150	3,9
5		1100	1,5		1100	0,6
6		1100	1,5		1100	0,6
7		1000	10,4		1150	3,9
8		1100	1,5		1100	0,6
9		1100	1,5		1050	5,1
10		1100	1,5		1100	0,6
11		1100	1,5		1050	5,1
12		1100	1,5		1050	5,1
13		1050	6,0		1100	0,6
14		1100	1,5		1050	5,1
15		1100	1,5		1100	0,6

Mittelwert		1117			1107	
------------	--	------	--	--	------	--

Standartabweichung in %	62
	5,5 %

50
4,5 %

Tabelle 10: Proteinbestimmung zur Untersuchung von Interaktionen zwischen WL-clean und OPA-Reagenz, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode (n=10)

Messung	Extinktion 1	Extinktion 2	Eigenextinktion	Extinktion
1	0,554	0,559	0,027	0,530
2	0,555	0,552	0,007	0,547
3	0,560	0,561	0,007	0,554
4	0,558	0,541	0,002	0,548
5	0,496	0,521	0,003	0,506
6	0,536	0,536	0,002	0,534
7	0,556	0,568	0,004	0,558
8	0,531	0,551	0,005	0,536
9	0,628	0,575	0,001	0,601
10	0,570	0,527	0,009	0,540

Mittelwert				0,545
------------	--	--	--	-------

Tabelle 11: Versuch zur Proteinrückgewinnung von Metallplättchen und mit WL-dry behandelten Metallplättchen gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Tag1 (n=18)

Versuch	Plättchen Nr.	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion
<b>Blut in SDS-Lösung 10 µl</b>	1	0,674	0,685	0,680	0,139	0,541
	2	0,702	0,708	0,705	0,168	0,537
	3	0,693	0,686	0,690	0,161	0,529
	4	0,720	0,737	0,729	0,146	0,583
	5	0,631	0,664	0,648	0,159	0,489
	6	0,697	0,687	0,692	0,153	0,539
<b>Mittelwert</b>						<b>0,536</b>
<b>Blut auf Plättchen mit SDS-Lösung 10 µl</b>	1	0,671	0,692	0,682	0,146	0,536
	2	0,736	0,744	0,740	0,167	0,573
	3	0,697	0,727	0,712	0,154	0,558
	4	0,743	0,756	0,750	0,158	0,592
	5	0,767	0,787	0,777	0,167	0,610
	6	0,715	0,708	0,712	0,169	0,543
<b>Mittelwert</b>						<b>0,568</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>106</b>
<b>Blut auf Plättchen mit WL-dry-System und SDS-Lösung 10 µl</b>	1	0,701	0,709	0,705	0,152	0,553
	2	0,716	0,707	0,712	0,143	0,569
	3	0,716	0,723	0,720	0,150	0,570
	4	0,658	0,698	0,678	0,146	0,532
	5	0,64	0,680	0,660	0,145	0,515
	6	0,709	0,700	0,705	0,157	0,548
<b>Mittelwert</b>						<b>0,548</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>102</b>

Tabelle 12: Versuch zur Proteinrückgewinnung von Metallplättchen und mit WL-dry behandelten Metallplättchen, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Tag 2 (n=18)

Versuch	Plättchen Nr.	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion
<b>Blut in SDS-Lösung</b>	1	0,701	0,730	0,716	0,154	0,562
<b>10 µl</b>	2	0,745	0,687	0,716	0,146	0,570
	3	0,746	0,714	0,730	0,162	0,568
	4	0,729	0,748	0,739	0,168	0,571
	5	0,722	0,766	0,744	0,161	0,583
	6	0,729	0,746	0,738	0,167	0,571
<b>Mittelwert</b>						<b>0,571</b>
<b>Blut auf Plättchen mit SDS-Lösung</b>	1	0,697	0,683	0,690	0,138	0,552
<b>10 µl</b>	2	0,644	0,685	0,665	0,131	0,534
	3	0,699	0,687	0,693	0,139	0,554
	4	0,697	0,671	0,684	0,131	0,553
	5	0,641	0,637	0,639	0,133	0,506
	6	0,702	0,721	0,712	0,132	0,580
<b>Mittelwert</b>						<b>0,546</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>98</b>
<b>Blut auf Plättchen mit WL-dry-System und SDS-Lösung</b>	1	0,690	0,690	0,690	0,16	0,530
<b>10 µl</b>	2	0,682	0,732	0,707	0,138	0,569
	3	0,703	0,722	0,713	0,144	0,569
	4	0,660	0,658	0,659	0,134	0,525
	5	0,739	0,733	0,736	0,137	0,599
	6	0,710	0,718	0,714	0,145	0,569
<b>Mittelwert</b>						<b>0,560</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>96</b>

Tabelle 13: Versuch zur Proteinrückgewinnung von Metallplättchen und mit WL-dry behandelten Metallplättchen, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Tag 3 (n=18)

Versuch	Plättchen Nr.	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion
<b>Blut in SDS-Lösung</b> <b>10 µl</b>	1	0,731	0,713	0,722	0,165	0,557
	2	0,719	0,760	0,740	0,164	0,576
	3	0,775	0,761	0,768	0,151	0,617
	4	0,765	0,776	0,771	0,145	0,626
	5	0,758	0,714	0,736	0,167	0,569
	6	0,713	0,725	0,719	0,160	0,559
<b>Mittelwert</b>						<b>0,584</b>
<b>Blut auf</b> <b>Plättchen</b> <b>mit SDS-Lösung</b> <b>10 µl</b>	1	0,761	0,729	0,745	0,154	0,591
	2	0,69	0,699	0,695	0,146	0,549
	3	0,728	0,687	0,708	0,144	0,564
	4	0,758	0,782	0,770	0,158	0,612
	5	0,738	0,722	0,730	0,160	0,570
	6	0,735	0,769	0,752	0,160	0,592
<b>Mittelwert</b>						<b>0,580</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>99</b>
<b>Blut auf</b> <b>Plättchen</b> <b>mit WL-dry-System</b> <b>und SDS-Lösung</b> <b>10 µl</b>	1	0,719	0,756	0,738	0,165	0,573
	2	0,773	0,762	0,768	0,152	0,616
	3	0,798	0,815	0,807	0,170	0,637
	4	0,740	0,746	0,743	0,167	0,576
	5	0,759	0,740	0,750	0,154	0,596
	6	0,742	0,718	0,730	0,161	0,569
<b>Mittelwert</b>						<b>0,594</b>
<b>Rückgewinnung in %</b>						<b>102</b>

Tabelle 14: Versuch zur Untersuchung von Kreuzreaktionen der Peroxidasereaktion zur WL-clean-Lösung, SDS-Lösung und der Kombination von SDS- und WL-clean-Lösung mithilfe des Combur 5 Test<sup>®</sup> HC (n=48)

Testsubstanz	Art	Messung 1	Messung 2
<b>WL-clean</b>	Glucose	0	0
	Leukozyten	0	0
	Nitrit	0	0
	Protein	++	++
	Erythrozyten	0	0
	Hämoglobin	0	0
<b>SDS-Lösung 20 %</b>	Glucose	0	0
	Leukozyten	0	0
	Nitrit	0	0
	Protein	0	0
	Erythrozyten	0	0
	Hämoglobin	0	0
<b>SDS-Lösung 1 %</b>	Glucose	0	0
	Leukozyten	0	0
	Nitrit	0	0
	Protein	0	0
	Erythrozyten	0	0
	Hämoglobin	0	0
<b>WL-Clean+ SDS-Lösung 1% (3 ml /3 ml)</b>	Glucose	0	0
	Leukozyten	0	0
	Nitrit	0	0
	Protein	0	+
	Erythrozyten	0	0
	Hämoglobin	0	0

Tabelle 15: Verdünnungsreihenversuch zur Untersuchung der Nachweisgrenze des HemoCheck-S-Tests, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuch Nr.1 (n=7)

Versuch Nr.	Verdünnung	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion	HemoCheck-S-Reaktion
1	1 : 10	0,426	0,413	0,420	0,077	0,343	++
2	1 : 50	0,067	0,064	0,066	0,007	0,059	+
3	1 : 60	0,060	0,061	0,061	0,005	0,056	+
4	1 : 70	0,053	0,050	0,052	0,004	0,048	-
5	1 : 80	0,047	0,040	0,044	0,003	0,041	-
6	1 : 90	0,037	0,031	0,034	0,001	0,033	-
7	1 : 100	0,031	0,028	0,030	0,000	0,030	-

Tabelle 16: Verdünnungsreihenversuch zur Untersuchung der Nachweisgrenze des HemoCheckS-Tests, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuch Nr.2 (n=7)

Versuch Nr.	Verdünnung	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion	HemoCheck-S-Reaktion
1	1 : 10	0,398	0,404	0,401	0,077	0,324	++
2	1 : 30	0,115	0,121	0,118	0,021	0,097	+
3	1 : 40	0,083	0,085	0,084	0,017	0,067	+
4	1 : 50	0,056	0,068	0,062	0,011	0,051	+
5	1 : 60	0,055	0,051	0,053	0,009	0,044	-
6	1 : 70	0,050	0,049	0,050	0,007	0,043	-
7	1 : 80	0,048	0,032	0,040	0,003	0,037	-

Tabelle 17: Verdünnungsreihenversuch zur Untersuchung der Nachweisgrenze des HemoCheckS-Tests, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuch Nr.3 (n=7)

Versuch Nr.	Verdünnung	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion	HemoCheck-S-Reaktion
1	1 : 10	0,453	0,459	0,456	0,016	0,440	++
2	1 : 30	0,114	0,131	0,123	0,031	0,092	+
3	1 : 40	0,099	0,100	0,100	0,026	0,074	+
4	1 : 50	0,094	0,093	0,094	0,021	0,073	+
5	1 : 60	0,082	0,087	0,085	0,016	0,069	+
6	1 : 70	0,07	0,063	0,067	0,012	0,055	+
7	1 : 80	0,058	0,047	0,053	0,011	0,042	-

Tabelle 18: Verdünnungsreihenversuch zur Untersuchung der Nachweisgrenze des HemoCheck-S-Tests, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuch Nr.4 (n=5)

Versuch Nr.	Verdünnung	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion	HemoCheck-S-Reaktion
1	1 : 40	0,091	0,092	0,092	0,020	0,072	+
2	1 : 50	0,075	0,074	0,075	0,016	0,059	+
3	1 : 60	0,062	0,066	0,064	0,010	0,054	+
4	1 : 70	0,045	0,055	0,050	0,009	0,041	-
5	1 : 80	0,041	0,038	0,040	0,007	0,033	-

Tabelle 19: BSA-Messung zur Bestimmung der BSA-Äquivalentgeraden, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode Reihe 1 (n=8)

BSA Messung	Menge in µl	Messwert 1	Messwert 2	Mittelwert	Eigenextinktion	Extinktion 1
1	50	0,012	0,010	0,011	0,003	0,008
2	100	0,025	0,031	0,028	0,001	0,027
3	200	0,071	0,064	0,068	0,000	0,068
4	300	0,085	0,079	0,082	0,003	0,079
5	500	0,122	0,133	0,128	0,003	0,125
6	1000	0,267	0,262	0,265	0,001	0,264
7	2000	0,545	0,515	0,530	0,001	0,529
8	4000	1,016	0,991	1,004	0,001	1,003

Tabelle 20: BSA-Messung zur Bestimmung der BSA-Äquivalentgeraden, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Reihe 2 (n=8)

BSA Messung	Menge in µl	Messwert1	Messwert2	Mittelwert	Eigenextinktion 1	Extinktion2
1	50	0,006	0,006	0,006	0,000	0,006
2	100	0,020	0,016	0,018	0,000	0,018
3	200	0,030	0,043	0,037	0,000	0,037
4	300	0,067	-	0,067	0,000	0,067
5	500	0,123	0,122	0,123	0,000	0,123
6	1000	0,257	0,251	0,254	0,000	0,254
7	2000	0,505	0,544	0,525	0,000	0,525
8	4000	1,056	1,08	1,068	0,001	1,067

Tabelle 21: Leerversuch ohne Kontamination, 1. OPA-Messung, nur SDS-Spülung (n=12)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigenextinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,003	0,004	0,000	0,004	22	0,13	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,006	0,002	0,000	0,004	24	0,14	0,27
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,004	0,007	0,000	0,006	29	0,17	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,008	0,012	0,000	0,010	44	0,26	0,43
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,015	0,019	0,000	0,017	67	0,40	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,013	0,017	0,000	0,015	60	0,36	0,76
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,024	0,013	0,000	0,019	72	0,43	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,012	0,014	0,000	0,013	54	0,32	0,75
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,009	0,010	0,000	0,010	42	0,25	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,003	0,011	0,000	0,007	34	0,20	0,45
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,007	0,015	0,000	0,011	47	0,28	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,009	0,007	0,000	0,008	37	0,22	0,50
<b>G 220161</b>								

Tabelle 22: Leerversuch ohne Kontamination, 2. OPA-Messung, SDS-Spülung und 1h später auch Extraktion der Kanäle (n=12)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigenextinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,034	0,040	0,002	0,035	127	0,57	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,036	0,045	0,003	0,038	135	0,61	1,18
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,064	0,049	0,003	0,054	189	0,85	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,044	0,035	0,001	0,039	139	0,62	1,47
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,063	0,051	0,003	0,054	190	0,86	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,055	0,043	0,002	0,047	167	0,75	1,61
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,048	0,032	0,001	0,039	140	0,63	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,033	0,039	0,001	0,035	127	0,57	1,20
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,038	0,043	0,002	0,039	139	0,62	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,038	0,045	0,003	0,039	139	0,62	1,25
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,031	0,047	0,002	0,037	134	0,60	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,034	0,039	0,002	0,035	125	0,56	1,17

Tabelle 23: Leerversuch ohne Kontamination, 3. OPA-Messung, Spülung, 1h später auch Extraktion und zusätzlicher Einsatz von SuperFloss (n=12)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigen- extinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,125	0,127	0,024	0,102	350	1,05	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,128	0,142	0,040	0,095	327	0,98	2,03
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,115	0,113	0,025	0,089	307	0,92	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,115	0,126	0,017	0,104	355	1,07	1,99
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,112	0,122	0,015	0,102	350	1,05	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,120	0,110	0,019	0,096	330	0,99	2,04
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,153	0,141	0,042	0,105	360	1,08	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,116	0,125	0,021	0,100	342	1,03	2,11
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,149	0,138	0,031	0,113	385	1,16	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,143	0,131	0,034	0,103	354	1,06	2,22
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,127	0,122	0,017	0,108	369	1,11	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,137	0,123	0,025	0,105	360	1,08	2,19
<b>G 220161</b>								

Tabelle 24: Untersuchung der WL-clean-Reinigungsleistung mit Blutanschmutzung, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 1 (n=14)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigenextinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,197	0,177	0,127	0,060	210	0,42	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,132	0,151	0,091	0,051	179	0,36	0,78
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,118	0,141	0,100	0,030	109	0,22	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,165	0,184	0,111	0,064	222	0,44	0,66
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,154	0,144	0,109	0,040	144	0,29	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,165	0,184	0,111	0,064	222	0,44	0,73
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,145	0,176	0,119	0,042	149	0,30	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,145	0,171	0,127	0,031	114	0,23	0,52
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,135	0,141	0,089	0,049	174	0,35	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,125	0,152	0,086	0,053	185	0,37	0,72
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,168	0,179	0,108	0,066	229	0,46	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,139	0,158	0,118	0,031	112	0,22	0,68
<b>G 220161</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,156	0,188	0,125	0,047	167	0,33	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	0,162	0,137	0,095	0,055	192	0,38	0,72
<b>C 158356</b>								

Tabelle 25: Untersuchung der WL-clean-Reinigungsleistung mit Blutanschmutzung, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 2 (n=14)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigen- extinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,168	0,161	0,054	0,111	379	0,76	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,188	0,198	0,098	0,095	327	0,65	1,41
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,218	0,256	0,121	0,116	397	0,79	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,249	0,267	0,127	0,131	447	0,89	1,69
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,223	0,241	0,113	0,119	407	0,81	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,250	0,239	0,110	0,135	459	0,92	1,73
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,236	0,239	0,106	0,132	449	0,90	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,247	0,243	0,135	0,110	377	0,75	1,65
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,267	0,258	0,123	0,140	475	0,95	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,273	0,266	0,147	0,123	419	0,84	1,79
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,234	0,248	0,104	0,137	467	0,93	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,213	0,226	0,099	0,121	412	0,82	1,76
<b>G 220161</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,224	0,248	0,097	0,139	474	0,95	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	0,233	0,217	0,103	0,122	417	0,83	1,78
<b>C 158356</b>								

Tabelle 26: Untersuchung der WL-clean-Reinigungsleistung mit Blutanschmutzung, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 3 (n=14)

Versuch	Kanäle	Messwert 1	Messwert 2	Eigenextinktion	Extinktion	µg / ml BSA - Protein	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,253	0,278	0,101	0,165	559	1,12	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,271	0,277	0,117	0,157	534	1,07	2,18
<b>G 243549</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,249	0,268	0,106	0,153	519	1,04	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,261	0,249	0,107	0,148	504	1,01	2,04
<b>G 243454</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,229	0,247	0,091	0,147	500	1,00	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,239	0,261	0,098	0,152	517	1,03	2,03
<b>C 158343</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,271	0,264	0,105	0,163	552	1,10	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,242	0,241	0,082	0,160	542	1,08	2,19
<b>C 158353</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,265	0,288	0,111	0,166	562	1,12	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,247	0,263	0,087	0,168	570	1,14	2,26
<b>C 180785</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,268	0,251	0,104	0,156	529	1,06	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,250	0,261	0,113	0,143	485	0,97	2,03
<b>G 220161</b>								
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,244	0,248	0,098	0,148	504	1,01	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	0,252	0,267	0,089	0,171	579	1,16	2,16
<b>C 158356</b>								

Tabelle 27: Überprüfungsversuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 1, nur SDS-Spülung der Kanäle (n=14)

Versuch	Kanäle	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Datum</b>		<b>30.07.2011</b>	<b>30.07.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,24		0,13		0,23	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,28	0,52	0,25	0,38	0,16	0,39
<b>G 243549</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,15		0,17		0,17	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,20	0,35	0,28	0,45	0,28	0,45
<b>G 243454</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,16		0,20		0,18	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,45	0,61	0,31	0,51	0,28	0,46
<b>C 158343</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,35		0,33		0,33	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,31	0,66	0,42	0,75	0,35	0,68
<b>C 158353</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,26		0,45		0,19	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,15	0,41	0,26	0,71	0,18	0,37
<b>C 180785</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,20		0,17		0,22	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,24	0,44	0,34	0,51	0,28	0,50
<b>G 220161</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,39		0,38		0,27	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	0,45	0,84	0,29	0,67	0,32	0,59
<b>C 158356</b>							

Tabelle 28: Überprüfungsversuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 2, SDS-Spülung der Kanäle zusätzlich 1h Extraktion auf Schüttler (n=14)

Versuch	Kanäle	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Datum</b>		<b>30.07.2011</b>	<b>30.07.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,89		0,58		0,59	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,64	1,53	0,54	1,12	0,53	1,12
<b>G 243549</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,71		0,52		0,74	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	0,37	1,08	0,63	1,15	0,63	1,37
<b>G 243454</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,59		0,60		0,52	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	0,59	1,17	0,61	1,21	0,78	1,30
<b>C 158343</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,50		0,93		0,71	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,33	0,84	0,67	1,60	0,59	1,30
<b>C 158353</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,35		0,72		0,62	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,60	0,96	0,75	1,47	0,51	1,13
<b>C 180785</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,44		0,77		0,44	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	0,38	0,82	0,60	1,38	0,53	0,96
<b>G 220161</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,35		0,62		0,61	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	0,44	0,79	0,71	1,34	0,52	1,13
<b>C 158356</b>							

Tabelle 29: Überprüfungsversuch zum Einfluss der Extraktionsmethode auf die Restproteinmenge, gemessen mit der modifizierten OPA-Methode, Versuchsreihe 3, SDS-Spülung der Kanäle zusätzlich 1h Extraktion auf Schüttler zusätzlich Einsatz von SuperFloss (n=14)

Versuch	Kanäle	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]	Menge [mg]	Menge pro HWS [mg]
<b>Datum</b>		<b>30.07.2011</b>	<b>30.07.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>20.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>	<b>21.08.2011</b>
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,02		1,19		0,94	
<b>1</b>	<i>Wasser</i>	0,97	1,98	1,23	2,42	0,99	1,92
<b>G 243549</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,15		0,99		0,90	
<b>2</b>	<i>Wasser</i>	1,14	2,29	0,99	1,98	0,98	1,88
<b>G 243454</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,05		1,00		0,95	
<b>3</b>	<i>Wasser</i>	1,04	2,09	1,12	2,11	1,05	1,99
<b>C 158343</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,11		1,18		1,06	
<b>4</b>	<i>Wasser</i>	0,96	2,07	1,08	2,26	1,05	2,11
<b>C 158353</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,04		0,96		1,15	
<b>5</b>	<i>Wasser</i>	0,96	2,00	0,98	1,94	0,99	2,13
<b>C 180785</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	0,94		0,94		0,99	
<b>6</b>	<i>Wasser</i>	1,08	2,02	0,93	1,87	1,05	2,04
<b>G 220161</b>							
<b>Winkelstück</b>	<i>Luft</i>	1,10		1,13		1,00	
<b>7</b>	<i>Wasser</i>	1,06	2,16	0,98	2,11	1,07	2,06
<b>C 158356</b>							

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Thomas Harre, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Die Reinigung von Hand- und Winkelstücken durch Reinigungslösungen in Sprayform" 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](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methode (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

## **Curriculum Vitae**

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



## Danksagung

Ich danke an dieser Stelle ganz besonders Frau Prof. Dr. Heike Martiny für die Überlassung des Themas und die großartige Betreuung meiner Arbeit. Ich bedanke mich für die überdurchschnittlich engagierte und vor allem menschliche Hilfe, die sehr wertvollen Ratschläge und die stete Unterstützung und Motivation bei der Erstellung meiner Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank gilt weiterhin auch Frau Dr. Anette Simonis für ihre ebenso engagierte, fachliche und menschliche Hilfe und das stets offene Ohr bei Fragen oder Problemen. Ich bedanke mich besonders für die vielen konstruktiven Beiträge bei der Erstellung meiner Arbeit.

Ein weiterer Dank gilt der AG Technische Hygiene, für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und insbesondere Frau Dr. Ulrike Kircheis, für ihre Hilfe bei der praktischen Umsetzung der Arbeit.

Vielen Dank auch an Herrn Dr. M. Roggensack für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuchsdaten.

Herrn Raymond Hoey danke ich für die Hilfe bei der Erstellung und Bearbeitung des Bildmaterials.

Den Firmen KaVo und Alpro danke ich für die Bereitstellung der Geräte und Materialien.

Nicht zuletzt möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Eltern bedanken, die mir das Studium und somit auch diese Arbeit ermöglicht haben. Auch danke ich meinem Bruder für seine Hilfe und aufmunternden Worte.

Ganz besonders danke ich meiner Frau für die Unterstützung, für ihr Verständnis, für die Aufmunterung und die richtigen Worte zur richtigen Zeit, die mir die Motivation gaben diese Arbeit fertigzustellen.