

Arbeitsgruppe Technische Hygiene
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel
in den wasserführenden Leitungen von zahnärztlichen Behandlungseinheiten

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Doris Grünewald
aus Bad Saarow-Pieskow

Datum der Promotion: 05. Juni 2016

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	iv
Abstract	vi
1 Einleitung	1
1.1 Zahnärztliche Behandlungseinheit	1
1.2 Allgemeine Wasserqualität	2
1.3 Wasser aus der zahnärztlichen Behandlungseinheit	3
1.4 Biofilmentstehung	6
1.5 Regeln, Vorschriften und Empfehlungen	9
1.6 Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren	10
1.7 Ziel	15
2 Material und Methoden	18
2.1 Einleitung	18
2.2 Desinfektionsmittel und Verfahren	18
2.2.1 Anolyteverfahren	18
2.2.2 Chlordioxidverfahren	20
2.2.3 Dentosept PL	21
2.3 Probenahme	21
2.4 Mikrobiologische Untersuchungen	23
2.4.1 Bestimmung der Koloniezahl bei 36 °C und 22 °C	23
2.4.2 Bestimmung von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2.5 Bestimmung der Chlorkonzentration	26
2.6 Statistik	26
2.6.1 Wirksamkeit der Desinfektionsmittel hinsichtlich der Koloniezahl	26
Koloniezahlen an der BEH	26
Koloniezahlverteilung	27
Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen	27
Mikrokolonien	28
2.6.2 Nachweis von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28

2.6.3	Chlorkonzentrationen	29
3	Ergebnisse	30
3.1	Untersuchungsumfang	30
3.2	Wirksamkeit der Desinfektionsmittel hinsichtlich der Koloniezahl	30
3.2.1	Koloniezahlen der mit Anolyte betriebenen BEH	30
3.2.2	Koloniezahlen an den mit Chlordioxid betriebenen BEH	37
3.2.3	Koloniezahlen an den mit Dentosept PL betriebenen BEH	42
3.2.4	Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle	47
	Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle bei 36 °C	47
	Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle bei 22 °C	48
3.2.5	Koloniezahlverteilung der Entnahmestellen KW, LWS und MGF für alle Probeentnahmetage zusammengefasst	49
3.2.6	Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel und jede Entnahmestelle	53
	Häufigkeitsverteilung bei den mit Anolyte betriebenen BEH	53
	Häufigkeitsverteilung bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH	53
	Häufigkeitsverteilung bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH	54
3.2.7	Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel	54
3.2.8	Der Trinkwasserverordnung entsprechende Proben	54
3.2.9	Mikrokolonien	59
	Anolyteverfahren	60
	Chlordioxidverfahren	61
	Dentosept PL Verfahren	61
	Häufigkeiten der in einer Probe nachweisbaren Mikrokolonien	65
3.3	Nachweis von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	68
	Sanierung der mit Chlordioxid betriebenen BEH	69
3.4	Chlorkonzentrationen	72
4	Diskussion	74
4.1	Wirksamkeit der Desinfektionsmittel	75
4.1.1	Koloniezahlen der BEH	75
4.1.2	Mikrokolonien	79
4.2	Nachweis von <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	81
4.3	Inkubationstemperaturen	82
4.4	Probeentnahmeorte	83
4.4.1	Entnahmestellen der BEH	83
4.4.2	Trinkwasser (TW)	85

4.5 Schlussfolgerung	87
Literaturverzeichnis	92
Anhang	104
Abbildungsverzeichnis	108
Tabellenverzeichnis	109
Abkürzungsverzeichnis	110
Eidesstattliche Versicherung	112
Lebenslauf	113
Danksagung	114

Zusammenfassung

Einleitung:

Zahnärztlichen Behandlungseinheiten (BEH) darf nur Wasser zugeführt werden, welches der Trinkwasserverordnung (TrinkwV) entspricht. Innerhalb der BEH unterliegt das sogenannte Betriebswasser nicht mehr der TrinkwV. Zur Aufrechterhaltung der mikrobiologischen Qualität wird von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des Robert Koch-Institutes (KRINKO) die Zudosierung von Desinfektionsmittel gefordert. Trotzdem werden an den Wasserentnahmestellen der BEH häufig hohe Koloniezahlen nachgewiesen.

An der Zahnklinik der Charité werden die BEH standardmäßig mit dem Desinfektionsmittel Dentosept PL betrieben. Dessen wirksames Agens Wasserstoffperoxid ist bei der Trinkwasserdesinfektion nicht zugelassen. Es dient im Rahmen dieser Untersuchungen als „Referenzverfahren“. Neuere Verfahrenstechniken erlauben eine Betriebswasserdesinfektion zahnärztlicher Behandlungseinheiten mit Chlordioxid und Anolyte (Natriumhypochlorit), die nach TrinkwV zugelassen sind.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirksamkeit der zwei nach TrinkwV zugelassenen Desinfektionsmittel Chlordioxid und Anolyte mit Dentosept PL vergleichend zu untersuchen. Weiter soll festgestellt werden, ob die jährliche Überprüfung der Koloniezahl an einer Entnahmestelle der BEH bei 36 °C (KRINKO-Empfehlung) eine ausreichende Aussage über den mikrobiologischen Zustand einer BEH gibt.

Methodik:

Insgesamt wurden neun BEH an der Zahnklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin über einen Zeitraum von zehn Monaten untersucht. An jeweils drei BEH wurden Dentosept PL, Chlordioxid und Anolyte als Desinfektionsmittel eingesetzt. An jeder BEH wurden drei Wasserentnahmestellen sowie das zugeführte Trinkwasser untersucht. Zur Beurteilung der Wasserqualität wurde die Koloniezahl bei 36 °C und bei 22 °C sowie von *Pseudomonas aeruginosa* bestimmt.

Ergebnisse:

360 Proben wurden insgesamt zur Bestimmung mikrobiologischer Parameter weiterverarbeitet. Bei 36 °C konnten bei Dentosept PL signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen im Vergleich zu Anolyte und Chlordioxid nachgewiesen werden. Bei 22 °C lagen bei Chlordioxid signifikant ($p < 0,05$) höhere Koloniezahlen im Vergleich zu Dentosept PL und Anolyte vor, während sich Dentosept PL und Anolyte nicht signifikant unterschieden. *Pseudomonas aeruginosa* war an den mit Dentosept PL betriebenen BEH in keiner, bei Anolyte in 5 von 72 und bei Chlordioxid in 15 von 107 untersuchten Proben der Entnahmestellen nachweisbar.

Schlussfolgerung:

Unter den gegebenen Untersuchungsbedingungen konnte bei den drei mit Dentosept PL betriebenen BEH die mikrobiologische Wasserqualität innerhalb der BEH aufrechterhalten werden, während es bei Anolyte und Chlordioxid häufig zu Überschreitungen des von der KRINKO vorgegebenen Wertes von 100 KBE/ml¹ im Wasser kam. Eine mögliche Ursache für die hohen Koloniezahlen bei Anolyte und Chlordioxid könnte ein biofilmverschmutzter Leitungsabschnitt zu Beginn der BEH sein, an dem die beiden Desinfektionsmittel bereits einwirken konnten und zur Ablösung von Mikroorganismen führten.

Die mikrobiologische Überprüfung der Wasserproben bei 36 °C wird in der vorliegenden Untersuchung als ausreichend angesehen, nicht aber die Untersuchung an nur einer Entnahmestelle. Deshalb wird die Überprüfung an einer weiteren Entnahmestelle zur Überprüfung des mikrobiologischen Zustandes einer BEH empfohlen.

Schlüsselwörter:

Desinfektion; zahnärztliche Behandlungseinheit; *Pseudomonas aeruginosa*; Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des Robert Koch-Institutes (KRINKO); Anolyte; Natriumhypochlorit; Chlordioxid; Dentosept PL; Wasserstoffperoxid

¹Koloniebildende Einheiten pro Milliliter

Abstract

Introduction:

Water supply within dental units (DU) is required to correspond to the German regulations for drinking water (TrinkwV). Within the DU the so-called processing water is no longer subject of the TrinkwV. In order to maintain the quality of water with regard to microbiological contamination, the German Commission of Hospital Hygiene and Infection Prevention of the Robert Koch-Institut (KRINKO) recommends the usage of additional disinfectants. Nevertheless, often high colony counts as marker for bacterial contamination is detected at the water outlets of the DU.

The DU at the Dental Clinic of the Charité University hospital in Berlin are routinely operated by using the disinfectant Dentosept PL. However, its active agent (hydrogen peroxide) is not approved for drinking water disinfection. New treatment techniques allow to process water disinfection of DU with chlorine dioxide or Anolyte (sodium hypochlorite), which are approved as disinfectants for drinking water. In this investigation Dentosept PL serves as the reference method.

The aim of the present work was to comparative analyzes the effectiveness of the two by the Drinking Water Ordinance approved disinfectants (chlorine dioxide, Anolyte) with Dentosept PL. It should also be noted, whether the annually check of the numbers of colonies at a single sampling point of the DU at 36 °C (KRINKO-recommendation) is sufficient to make a statement with respect to microbiological status of the DU.

Methods:

A total of nine DU at the Dental Clinic of the Charité University hospital in Berlin were studied over a period of ten months. The disinfectants Dentosept PL, chlorine dioxide and Anolyte were evaluated at three DU each. Water testing was performed at three important water points as well as the drinking water supply. To assess the water quality, the number of colonies at 36 °C and 22 °C as well as *Pseudomonas aeruginosa* were determined.

Results:

360 samples were processed for microbiological analysis. At 36 °C Dentosept PL had significant ($p < 0.05$) lower colony counts compared to Anolyte and chlorine dioxide. At 22 °C chlorine dioxide had significantly ($p < 0.05$) higher colony counts compared to Dentosept PL and Anolyte, while no significant difference between Dentosept PL and Anolyte was observed. *Pseudomonas aeruginosa* was not detected in the examined probes of DU when using Dentosept PL, at 5 of 72 samples using Anolyte and in 15 of 107 samples using chlorine dioxide.

Conclusion:

Under the given and tested conditions the operated DU using Dentosept PL, the microbiological water quality agreed to KRINKO criteria, while several of the probes on DU using Anolyte or chlorine dioxide exceeded the predetermined KRINKO values of 100 CFU/ml². One possible cause for high colony counts for Anolyte and chlorine dioxide could be a biofilm-polluted line section at the water entries of the DU, on which the two disinfectants may already act and could lead to a detachment of respective microorganisms.

In contrast to the evaluation of only one testing point on DU, the microbiological examination of water samples of several points and at 36 °C, as in the present investigation, was considered sufficient. Therefore, the examination of at least one additional sampling point is recommended for evaluation of the microbiological status of DU.

Keywords:

disinfectant; dental unit; *Pseudomonas aeruginosa*; Commission of Hospital Hygiene and Infection Prevention of the Robert Koch-Institut (KRINKO); Anolyte; sodium hypochlorite; chlorine dioxide; Dentosept PL; hydrogen peroxide

²colony-forming units per milliliter

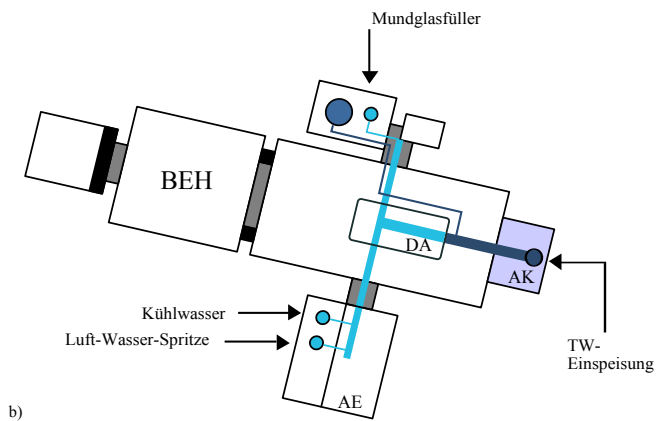
1 Einleitung

1.1 Zahnärztliche Behandlungseinheit

„Weniger als 1 % aller Erwachsenen haben ein kariesfreies Gebiss.“ [1]. Karies ist eine Infektionskrankheit und wird täglich von Zahnärzten in ihren Praxen oder Zahnkliniken behandelt. So wurden 2013 in Deutschland über 108 Millionen Behandlungsfälle mit den Kassenzahnärztlichen Vereinigungen und den Primär- und Ersatzkassen abgerechnet [2]. Bei jeder dieser Behandlungen stellt die dentale Behandlungseinheit (BEH), wie in Abbildung 1.1 dargestellt, den Mittelpunkt des zahnärztlichen Arbeitsbereiches dar. Dieser Multifunktionsstuhl lagert den Patienten in der gewünschten Behandlungsposition und beherbergt Anschlussstellen für notwendige technische Hilfsmittel. Übertragungsinstrumente, in welche kleinste Schleifer, Fräsen und Polierer eingespannt werden, ermöglichen das Bearbeiten der Zähne. Da die hohtourig rotierenden Instrumente durch Reibungswärme den „Zahnerv“ beschädigen können, wurden bereits in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts Wasserkühlungssysteme entwickelt [3]. Heutzutage wird überwiegend Wasser aus dem Trinkwassernetz in die BEH eingeleitet. In der BEH wird der Hauptteil des Wassers einer integrierten Desinfektionsanlage (siehe Abbildung 1.1) zugeführt, welche das Zudosieren eines Desinfektionsmittels ermöglicht. Anschließend wird es über kleine Schlauchsysteme an das Zahnarzt- und das Helferinnenelement weitergeleitet. Von dort gelangt das Wasser über kleine Kunststoffschläuche in das Leitungssystem der aufgesetzten Übertragungsinstrumente. Hierbei wird es als Kühlmittel in einem gerichteten Strahl auf die rotierenden Schleifer geleitet oder in Kombination mit Druckluft in der Luft-Wasser-Spritze (LWS) zum Abspülen der Zahnoberflächen verwendet. Auf der Helferinnenseite wird mit dem durch die Desinfektionsanlage geflossenen Wasser u. a. der Mundspülbecher (Mundglasfüller (MGF)) des Patienten gefüllt.



a)



b)

Abbildung 1.1 – Abbildung a): Foto einer zahnärztlichen Behandlungseinheit (BEH), Abbildung b): schematische Darstellung einer BEH, AK: Anschlusskasten, DA: Desinfektionsanlage, AE: Arztelement

1.2 Allgemeine Wasserqualität

Weltweit werden jährlich rund eine Milliarde Erkrankungen und drei Millionen Todesfälle durch verunreinigtes Wasser angenommen [4]. Im Wasser wurden Mikroorganismen wie Pilze, Algen, Protozoen (Amöben), Viren und zahlreiche Bakterienarten nachgewiesen [4]. Einige dieser Mikroorganismen können beim Menschen Krankheiten verursachen, also human pathogen sein. Andere Mikroorganismen wiederum lösen vor allem bei Immungeschwächten Krankheiten aus und zählen daher zu den opportunistischen Krankheitserregern.

Unter den Protozoen können Cryptosporidien (meldepflichtig: *Cryptosporidium parvum*) und Giardia (meldepflichtig: *Giardia lamblia*) für trinkwasserbedingte Magen-Darm-Infektionen verantwortlich sein. Bei den Viren können nach oraler Aufnahme Hepatitis A und E, Poliomyelitis-, enterale Adeno-, Coxsackie-, Rota- und Enteroviren Erkrankungen beim Menschen auslösen. Meist stammen die durch Trinkwasser verbreiteten Viren aus menschlichen Ausscheidungen. Zu den krankheitsauslösenden Bakterien im Wasser zählen u. a. pathogene Escherichia coli-Stämme wie enteropathogene *E. coli* (EPEC), enterotoxinbildende *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) und enteroaggregative *E. coli* (EAEC). Aber auch Clostridien, Salmonellen, Cholera-Vibrionen, Shigellen, Campylobacter, atypische Mykobakterien, *Pseudomonas aeruginosa* und Legionellen gehören dazu. Während einige der *E. coli*-Stämme Durchfall hervorrufen, führt eine Infektion mit Clostridien zu schwerwiegenden Gasbrandinfektionen, nekrotisierenden Pneumonien oder der gangränösen Cholezystitis [4].

Einige dieser Krankheitserreger führen erst zur Gefährdung der menschlichen Gesundheit, wenn sie in einer erhöhten Konzentration im Wasser vorhanden sind. Andere Krankheitser-

reger wiederum können bereits in einer geringeren Anzahl Krankheiten auslösen oder sind in der Lage, sich im Wassersystem auf eine krankheitsauslösende Konzentration zu vermehren. Die Anzahl an Erregern, die eine Infektion bzw. eine Erkrankung auslöst, wird Infektionsdosis genannt.

1.3 Wasser aus der zahnärztlichen Behandlungseinheit

Wasser aus BEH wird seit einiger Zeit regelmäßig hinsichtlich der mikrobiologischen Qualität überprüft. Hierfür wird meist eine Probe des zu untersuchenden Wassers auf einem geeigneten Kulturmedium so verteilt, dass die enthaltenen Mikroorganismen möglichst separat zum Liegen kommen. Anschließend können sich die Mikroorganismen bei geeigneten Kulturbedingungen auf diesem Nährboden vermehren. Dadurch werden auf dem Kulturmedium Kolonien sichtbar, die gezählt werden können. Da der Fall eintreten kann, dass einige Mikroorganismen auch sehr dicht beieinander zum Liegen kommen und beim Wachstum zu einer einzigen Kolonie verschmelzen, kann nicht die tatsächliche Anzahl der Mikroorganismen, sondern lediglich die Anzahl der „Kolonienbildenden Einheiten“ (KBE), die sogenannte Koloniezahl, bestimmt werden.

In Proben von BEH konnten Koloniezahlen von bis zu 10^5 KBE/ml nachgewiesen werden [5–27]. Bei diesen Kolonien kann es sich um unterschiedlichste Mikroorganismen handeln, von denen einige in der Tabelle 1.1 aufgeführt sind. Wie aus dieser Tabelle zu entnehmen ist, werden im Wasser aus BEH auch opportunistische und human pathogene Erreger wie *Pseudomonas aeruginosa* oder Legionellen nachgewiesen. Diese Erreger sollten weder im Trinkwasser noch im Wasser von BEH vorhanden sein. Insbesondere bei der zahnärztlichen Behandlung kann es nicht nur verschluckt, sondern auch die sich bildenden Aerosoltropfen eingeatmet werden.

Das Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* wird als ein Hauptverursacher von nosokomialen Infektionen angesehen [28–32] und kann schwere Pneumonien, Wund-, Augen- und Ohreninfektionen hervorrufen. Dabei weist die nosokomiale Pneumonie, und noch gravierender, eine ausgelöste Sepsis eine hohe Mortalität auf [28]. *Pseudomonas aeruginosa* ist ein gramnegatives Stäbchenbakterium, welches ca. 1 - 3 μm lang und 0,5 - 1,0 μm breit [28] ist. Die Infektionsdosis beträgt etwa 10^4 - 10^8 Bakterien [4]. Die optimale Wachstumstemperatur des Erregers liegt zwischen 15 °C bis 30 °C und es siedelt sich vorrangig an den Wasser-Luft-Grenzflächen von Duschköpfen, Wasserhähnen, Waschbecken und Luftbefeuchtern an.

In BEH nachgewiesene Mikroorganismen	mögliche Infektionen
Achromobacter [33]	Abszess
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> [10, 27]	Wundinfektion
<i>Acinetobacter</i> spp. [34, 35]	Wundinfektion
<i>Aeromonas</i> spp. [27, 34, 35]	Wundinfektion, Sepsis
Alcaligenes [27, 33, 34]	Wundinfektion, Sepsis
<i>Bacillus</i> spp. [27, 36]	Lebensmittelvergiftung und enterotoxische Gastroenteritis, Anthrax (Milzbrand), Meningitis, Bakteriämie, Endokarditis, Pneumonie, Weichteilinfektion, Konjunktivitis, Keratitis-Ulzera, Panophthalmitis
Enterococci [37]	Harnwegsinfekt, Sepsis, Endokarditis
<i>Flavobacterium</i> [34, 35]	Meningitis, Bakteriämie
Legionellen [6, 9, 12, 38–47]	Legionärskrankheit, Pittsburg-Pneumonie, Pontiac-Fieber
<i>Methylobacterium mesophilicum</i> [10, 27]	Bakteriämie, Sepsis
<i>Micrococcus luteus</i> [36, 48]	Infektion der Haut
<i>Moraxella lacunata</i> [48]	Diplobazillenkongunktivitis
<i>Moraxella</i> spp. [48, 49]	Bakteriämie, Endokarditis, Arthritis
<i>Mycobacterium</i> spp. [50]	Tuberkulose, Lepra, Lungenkrankheiten
<i>Ochrobactrum</i> [27, 35, 49]	Bakteriämie
<i>Pasteurella</i> [35, 49]	Weichteilinfektion, Regionale Lymphadenitis
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [9–11, 39, 51–53] [5, 27, 43, 44, 47]	Cystische Fibrose, Kolonisierung von Verbrennungswunden, Endokarditis, Postoperative Wundinfektion, Maligne Otitis externa, Harnwegsinfektion, Pneumonie, Sepsis
<i>Pseudomonas</i> spp. [27, 33, 36, 49, 52]	Pneumonie, Otitis, Wundinfektion
<i>Ralstonia pickettii</i> [27, 48]	Pneumonie, Meningitis, Endokarditis, Osteomyelitis, Kathetersepsis
<i>Serratia marcescens</i> [39]	Harnwegsentzündung, Sepsis, Pneumonie, Endokarditis, Meningitis, Osteomyelitis
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> [10, 27, 36, 48]	Sepsis
<i>Staphylococcus</i> spp. [48]	Abszess, Furunkel, Karbunkel, Wundinfektion, Fremdkörperinfektion, Endokarditis, Sepsis, Osteomyelitis, Harnwegsinfektion, nosokomiale Infektion
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (Xanthomonas) [12, 48]	Pneumonie, Harnwegsinfektion, Septikämie
<i>Streptococcus mitis</i> [37]	Zahnerkrankungen, Thrombophlebitis, Meningitis, subakute Endokarditis
<i>Streptococcus salivarius</i> [37]	Karies, Sepsis

Tabelle 1.1 – Mikroorganismen, die im Wasser von BEH nachgewiesen wurden sowie durch diese möglicherweise ausgelöste Infektionen

Dabei ist *Pseudomonas aeruginosa* auch in der Lage, sich im Wasser oder sogar in einigen Desinfektionslösungen [28] zu vermehren und einen flächenhaften „Belag“ auf den Wänden von wasserführenden Systemen zu bilden [4]. Die Übertragung von *Pseudomonas aeruginosa* kann über nicht sachgemäß aufbereitetes medizinisches Instrumentarium [54] oder direkten Kontakt mit verunreinigtem Wasser [55, 56] erfolgen.

MARTIN [53] berichtete von zwei Patienten, bei denen es zu einer Wundinfektion mit *Pseudomonas aeruginosa* durch die zahnärztliche Behandlung kam. Zudem konnte er die Übertragung von *Pseudomonas aeruginosa* aus der BEH auf Patienten feststellen, die sich einer zahnärztlichen Behandlung unterzogen hatten.

Pseudomonas aeruginosa kann ebenfalls in den im Wasser nachgewiesenen Amöben in hoher Konzentration enthalten sein. So wies MICHEL [57] die „natürliche Infektion von Akanthamoeben aus unterschiedlichen aquatischen Habitaten“ mit *Pseudomonas aeruginosa* nach.

ANAND et al. [58] verdeutlichten in ihrer Studie, dass sich Akanthamoeben auch mit Legionellen infizieren können. Geschützt in den Amöben können sich die Legionellen bei Temperaturen von 35 °C in diesen problemlos vermehren [28, 58]. „In einer einzigen Amöbe können Hunderte Legionellen vorkommen“ [59]. Stirbt die Wirts-Amöbe ab, werden die Legionellen schwallartig in hohen Konzentrationen freigesetzt [4]. Demgegenüber würde die Amöbe die Legionellen bei circa 20 °C phagozitieren und verdauen [58]. In einer Untersuchung von BARBEAU und BUHLER [60] wurde eine ca. 300 mal höhere Anzahl an Amöben in Wasser von BEH als im Trinkwasser nachgewiesen. Wenn Legionellen nachgewiesen werden konnten, so befanden sich diese zu 90 % im Biofilm (häufig in Amöben) eingebunden und nur zu 10 % frei im Wasser. Durch die Amöben und den fragmentartigen Abriss vom Biofilm können die Legionellen in hoher Konzentration in das Wasser von BEH gelangen. Diese gramnegativen Stäbchenbakterien sind der Erreger der Legionärskrankheit, der Pittsburgh-Pneumonie und des Pontiac-Fiebers. Ihre optimale Wachstumstemperatur beträgt 25 °C bis 42 °C [61]. Das Einatmen erregerrhaltiger und lungengängiger Aerosole aus dem Warmwasserbereich wird als Hauptinfektionsweg angesehen. RICCI et al. [62] berichteten 2012 über den tödlichen Ausgang einer Pneumonie, welche durch eine Legionelleninfektion ausgelöst wurde. Die Infektion konnte auf eine zahnärztliche Behandlung zurückgeführt werden.

In einem Review von DEPAOLA [63] werden DUCHAINE et al. [64] zitiert, welche die Versprengung von Biofilmfragmenten und Mikroorganismen in den Sprühnebel durch den zahnärztlichen Behandlungsprozess beschreiben. Laut DUTIL et al. [65] ist das zahnärztliche Team während der Behandlung einigen tausend versprengten Mikroorganismen pro cm³ Luft ausgesetzt. Gelangen Legionellen in die Alveolen, werden sie nach pilusvermittelter Adhärenz von Alveolarmakrophagen aufgenommen (coiling phagocytosis). Dabei kommt es nicht zur intrazellulären Abtötung, sondern es wird eine Entzündungsreaktion mit Akkumulation von

neutrophilen Granulozyten und Makrophagen induziert. Daraufhin kann eine septische Absiedlung des Erregers aus dem primären Herd in tiefere Organe (Herz, Leber und Darm) erfolgen [28].

Nach REINTHALER et al. [66,67] sowie LÜCK et al. [68] besitzt das zahnärztliche Personal mehr Antikörper gegen Legionellen als Personal, welches nicht im medizinischen Bereich arbeitet. Dies wird mit den beim zahnärztlichen Arbeiten entstehenden Aerosolen in Verbindung gebracht. FOTOS et al. [69] fanden zudem heraus, dass das Infektionsrisiko proportional mit der in der zahnärztlichen Klinik verbrachten Zeit ansteigt.

1.4 Biofilmentstehung

Wird in die BEH sauberes Trinkwasser eingeleitet, aber stark belastetes Behandlungswasser entnommen, so muss ein Verunreinigungsprozess innerhalb der dentalen Einheit stattfinden [52]. Hierfür wird die älteste nachgewiesene Lebensgemeinschaft, der Biofilm, verantwortlich gemacht. Dieser besteht aus Bakterien, Protozoen, Pilzen, extrazellulären polymeren Substanzen, anorganischen und organischen Partikeln sowie aus Anionen, Kationen und Gasen. Der Biofilm gilt als das primäre Reservoir für mikrobiologische Verunreinigungen von Wasserversorgungssystemen. Eine Studie von WILLIAMS et al. [70] zeigte bei neu installierten BEH einen progressiven Aufbau eines Biofilms innerhalb der ersten Wochen. Es sind bisher keine Materialien für wasserführende Systeme bekannt, auf denen sich nicht über die Zeit Biofilme entwickeln [4]. 1979 wurde von FLETCHER und LOEB [71] eine Arbeit veröffentlicht, aus der hervorgeht, dass es auf allen von ihnen untersuchten Oberflächen (Teflon, Polyethylen, Polystyren, Polyethylenterephthalat, Platin, Germanium, Glas, Schichtsilikaten, oxidierten Kunststoffen) zu einer Anhaftung von *Pseudomonas* Subspezies gekommen ist. Oberflächen, die einem wässrigen Medium mit Nährstoffen ausgesetzt sind, werden rasant mit organischen oder anorganischen Bestandteilen überzogen [72]. Danach können sich planktonische Bakterien über physikalische und chemische Anheftungsprozesse anlagern. Hierbei nutzen diese ihre Fimbrien, Pili [73,74], Adhäsine oder lediglich Van-der-Waals-Kräfte [75].

Die für die Entstehung des Biofilms notwendigen Erstbesiedler können aus den öffentlichen Trinkwasser- und den Hausinstallationsnetzen oder aber auch aus der Mundhöhle des Patienten stammen [25,26,76,77]. Im „Bericht des Bundesministeriums für Gesundheit und des Umweltbundesamtes an die Verbraucherinnen und Verbraucher über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser) in Deutschland“ wird ein Dreijahresrückblick über die Gesamtqualität des Trinkwassers in Deutschland dargelegt [76]. Diesem ist zu entnehmen: im Allgemeinen ist Trinkwasser „keimarm“ aber selten „keimfrei“. Hierbei gelangen

die Mikroorganismen aus der zentralen Wasserversorgung in die Hausinstallationssysteme. Ebenso können diese auch bei Installationen von neuen Rohrleitungen eingebracht werden. Bei Untersuchungen von EXNER et al. [77] wurden in 16 % der neu verlegten Rohrleitungen *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen. Wenn eine BEH mit destilliertem Wasser aus separaten Behältern betrieben wird, können Bakterien gleichfalls in das Leitungssystem gelangen. Hierfür werden die noch häufig in BEH vorhandenen, aus hygienischer Sicht nicht zu empfehlenden, Rücksaugventile verantwortlich gemacht [78]. Diese saugen beim Loslassen des Bohrantriebes eine geringe Menge an Kühlwasser in das Winkelstück zurück, um ein Nachtropfen auf den Patienten zu verhindern. Somit werden aber auch Bakterien der Mundhöhle und Blutbestandteile des Patienten in das Leitungssystem zurückgesaugt, die dann zu einer retrograden Kontamination führen können. Zudem kann die BEH bereits durch die vom Hersteller durchgeführte Nassprüfung kontaminiert werden.

Konnten sich die Erstbesiedler etablieren, kommt es vorerst zu einer Ruhephase, an die sich eine logarithmische Wachstumsphase anschließt [79]. In dieser ändern einige der Bakterienarten ihren Phänotyp [79,80] und es kommt zur gesteigerten Extrapolysaccharidbildung [81]. Diese steigert die Wandhaftung und das viskoelastische Verhalten. Letzteres behindert ein Wegspülen durch fließendes Wasser, da die kinetische Energie des vorbeiströmenden Wassers gut absorbiert werden kann. Zudem ermöglichen die Extrapolysaccharide eine gesteigerte Adsorption von Nährstoffen [82].

In der anschließenden Plateauphase besteht ein Gleichgewicht zwischen stetiger Anlagerung und Ablösung. Es resultiert ein flächenhafter Belag mit einer Schichtstärke um die 50 μm [4, 75, 83]. Laut FLEMMING [83] schwankt die Bakteriendichte im Biofilm von ca. $10^7 - 10^{10}$ KBE/ml Biofilm-Masse. Der entstandene „schleimige“ Schutzwall stellt aber auch eine hartnäckige Barriere gegen antimikrobielle Substanzen dar. Studien haben gezeigt, dass eine vielfach höhere Konzentration des Antibiotikums gegen mikrobielle Zellen in einem Biofilm eingesetzt werden muss als für die gleichen Zellen in der planktonischen Phase [84, 85]. ANWAR und COSTERTON [86] konnten bei Untersuchungen an Biofilmen, bestehend aus *Pseudomonas aeruginosa*, zudem einen Zusammenhang vom Alter des Biofilms und der Empfindlichkeit gegen Antibiotika darstellen. Sie legen nahe, dass die Behandlung von Biofilm-assoziierten Infektionen am besten so früh wie möglich durchgeführt werden sollte, da ein neu gebildeter Biofilm durch höher konzentrierte Antibiotikagabe beseitigt werden kann. Eine Verzögerung der Antibiotika-Therapie kann hingegen zum Versagen der Behandlung führen.

In der Arbeit von COSTERTON et al. [87] wird ein strukturierter Aufbau von Biofilmen gezeigt. Er verdeutlicht, wie im Biofilm einerseits gleichartige Bakterien in Zellhaufen (sog. Zellclustern) zusammen lagern und andererseits durch zellfreie Bereiche (Kanäle) voneinander getrennt sind. Bei der Untersuchung eines aus *Pseudomonas aeruginosa* bestehenden

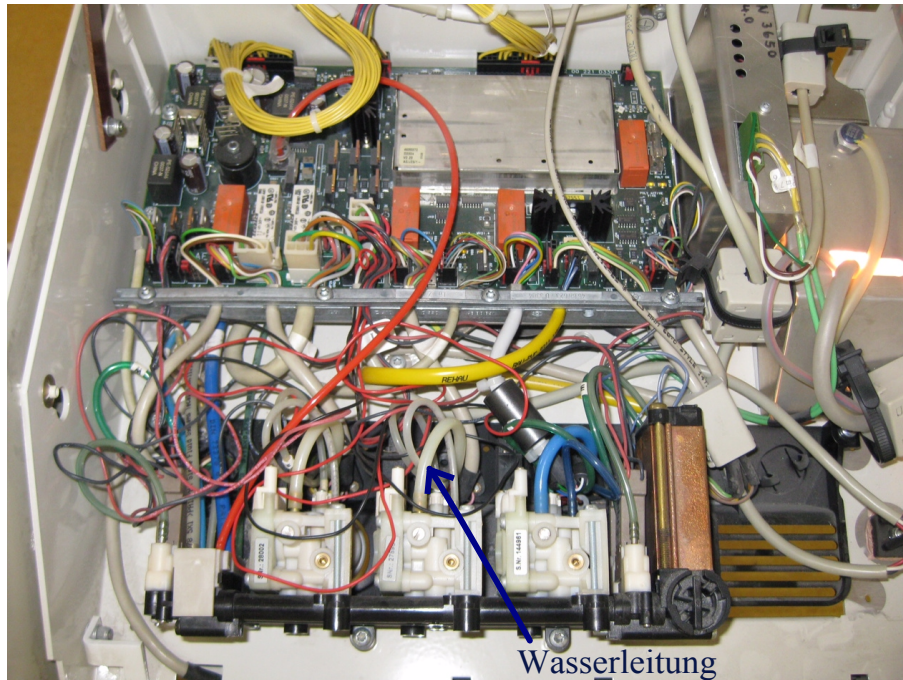


Abbildung 1.2 – Leitungssysteme im Arztelement

Biofilmes konnten die Autoren in den verschiedenen Bereichen unterschiedliche Sauerstoffkonzentrationen feststellen. Hierbei nutzten sie eine auf gelösten Sauerstoff sensitive Mikroelektrode. Während in zellreichen Bezirken anaerobe Verhältnisse vorhanden sind, fehlten diese in den Bereichen der sogenannten Wasserkanäle. Diese verschiedenen Bedingungen im Biofilm begünstigen Neuansiedlungen unterschiedlicher Bakterienarten und stellen ein Reservoir neuer Bakteriengenerationen dar [79, 88].

Begünstigt wird der Entstehungs- und Wachstumsprozess des Biofilmes in BEH durch lange Stagnationszeiten, z. B. über Nacht, an den Wochenenden oder den Urlaubszeiten [89]. Zudem stellen die in den BEH verwendeten ansiedlungsfreundlichen Kunststoffschläuche ein besonderes Biofilmbildungspotenzial dar [71].

Laut WALKER und MARSH [75] werden in einer BEH sechs Meter Polyurethan oder PVC-Schläuche verbaut. Wie in der Abbildung 1.2 gezeigt und auch von WALKER, MARSH [75] und COLEMAN et al. [90] beschrieben, sind diese Schläuche meist sehr klein und haben einen sehr geringen inneren Durchmesser von ca. 2 mm. Dadurch weisen diese ein biofilmbegünstigendes Oberflächen-Volumen-Verhältnis auf [63, 91]. DEPOLA et al. [63] zitieren in ihrem Review Dr. Barbeau, der berichtet, dass der Biofilm sich somit auf einer großen Fläche ausbreiten kann, während die sich ablösenden Zellen und Fragmente in ein geringes Volumen abgegeben werden und somit das Leitungswasser enorm kontaminieren können. Weitere für den Biofilm wachstumsfördernde Faktoren sind die Erwärmung des Wassers innerhalb der BEH [52], nicht korrosionsbeständige Leitungen sowie Toträume und Reservoirs, in denen Wasser stagnieren kann.

1.5 Regeln, Vorschriften und Empfehlungen

Um Infektionen durch Wasser aus einer BEH zu vermeiden, wurde in den USA 1995 durch die American Dental Association (ADA) [92] ein Richtwert eingeführt, der besagt, dass Behandlungswasser ab dem Jahr 2000 nicht mehr als 200 KBE/ml enthalten sollte. Dieser Richtwert wurde 2003 durch die „Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings 2003“ der CDC (Centers for Disease Control and Prevention) auf ≤ 500 KBE/ml angehoben [93]. Dabei hat sich die CDC an den Standards der EPA (Environmental Protection Agency), APHA (American Public Health Association) und AWWA (American Water Works Association) orientiert, die für sicheres Trinkwasser in den USA eine Koloniezahl von ≤ 500 KBE/ml festgelegt haben [93]. Diesem Wert hat sich 2004 die ADA ebenfalls angeschlossen.

Für Deutschland liegt nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) die Zuständigkeit für Wasser aus BEH bei der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch-Institut (KRINKO) [94]. Die KRINKO veröffentlichte 2006 eine Empfehlung zur „Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderung an die Hygiene“ [95]. 2015 kommentiert die Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF) [96] diese Empfehlung mit ihrer Leitlinie: „Hygienische Anforderungen an das Wasser in zahnärztlichen Behandlungseinheiten“. Beide Richtwerke fordern, dass Wasser bei der Einspeisung in die BEH der Qualität von Trinkwasser zu entsprechen hat. Hinsichtlich der mikrobiologischen Anforderungen bedeutet dies: im Trinkwasser „dürfen Krankheitserreger ... nicht in Konzentrationen enthalten sein, die eine Schädigung der menschlichen Gesundheit besorgen lassen“. Ebenso sollten in 100 ml Trinkwasser keine *Escherichia coli*, Enterokokken und andere coliforme Bakterien nachweisbar sein. Für die Koloniezahl bei 22 °C und 36 °C gilt der Richtwert von ≤ 100 KBE/ml [97].

Das Wasser der BEH ist nach TrinkwV [97] nicht mehr Teil der Trinkwasserinstallation. Da es hohe mikrobiologische Kontaminationen aufweisen kann, muss es gemäß DIN EN 1717 [98] vom Trinkwasser durch einen sogenannten „ungehinderten Freien Auslauf“ getrennt werden. Dementsprechend wird das Wasser der BEH als Betriebswasser bezeichnet [96].

Gemäß der KRINKO-Empfehlung [95] und der AWMF-Leitlinie [96] wird eine jährliche mikrobiologische Überprüfung des Wassers an einer Entnahmestelle pro BEH bei 36 °C als ausreichend angesehen. Dabei soll die Koloniezahl von 100 KBE/ml nicht überschritten werden und weniger als eine KBE Legionellen/ml nachweisbar sein.

Um die mikrobielle Verunreinigung im Behandlungswasser zu reduzieren, fordern die KRINKO und die AWMF, die BEH zu Beginn eines jeden Arbeitstages (ohne aufgesetzte Übertragungs-

instrumente) an allen Entnahmestellen (auch am Mundglasfüller) für etwa zwei Minuten zu spülen. Diese Vorgabe wird durch Untersuchungen von BARBEAU et al. [10] gestützt, durch die nachgewiesen werden konnte, dass eine erhebliche Bakterienreduktion bereits nach zwei Minuten Spülzeit gelingt. Zwischen den Patienten soll eine Spülzeit von 20 Sekunden eine mikrobielle Kontamination der wasserführenden Systeme durch die Behandlung des vorangegangenen Patienten vermindern. Zudem wird der Einsatz von Desinfektionsmitteln empfohlen, die ihre Wirksamkeit unter praxisnahen Bedingungen nachgewiesen haben.

Die Behandlung von immunsupprimierten Patienten darf gemäß der KRINKO [95] und der AWMF [96] nur mit Wasser erfolgen, welches frei von Legionellen, Cryptosporidien und Pseudomonaden ist. Bei Patienten, an denen chirurgische Eingriffe vorgenommen werden und bei Patienten mit erhöhtem Infektionsrisiko, sind sterile Lösungen zu verwenden.

Durch die Änderung des IfSG im Juli 2011 wird die Rolle der KRINKO gestärkt und die bisher als Empfehlung dienenden Richtlinien erhalten einen verbindlichen Gesetzescharakter, denn „Die Einhaltung des Standes der medizinischen Wissenschaft auf diesem Gebiet wird vermutet, wenn jeweils die veröffentlichten Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut und der Kommission Antiinfektiva, Resistenz und Therapie beim Robert Koch-Institut beachtet worden sind“ [94].

1.6 Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren

Bislang wurden mehrere Methoden vorgeschlagen, um im Wasser von BEH Koloniezahlen unter 100 KBE/ml zu erzielen. In den Untersuchungen an Biofilmen von Exner et al. [99] erwies sich eine mechanische Reinigung im Vergleich zur chemischen Desinfektion als effizienter. Jedoch ist eine regelmäßige mechanische Reinigung des engen Schlauchsystems durch den komplexen Aufbau einer BEH im Praxisalltag kaum möglich (siehe Abbildung 1.2). Daher gilt als Infektionsprävention u. a. das regelmäßige Durchspülen der wasserführenden Systeme und der Einsatz von Desinfektionsmitteln, deren Wirksamkeit unter praxisnahen Bedingungen getestet wurde [95]. Dabei soll die Desinfektion „das Abtöten bzw. irreversible Inaktivieren aller Erreger übertragbarer Infektionskrankheiten“ gewährleisten [100]. Hierfür müssen bei einem Desinfektionsmittel die Mikroorganismen um fünf Logarithmenstufen reduziert werden, um einer Desinfektion zu entsprechen.

In der BEH dient das Desinfektionsmittel zur Aufrechterhaltung der mikrobiologischen Qualität des zugeführten Wassers und „ist nicht geeignet, aus kontaminiertem Wasser ein Wasser mit Trinkwasserqualität zu erzeugen“ [96].

Die Wirkmechanismen chemischer Desinfektionsmittel beruhen auf:

1. Eiweißdenaturierung (Aldehyde, Alkohole),
2. Schädigung der Zytoplasmamembran (Chlorhexidin),
3. Protoplasmavergiftung (Phenole) oder
4. einer oxidierenden Wirkung (Chlor, Ozon, Persäuren).

In BEH finden häufig solche Desinfektionsmittel Anwendung, die auf einer oxidierenden Wirkung basieren. So wird heutzutage vielfach das in mehreren Studien [11,17,18,20,39,101,102] untersuchte Wasserstoffperoxid zur chemischen Wasserdesinfektion in BEH eingesetzt. Auch an der Zahnklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin ist es das Standarddesinfektionsmittel und dient in der vorliegenden Arbeit als Referenzverfahren.

Da das Wasser in BEH nicht mehr als Trinkwasser sondern als Betriebswasser gilt, können hier bei der Desinfektion auch solche chemischen Zusätze (z. B. Wasserstoffperoxid) zum Einsatz kommen, die bei der Trinkwasserdesinfektion nicht zugelassen wären. Dennoch gelangt das Wasser bei fast jeder Behandlung in den Mund des Patienten und wird dabei auch nicht selten von diesem verschluckt. Daher wäre es wünschenswert, auch in BEH eine wirksame Desinfektion mit den zur Trinkwasserdesinfektion zugelassenen Stoffen und Verfahren (siehe Tabelle 1.2) zu erzielen.

Stoffe zur Desinfektion	Desinfektionsmittelverfahren
Chlor	elektrolytische Herstellung und Dosierung von Chlor vor Ort, Dosierung von Chlorgaslösungen
Natriumhypochlorit	Dosierung von Natriumhypochloritlösung
Calciumhypochlorit	Dosierung von Calciumhypochlorit
Chlordioxid	Dosierung einer vor Ort hergestellten Chlordioxidlösung
Ozon	Erzeugung und Dosierung von Ozon und Ozonlösung vor Ort, UV-Bestrahlung (240-290 nm)

Tabelle 1.2 – Desinfektionsmittel und -verfahren gemäß der Liste des Umweltbundesamtes nach § 11 TrinkwV [97]

Daher wurden in der vorliegenden Arbeit neben Wasserstoffperoxid zwei Desinfektionsverfahren an BEH untersucht, die laut Herstellerangaben auch bei der Trinkwasserdesinfektion zulässig sind. Bei einem dieser Verfahren kommt es zum Einsatz von Natriumhypochlorit (NaClO). Reagiert diese flüssige Form des Chlors mit Wasser, entsteht, wie auch beim gasförmigen Chlor (Cl₂) (siehe Gleichung 1.1) oder beim festen Calciumhypochlorit (Ca(ClO)₂) (siehe Gleichung 1.2), hypochlorige Säure (HClO)(siehe Gleichung 1.3).



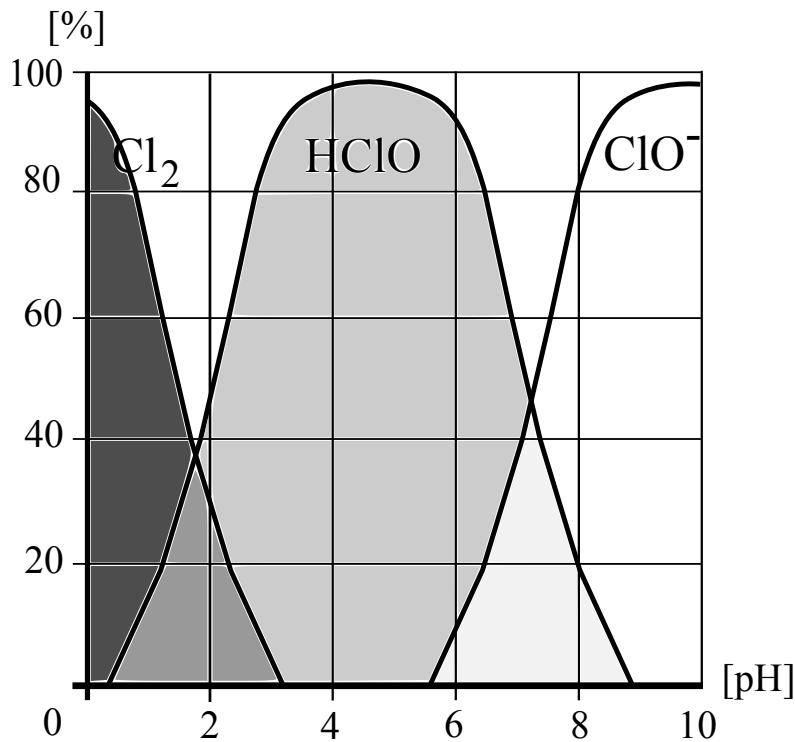
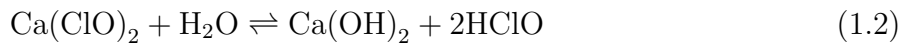


Abbildung 1.3 – Dissoziation von Chlor im Wasser (nach Axt [103])



Diese hypochlorige Säure ist die „eigentliche Wirksubstanz“ mit starker oxidativer und sehr guter bakterizider, viruzider und fungizider Wirkung. In welcher Form sie im Wasser vorliegt ist u. a. von der Temperatur und dem pH-Wert abhängig. Die Abhängigkeit vom pH-Wert ist in Abbildung 1.3 dargestellt. Diese zeigt, dass sie bei niedrigen pH-Werten als gelöstes Chlor und bei höheren pH-Werten als hypochlorige Säure vorliegt. Bei pH-Werten über dem Neutralbereich sinkt der Anteil an hypochloriger Säure stark und der Anteil an Hypochlorit (ClO^-) nimmt zu.

Neben dem pH-Wert ist auch der Verschmutzungsgrad des Wassers für die Desinfektion mit Natriumhypochlorit entscheidend. Ist im Wasser Ammonium (NH_4^+) enthalten, reagiert die hypochlorige Säure zuerst mit diesem. Hierbei entstehen Substanzen, deren Chlor man als „gebundenes Chlor“ bezeichnet. Diese unerwünschten Nebenprodukte haben keine desinfizierende Wirkung. Zudem führen sie zu geruchlicher und geschmacklicher Beeinträchtigung. Erst, wenn alle Ammoniumverbindungen oxidiert worden sind, ist bei weiterer Zugabe von

Chlor wieder „freies wirksames Chlor“ vorhanden.

Zur Desinfektion von Trinkwasser wird entweder Chlorgas oder eine Natriumhypochloritlösung mit circa 150 - 170 g/l „wirksamen Chlores“ eingesetzt. In der zahnärztlichen Praxis ist Chlorgas nicht praktikabel. Die gebrauchsfertige Lösung von Natriumhypochlorit ist sehr instabil, da sie bei Wärme- und Lichteinwirkung oder Verunreinigung zersetzt wird. So besteht bei einer Temperatureinwirkung von 25 °C ein täglicher Verlust von 2 g/l „wirksamen Chlores“ [4]. Demensprechend haben Natriumhypochloritlösungen nur eine eingeschränkte Transport- und Lagerfähigkeit. Dies erschwert wiederum den Einsatz in BEH.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neu entwickeltes Verfahren getestet, durch welches Natriumhypochlorit direkt „vor Ort“ hergestellt und anschließend der BEH sofort und nach Bedarf zugeführt werden kann. Dieses Verfahren nutzt eine Variante der Chlor-Elektrolyseanlagen, die alle auf dem Prinzip der chemischen Elektrolyse beruhen. Hierbei wird durch Anlegen eines elektrischen Gleichstromes eine chemische Reaktion der in einer leitenden Lösung enthaltenen Stoffe erzwungen. Es kommt zu Oxidationsreaktionen an der Anode und Reduktionsreaktionen an der Kathode.

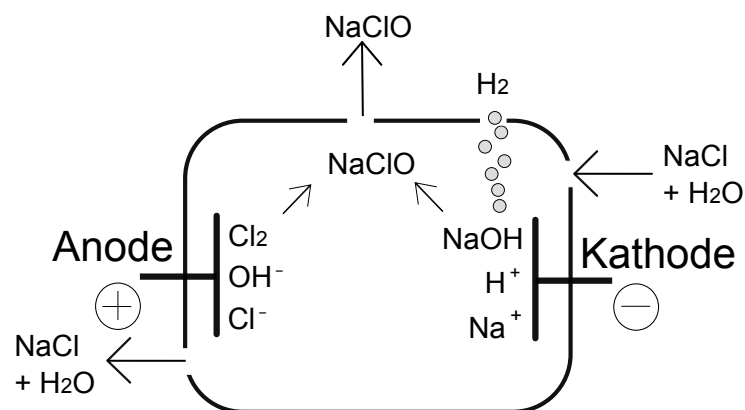
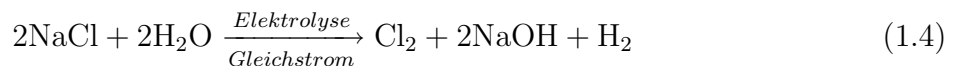
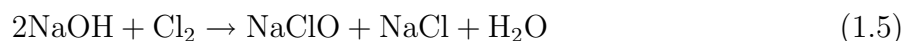


Abbildung 1.4 – Schematische Darstellung einer Rohrzellen-Elektrolyseanlage, bei der Anode und Kathode in einer Rohrzelle angeordnet sind [4]



Zur Herstellung von Natriumhypochlorit kann eine, wie in Abbildung 1.4 dargestellte Rohr-Elektrolysezelle oder aber auch eine wie in Abbildung 1.5 gezeigte Membranzellen-Elektrolyse

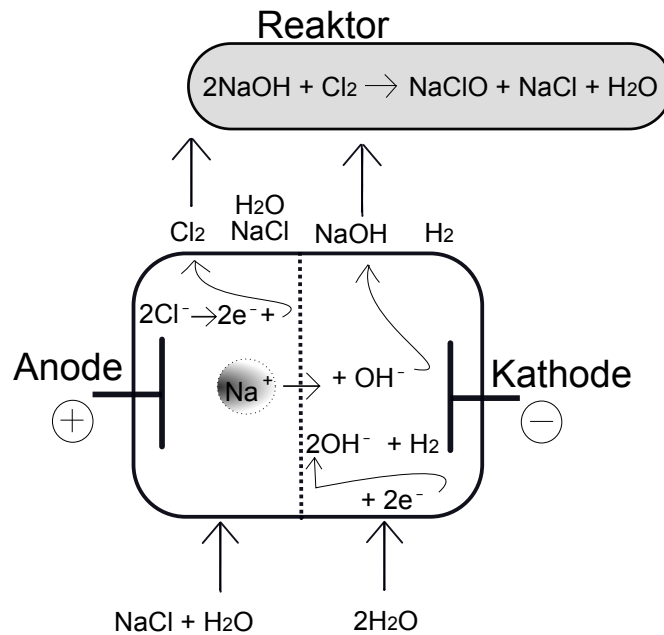


Abbildung 1.5 – Schematische Darstellung einer Membranzellen-Elektrolyse, bei der Anode und Kathode räumlich durch eine Membran getrennt sind [4]

genutzt werden. Bei beiden Varianten wird Salzsäure (NaCl) als leitende Lösung eingesetzt. Diese wird bei der Membranzellen-Elektrolyse nur in den Anodenraum eingeleitet, während bei der Rohr-Elektrolysezelle die gesamte Elektrolysezelle damit gespeist wird. Daher können hier beim Anlegen von Gleichstrom die aufgezeigten Reaktionen in der gesamten Rohr-Elektrolysezelle ablaufen, während dies bei der durch eine Membran getrennte Variante verhindert wird. Hier läuft die in Gleichung 1.5 dargestellte Reaktion erst in einem gesonderten Reaktor ab (siehe Abbildung 1.5). Dies wiederum ermöglicht eine Einflussnahme auf den Herstellungszeitpunkt und die Dosierung des erwünschten Natriumhypochlorites. In der vorliegenden Arbeit konnte eine auf dem Grundprinzip der Membranzellen-Elektrolyse hergestellte Natriumhypochloritlösung an BEH getestet werden.

Ein weiteres hier getestetes Desinfektionsmittel, welches auch bei der Trinkwasserdesinfektion eingesetzt wird, ist Chlordioxid. Chlordioxid reagiert nicht wie Chlor bzw. hypochlorige Säure mit Ammonium oder Ammoniumverbindungen zu Chloraminen, welche geruchsbeeinträchtigend sind und auch erst vollständig oxidiert werden müssen, bis wieder „frei wirksames Chlor“ zur Desinfektion vorhanden ist. Zudem besitzt Chlordioxid eine stärkere Oxidationswirkung als Chlor bzw. hypochlorige Säure, weshalb Chlordioxid auch auf solche Substanzen und Mikroorganismen einwirken kann, die vom Chlor bzw. der hypochlorigen Säure nicht mehr angegriffen werden. Des Weiteren nimmt die Wirkung von Chlordioxid bei steigendem pH-Wert nicht so stark ab wie bei Chlor bzw. der hypochlorigen Säure [4].

Allerdings können bei der Wasserdeseinfektion mit Chlordioxid die unerwünschten und als gesundheitsschädlich geltenden Reaktionsnebenprodukte Chlorit und Chlorat entstehen. Außerdem ist Chlordioxid nicht stabil und ab einem Anteil von 10 Vol.-% in der Luft kann sich Chlordioxid explosionsartig in Chlor und Sauerstoff zersetzen. Daher wird in der Trinkwasseraufbereitung Chlordioxid nur in Form von wässrigen Lösungen verwendet. Auch hier können Reaktionen mit der an der Oberfläche der Lösung angrenzenden Luft ablaufen. Daher sind Chlordioxidlösungen ab 30 g/l als explosiv zu bewerten. Auch Lösungen mit mehr als 8 g/l sind als kritisch zu betrachten [4]. Aus diesem Grund ist Chlordioxid nur bedingt lager- und transportfähig.

Bei der Trinkwasseraufbereitung stellen die Unternehmen Chlordioxid in einem Reaktor direkt „vor Ort“ her. Bei dieser Herstellungsweise entstehen immer noch explosionsgefährdete Konzentrationen zwischen 6 und 20 g/l [4], die eine aufwändige Anlagentechnik erfordern. Diese ist teuer, muss in feuersicheren Räumen untergebracht werden und verlangt eine kostenintensive Wartung. Außerdem bildet sich bei der ursprünglichen Herstellungsweise eine stark saure, chloridhaltige Chlordioxidlösung mit korrosiver Wirkung und geringer Stabilität, welche die empfindlichen Leitungssysteme einer BEH schädigen können. Aus diesen Gründen wurde Chlordioxid bisher bei der Desinfektion des Wassers von BEH nicht eingesetzt.

Durch die Entwicklung einer neuen Verfahrenstechnik kann Chlordioxid ohne Explosionsgefahr hergestellt werden. Hierbei entsteht eine stabile Chlordioxidlösung mit nur circa 3 g ClO_2 /l Lösung, wobei auf eine raumfordernde und kostenintensive Sicherheitstechnik verzichtet werden kann. Zudem kommt es laut Herstellerangaben nicht zur Bildung von unerwünschtem Chlorit und Chlorat. Diese Chlordioxidlösung kann bei kühlen und dunklen Bedingungen mehrere Wochen gelagert werden. Durch diese neue Verfahrenstechnik wird der Einsatz von Chlordioxid auch in einzelnen Zahnarztpraxen praktikabel und wirtschaftlich sinnvoll. In der vorliegenden Arbeit konnte das über das DK-DOX[®]-Verfahren hergestellte Chlordioxid getestet werden. Es im Material und Methodenteil (siehe Kapitel 2.2.2) beschrieben.

1.7 Ziel

Obwohl BEH wenig mikrobiologisch belastetes Trinkwasser zugeführt wird, konnten in Untersuchungen dennoch hohe Koloniezahlen an den Auslässen zahnärztlicher BEH nachgewiesen werden. Dies wird auf Mikroorganismen zurückgeführt, die sich innerhalb der BEH ansiedeln und vermehren können. Ausgehend von dem dabei entstandenen Biofilm gelangen wiederum kontinuierlich Mikroorganismen in das dem Patienten zugeführte Wasser. Die Mikroorganismenkonzentration kann insbesondere in Phasen der Stagnation stark ansteigen. Zur Reduk-

tion der mikrobiologischen Verunreinigung in BEH wird in der KRINKO-Empfehlung und der AWMF-Leitlinie das regelmäßige Durchspülen sowie der Betrieb von Desinfektionsanlagen und die Desinfektionsmittelzugabe empfohlen. Dabei sollen Desinfektionsmittel zum Einsatz kommen, deren Wirksamkeit unter praxisnahen Bedingungen nachgewiesen und belegt worden sind [95, 96]. Wie bei der Trinkwasseraufbereitung sollte auch hier gelten: „Ziel sollte es sein, ausschließlich solche Stoffe einzusetzen, die den geringeren Gehalt an Verunreinigungen gegenüber Vergleichsprodukten aufweisen oder toxikologisch unbedenklicher als deren Vergleichsprodukte sind“ [104].

So werden Desinfektionsmittel und -verfahren modifiziert und weiterentwickelt mit dem Ziel, neue Einsatzgebiete zu ermöglichen und dabei Stoffe und Verfahren zu entwickeln, die den Biofilm entfernen und dabei gleichzeitig den Anforderungen der Trinkwasserverordnung entsprechen. Dies soll nicht nur zur Reduktion der Mikroorganismen führen, sondern neben den toxikologischen Eigenschaften auch die Beeinflussung der menschlichen Gesundheit (z. B. durch allergene Wirkung von Chlor) herabsetzen. Dabei ist die Desinfektion des Wassers von BEH durch den komplexen Aufbau, die Betriebsbedingungen und die dadurch bedingte Begünstigung mikrobiologischer Verunreinigungen besonders herausfordernd. Um die mikrobiologische Qualität des Wassers von BEH zu überprüfen, wird von der KRINKO eine jährliche Überprüfung einer Entnahmestelle pro BEH gefordert. Dabei dürfen nicht mehr als 100 KBE/ml bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C enthalten sein [95].

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Desinfektionsverfahren unter praxisnahen Bedingungen getestet. Zwei der drei Desinfektionsverfahren sollten auf ihre Eignung als Desinfektionsverfahren für BEH hin untersucht werden. Bei den beiden Verfahren handelt es sich um:

1. das Anolyteverfahren: Es wird das HYDROSTEL[®]-Wasserdesinfektionssystem eingesetzt, das den Einsatz von „vor Ort“ hergestelltem Natriumhypochlorit in BEH ermöglicht.
2. das Chlordioxidverfahren: Es wird das DK-DOX[®]-Verfahren eingesetzt, das den Einsatz von Chlordioxid als Desinfektionsmittel in BEH ermöglicht.

Bei beiden Verfahren wird von den Herstellern eine Biofilmbeseitigung und Bakterienreduktion unter Einhaltung der von der TrinkwV vorgegebenen Richtwerte angegeben. Als drittes Verfahren und zugleich Referenzverfahren diente die in der Zahnklinik standardmäßig durchgeführte Desinfektion des Wassers der BEH mit Wasserstoffperoxid.

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirksamkeit dieser drei Desinfektionsmittel bzw. -verfahren über einen Zeitraum von zehn Monaten zu untersuchen und zu beurteilen. Dazu wurde die Wasserqualität hinsichtlich der Koloniezahlen und die Kontamination mit *Pseudomonas aeruginosa* überprüft und folgende Hypothesen aufgestellt:

1. *Hypothese:*

Die zwei neuen Verfahren führen zu einer vergleichbaren Reduktion der KBE/ml wie das Referenzverfahren.

2. *Hypothese:*

Alle Verfahren führen zur Einhaltung des von der KRINKO-Empfehlung vorgegebenen Richtwertes von ≤ 100 KBE/ml.

3. *Hypothese:*

Pseudomonas aeruginosa kann nicht nachgewiesen werden.

Ferner sollte in dieser Arbeit untersucht werden, ob mit der von der KRINKO-Empfehlung vorgegebenen mikrobiologischen Überprüfung der BEH eine ausreichende Aussage hinsichtlich des mikrobiologischen Zustandes einer BEH getroffen werden kann. Dies führte zur vierten Hypothese:

4. *Hypothese:*

Die von der KRINKO [95] empfohlene jährliche mikrobiologische Untersuchung eines Wasserauslasses der BEH bei 36 °C lässt eine repräsentative Aussage zu.

Dafür wurden zusätzlich zur Untersuchung der Koloniezahlen bei 36 °C die für Trinkwasser geltende Inkubationstemperatur von 22 °C sowie zwei weitere, also insgesamt drei, Entnahmestellen der BEH überprüft. Um die mikrobiologische Qualität des der BEH zugeführten Wassers überprüfen zu können, wurde des Weiteren eine Probe direkt am Übergang in die BEH entnommen und untersucht.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines Forschungsprojektes der Arbeitsgruppe „Technische Hygiene“ der „Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin“ an der Zahnklinik des Universitätsklinikums durchgeführt. Die Ethikkommission wurde über das Versuchsverfahren informiert. Ein Genehmigungsverfahren musste nicht eingeleitet werden. Mit den Patienten wurde während der Projektlaufzeit vorab ein Aufklärungsgespräch geführt und sie erhielten Informationsmaterial.

2 Material und Methoden

2.1 Einleitung

Bei dieser Studie wurde die Wirksamkeit von drei verschiedenen Desinfektionsmittelverfahren in BEH getestet. Die Untersuchungen erfolgten an der Zahnklinik Süd der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Dort sind in acht Behandlungssälen insgesamt 59 BEH installiert (siehe Abbildung 2.1). Standardmäßig ist jede BEH mit einer Desinfektionsanlage ausgerüstet, die mit Dentosept PL betrieben wird. Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden die BEH der Säle 7 und 8 auf das Anolyteverfahren und drei BEH im Saal 5 auf das Chlordioxidverfahren umgestellt (siehe Abbildung 2.1).

Aus technischen Gründen mussten die drei mit Chlordioxid betriebenen BEH in räumlicher Nähe zueinander stehen. Die Auswahl dieser „Dreiergruppe“ erfolgte ansonsten rein zufällig. Dementsprechend wurden aus Saal 7 und Saal 8 zufällig drei BEH für die Untersuchung mit Anolyte und aus den verbliebenen BEH drei für den Betrieb mit Dentosept PL ausgewählt. Die untersuchten BEH waren vom Typ Siemens M1 (Sirona Dental Systems GmbH, Bensheim, Deutschland). Die Abbildung 1.1 zeigt eine solche BEH, welche nach Herstellerangaben weltweit innerhalb von 13 Jahren über 35 000 mal verkauft wurde [105]. Die Untersuchungen wurden im Zeitraum von 07/2007 bis 04/2008 durchgeführt.

2.2 Desinfektionsmittel und Verfahren

2.2.1 Anolyteverfahren

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirksamkeit einer Natriumhypochloritlösung untersucht, die mittels ECAS-Herstellungsprozess (Electro-Chemically Activated Solution) im HYDROSTEL[®]-Wasserdesinfektionssystem (Idrovital[®] Srl, Empoli, Italien) vollautomatisch hergestellt wurde. Dies ist eine Chlor-Elektrolyseanlage, die auf dem in Abbildung 1.5

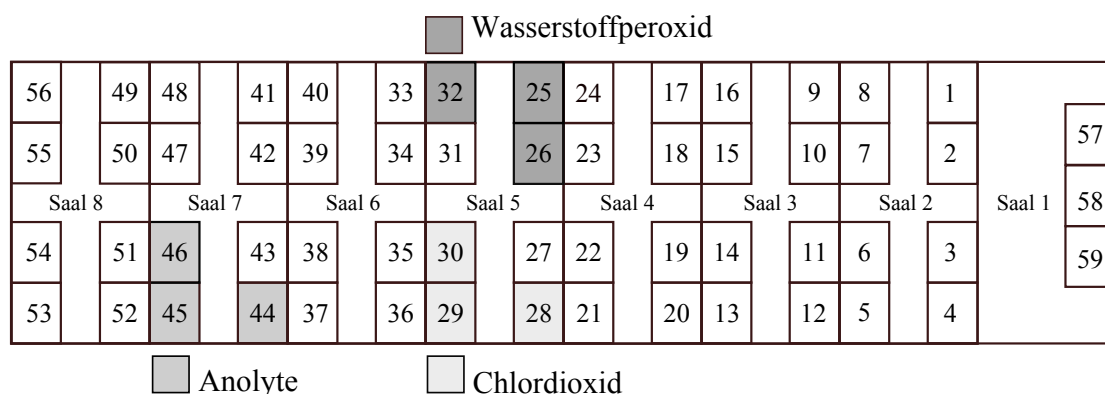


Abbildung 2.1 – Schematische Darstellung der acht Behandlungssäle mit der Nummerierung der BEH der Zahnklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin

dargestellten Grundprinzip der Membranzellen-Elektrolyse basiert. Das HYDROSTEL[®]-Wasserdesinfektionssystem wurde im Keller der Zahnklinik in der Nähe des Leitungssystems installiert, welches Saal 7 und 8 mit Trinkwasser versorgt. Für den Betrieb der Anlage wurde ein Teil des Leitungswassers abgeleitet und enthärtet. Dem enthärteten Wasser wurde dann 99,99 %-iges NaCl in Tablettenform zugegeben, bis eine gesättigte Sole von ca. 28 % NaCl entstanden ist. Diese Sole wurde im Anschluss ebenfalls mit enthärtetem Wasser bis auf eine Konzentration von 0,5 % NaCl verdünnt, anschließend der HYDROSTEL[®]-Komponente zugeführt und dort mittels Membranzellenelektrolyse aktiviert.

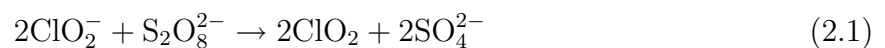
Bei der Membranzellen-Elektrolyse sind Anode und Kathode räumlich durch eine Membran getrennt (siehe Abbildung 1.5). In den Anodenraum wird die 0,5 %ige Lösung eingespeist. Dem Kathodenraum wird enthärtetes Wasser zugeführt, das dort zu Hydroxid-Ionen (OH⁻) und Wasserstoffgas (H₂) reduziert wird. Im Anodenraum dissoziieren Natriumchlorid (NaCl) zu Natrium-Ionen (Na⁺) und Chlorid-Ionen (Cl⁻), welche zu Chlorgas (Cl₂) oxidiert werden. Dieses wird in den anschließenden Reaktor weitergeleitet. Die Natrium-Ionen (Na⁺) gelangen durch die Membran in den Kathodenraum. Dort bildet sich aus den Natrium-Ionen (Na⁺) und den Hydroxid-Ionen (OH⁻) Natronlauge (NaOH), die ebenfalls in den Reaktor geleitet wird. Hier reagiert sie mit dem Chlorgas zu Natriumhypochlorit. Die in der Anlage hergestellte wässrige Lösung wird bei dem hier untersuchten Verfahren „Anolyte“ genannt. Das Anolyte wird anschließend in einem Vorratsbehälter zwischengelagert und kann von dort aus über einen Dosatron-Proportionaldosierer in der gewünschten Konzentration von 0,1 - 0,6 mg/l dem Leitungssystem zugegeben werden.

Laut Herstellerangaben entsteht das Anolyte in der Zelle pH-neutral, wodurch Korrosionen

an den Rohrsystemen vermieden werden. Neben der verbesserten Materialverträglichkeit sollen laut Hersteller auch keine xenobiotischen Eigenschaften vorhanden sein. Ferner gibt er an, der TrinkwV zu entsprechen und die Richtlinie DIN EN 901:2006-06 [106] zu erfüllen. Neben den guten bakteriziden, viruziden und fungiziden Effekten soll das Anolyte zudem auch biofilmbauend wirken.

2.2.2 Chlordioxidverfahren

Als weiteres Desinfektionsmittel wurde Chlordioxid, welches mittels des DK-DOX[®]-Verfahrens (Dr. Küke GmbH, Hannover, Deutschland) hergestellt wurde, untersucht. Dies ist ein Zweikomponentensystem, bei dem einer wässrigen Chloritlösung in einem verschließbaren Behälter Peroxodisulfat zugegeben wird. Unter Luftabschluss läuft innerhalb von 24 Stunden folgende Reaktion ab:



Im Vergleich zum auf klassische Art hergestellten Chlordioxid entsteht bei diesem Verfahren eine wässrige und gleichzeitig stabile Chlordioxidlösung mit einer Konzentration von nur circa 3 g/l ClO_2 . Bei dieser Konzentration kann auf eine zusätzliche und kostenintensive Sicherheitstechnik verzichtet werden, da erst höhere Konzentrationen explosiv sind. Die hergestellte Chlordioxidlösung kann in einer dem Wasserdurchfluss proportional angepassten Menge in das Leitungssystem der BEH abgegeben werden. Bei kühlen und dunklen Bedingungen ist das so hergestellte Chlordioxid über mehrere Wochen lagerbar. Die Lagerung im Zweikomponentensystem kann sogar über mehrere Jahre erfolgen. Laut Herstellerangaben soll dies eine preiswerte und einfach zu handhabende Variante zur Herstellung einer Chlordioxidlösung sein. Außerdem soll das Chlordioxid eine geringere Korrosivität gegenüber Metallen aufweisen, aber dennoch in der Lage sein, Biofilm-auflösend zu wirken. Zudem ist es ein gemäß der UBA-Liste Teil 1c trinkwasserkonformes Verfahren.

Die Vorrichtung für das Chlordioxidverfahren wurde im Saal 5 im Bereich der Einheit 28 aufgebaut und die BEH 28, 29 und 30 daran angeschlossen (siehe Abbildung 2.1). Wie in der Abbildung 2.2 dargestellt, wurde das Chlordioxid am Übergang vom Trinkwassernetz der Zahnklinik zur BEH zudosiert.

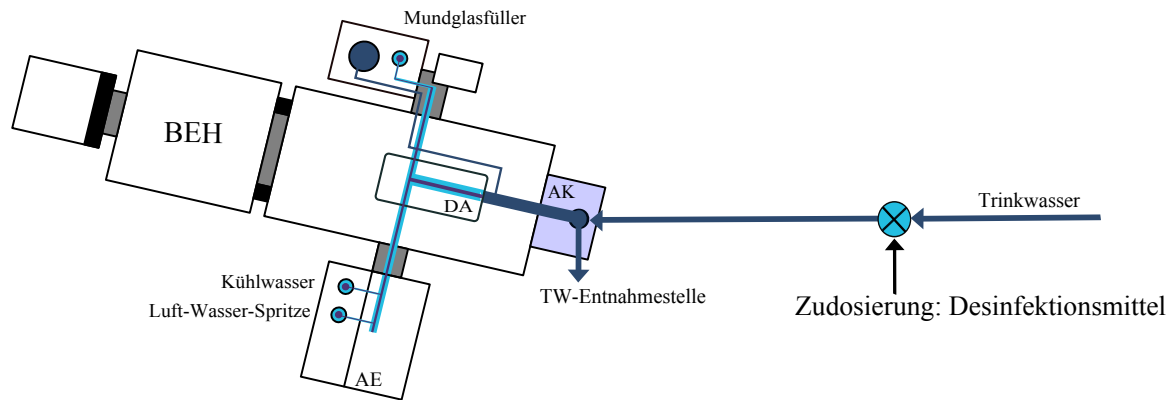


Abbildung 2.2 – Schematische Darstellung der Desinfektionsmittelzudosierung. AK: Anschlusskasten, DA: Desinfektionsanlage, AE: Arztelement

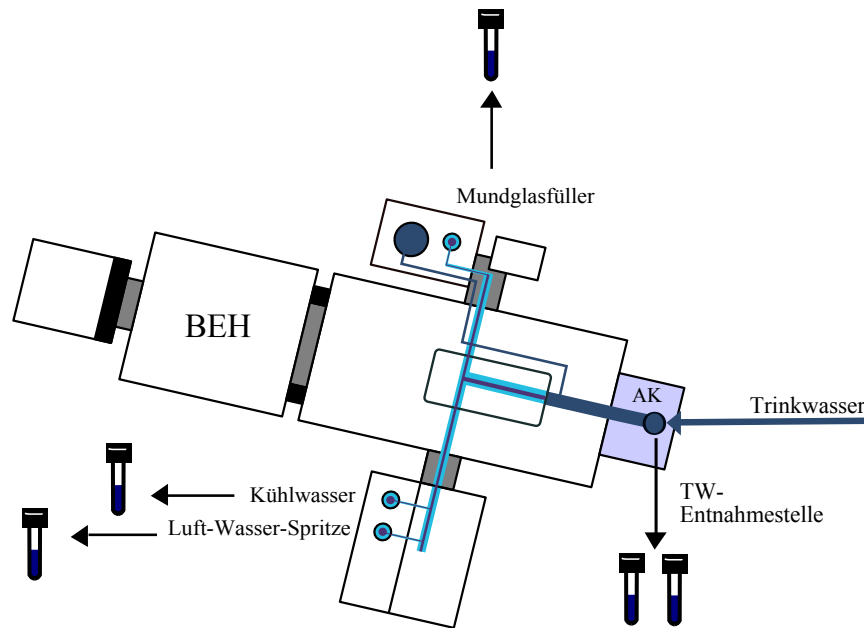
2.2.3 Dentosept PL

Als drittes Desinfektionsmittel wurde das in der Zahnklinik standardmäßig eingesetzte Dentosept PL (METASYS Medizintechnik GmbH, Rum bei Innsbruck, Österreich) untersucht. Dies ist eine gebrauchsfertige Desinfektionslösung zur „Dauerentkeimung“ von BEH und wird in der Desinfektionsanlage einer BEH (siehe Abbildung 2.2) dem Wassersystem im Verhältnis 1 : 100 zugeführt. Die Lösung enthält 0,94 Vol.-% Wasserstoffperoxid sowie 0,017 mg/l Silber und 0,00024 mg/l Phosphat. Wasserstoffperoxid hat eine sehr stark oxidierende Wirkung und zeigt gute Ergebnisse in der Inaktivierung von Mikroorganismen [99, 107], außerdem kann es einen Anstieg der Bakterienkonzentration längerfristig verhindern. Bisher konnte allerdings nicht gezeigt werden, dass Wasserstoffperoxid einen bereits etablierten Biofilm vollständig entfernt [99]. Somit bleibt das primäre Reservoir für die Verunreinigung der wasserführenden Systeme bestehen. Mit dem Zusatz von Silber in der Desinfektionslösung wird ein oligodynamischer Effekt (eine schädigende Wirkung von Metallionen auf lebende Zellen) genutzt [100].

Die Wirkung des Dentosept PL wurde an den BEH 25, 26 und 32 untersucht (siehe Abbildung 2.1).

2.3 Probenahme

Für die Bestimmung der mikrobiologischen Parameter wurde eine 5 %ige Natriumthiosulfat-5-hydrat-Lösung (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) mit destilliertem Wasser auf eine 0,05 %ige Gebrauchslösung verdünnt. Davon wurden 100 µl zur Inaktivierung von Desin-



1. Zwei Minuten spülen von Kühlwasser, Luft-Wasser-Spritze und Mundglasfüller.
2. Mit sterilem Entnahmeadapter 20 Sekunden Wasser an der TW-Entnahmestelle ablassen.
3. Probenahme für Chlorkonzentrationsbestimmung über sterilen Entnahmeadapter an der TW-Entnahmestelle.
4. Probenahme für mikrobiologische Bestimmung über sterilen Entnahmeadapter an der TW-Entnahmestelle.
5. Probenahme für mikrobiologische Bestimmung vom Kühlwasser, Luft-Wasser-Spritze und Mundglasfüller.

Abbildung 2.3 – Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Probenahme

fektionsmittelrückständen in sterile und verschließbare Reagenzröhrchen (VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) mit einem Volumen von 14 ml vorgelegt. Identische Reagenzröhrchen (ohne Zusatz) wurden auch für die Bestimmung der Chlorkonzentration genutzt. Die Entnahme der Wasserproben erfolgte vor der täglichen Benutzung der BEH an den in Tabelle 3.1 (Seite 31) genannten Tagen. Die Übertragungsinstrumente waren dabei nicht angeschlossen.

Die im Folgenden beschriebene Vorgehensweise bei der Probenahme ist in Abbildung 2.3 schematisch dargestellt. Vor der Probenahme wurden die untersuchten Auslässe der BEH zwei Minuten gespült, anschließend das der BEH zugeführte Trinkwasser gespült und entnommen. Hierzu wurde am Entnahmestutzen für Wasser im Anschlusskasten (AK) der BEH ein steriler Adapter installiert. Über diesen wurde für 20 Sekunden Wasser zur Spülung der Leitung abgelassen, danach die Probe zur Bestimmung der Chlorkonzentration in einem

leeren Reagenzröhrchen aufgefangen und die Trinkwasserprobe zur Bestimmung der mikrobiologischen Parameter in ein Reagenzröhrchen mit vorgelegtem Natriumthiosulfat-5-hydrat aufgefangen. Der Adapter wurde entfernt und das mechanische Ventil für Wasser verschlossen. Anschließend wurden drei Proben zur Bestimmung der mikrobiologischen Parameter aus den Auslässen der BEH entnommen. Hierfür wurden die Proben immer in der Reihenfolge Kühlwassers (KW), Luft-Wasser-Spritze (LWS), Mundglasfüller (MGF) in Reagenzröhrchen mit vorgelegtem Natriumthiosulfat-5-hydrat aufgefangen. Um mikrobiologische und chemische Untersuchungen durchzuführen, erfolgte die Verbringung der Proben in das Labor des Instituts der Technischen Hygiene (Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin).

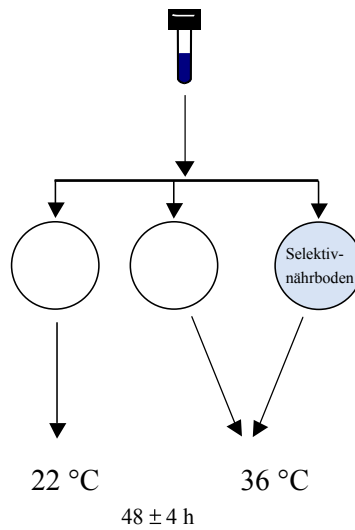
2.4 Mikrobiologische Untersuchungen

In Anlehnung an die Empfehlungen der KRINKO [95] wurde die Koloniezahl bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C ermittelt und um die Bestimmung der Koloniezahl bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C gemäß der TrinkwV [97] ergänzt. Zusätzlich wurde das Vorkommen von *Pseudomonas aeruginosa* untersucht. In der Abbildung 2.4 ist die schematische Vorgehensweise der Probenverarbeitung dargestellt.

2.4.1 Bestimmung der Koloniezahl bei 36 °C und 22 °C

Für die Bestimmung der mikrobiologischen Parameter bei 36 °C und 22 °C kam Trypton-Soja-Agar (TSA) (OXOID, Biotechnik GmbH, Wesel, Deutschland) zur Anwendung. Dieser Universalagar enthält keine Hemmstoffe oder Indikatoren. Vielmehr sind zwei Peptone vorhanden, welche einem möglichst großen Artenspektrum an Bakterien Wachstum ermöglichen sollen.

Nachdem mit einer sterilen Pipette jeweils 0,5 ml der Wasserprobe auf zwei TSA-Platten aufgebracht wurden, erfolgte eine gleichmäßige Verteilung des Probenmaterials mit einem sterilen Drigalski-Spatel. Anschließend wurde eine Platte zwei Tage aerob bei 36 °C und die andere Platte zwei Tage aerob bei 22 °C inkubiert. Nach 48 h \pm 4 h wurden die auf den Nährböden gewachsenen Kolonien mit Hilfe des Koloniezählgerätes (Bioblock colony counter scientific W50971, SUNTEX, New Taipei City, Taiwan) gezählt. Normalerweise werden bei vergleichbaren mikrobiologischen Untersuchungen nur Platten mit Koloniezahl zwischen 30 und 300 KBE/ml pro Platte ausgezählt. In der vorliegenden Arbeit sollten aber auch niedrigere und höhere Koloniezahlen erfasst werden, so wurden auch Koloniezahlen bis etwa 750 KBE/Platte (1500 KBE/ml) durch Auszählen ermittelt. Hierfür wurde die auszu-



6. Von jeder Probe 0,5 ml je Platte ausspateln.
7. Inkubation der Platten bei 36 °C oder 22 °C.
8. Koloniezahlbestimmung nach zwei Tagen.

Abbildung 2.4 – Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Probenverarbeitung

wertende Platte in gleichgroße Segmente geteilt, anschließend ein repräsentatives Segment ausgezählt und die dabei ermittelte Koloniezahl mit der Anzahl der Segmente multipliziert. Deutlich darüber hinausgehende Koloniezahlen wurden durch eine optische Klassifizierung in sehr stark bewachsen (1500 KBE/pro Platte = 3000 KBE/ml) und vollständig bewachsene Platten (Rasen) eingeteilt. Die dabei kleinsten noch gezählten Kolonien sind exemplarisch in der Abbildung 2.5 dargestellt.

Beim seitlichen Betrachten der Nährböden im Licht konnten sehr kleine durchsichtig erscheinende Kolonien detektiert werden, die bei der Ansicht von oben mit dem Auge kaum sichtbar waren. Die Winzigsten von ihnen glichen in ihrem Erscheinungsbild dem Einstich einer Stecknadel und waren auf Grund ihrer geringen Größe kaum erkennbar und nicht genau zählbar. Auch wenn diese Mikrokolonien nach den Vorgaben der TrinkwV bei der Bestimmung keine Berücksichtigung finden, sollten sie in dieser Arbeit gesondert erfasst und separat dargestellt werden. Für die Erfassung wurden diese als Mikrokolonien (MK) bezeichnet und in Abhängigkeit von ihrer Koloniegröße in drei Größen eingeteilt. Dabei stellten die Mikrokolonien der Größe MK3 kleine, MK2 sehr kleine und MK1 winzige Kolonien dar. Da ihr Vorkommen nur näherungsweise erfasst werden konnte, wurde versucht, die Anzahl der Kolonien zu schätzen und die Häufigkeit ihres Vorkommens in folgende Gruppen eingeteilt:

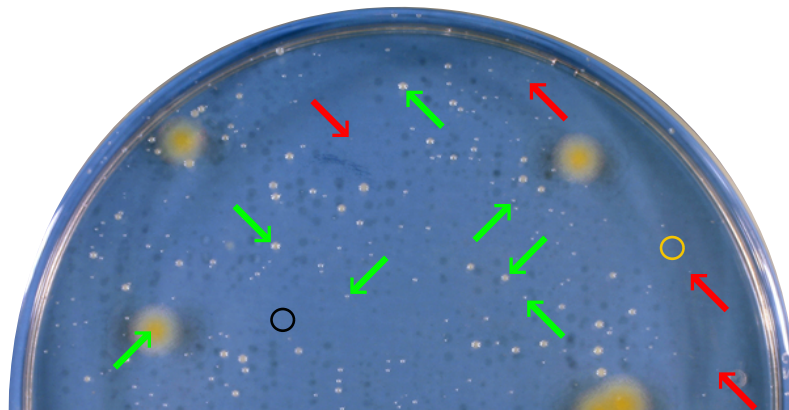


Abbildung 2.5 – Darstellung der Kolonien und Mikrokolonien, **grüne Pfeile:** Kolonien, die der Koloniezahl zugeordnet wurden; **rote Pfeile:** Kolonien, die als Mikrokolonien MK3 gewertet wurden; **schwarzer Ring:** Bereich mit Mikrokolonien MK2; **gelber Ring:** Bereich mit Mikrokolonien MK1

- | | |
|--------------------------|--------------------|
| 1. keine Mikrokolonien: | 0 KBE/ml |
| 2. wenige Mikrokolonien: | bis zu 50 KBE/ml |
| 3. viele Mikrokolonien: | bis zu 1500 KBE/ml |
| 4. sehr viele Kolonien: | über 1500 KBE/ml |

2.4.2 Bestimmung von *Pseudomonas aeruginosa*

Für den Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* wurde 0,5 ml der Probenflüssigkeit auf einem Selektivnährboden Cetrimid (OXOID, Biotechnik GmbH, Wesel) ausgespatelt und diese anschließend bei 36 °C für zwei Tage im Brutschrank inkubiert. Der Nährboden enthält Cetrimid und Nalidixinsäure, wodurch das Wachstum einer Begleitflora unterdrückt wird. *Pseudomonas aeruginosa* kann blau-grüne, gelblich-fluoreszierende, bräunlich und rötlich erscheinende Kolonien ausbilden. Zudem ist ein süßlich nach Lindenblüten riechender Duft charakteristisch. In der vorliegenden Arbeit wurden die auf diesem Nährmedium gewachsenen Kolonien als *Pseudomonas aeruginosa* gewertet. Um den optischen Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* zu bestätigen, erfolgte mit jeweils einer Kolonie von drei verschiedenen Proben eine weiterführende Diagnostik. Hierfür wurden die gewachsenen Kolonien auf TSA- und Blut-Agar überimpft und anschließend mittels fraktioniertem Verdünnungsausstrich Reinkulturen angelegt. Mit den von dem Blutnährmedium abgenommenen Kolonien wurden die KOH-, Katalase- und Oxidase-Tests vorgenommen. Zudem erfolgte mit den vom

TSA-Nährmedium abgenommenen Kolonien eine Gram-Färbung und anschließend eine mikroskopische Betrachtung. Die abschließende Identifizierung erfolgte mit dem api[®] 20 NE (bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland), gemäß der dem Test beigelegten Anleitung.

2.5 Bestimmung der Chlorkonzentration

Laut Herstellerangaben des Anolyte- und des Chlordioxidverfahrens entsprechen diese den Aufbereitungsverfahren der TrinkwV § 11, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden dürfen. Um die Konzentration nach der Zugabe des jeweiligen Desinfektionsmittels kontrollieren zu können, wurde für diese Desinfektionsverfahren der Chlorgehalt (freies, gebundenes und Gesamtchlor) bestimmt. Die Bestimmung erfolgte mit dem Dr. Lange Küvettestest LCK 310 (Hach Lange GmbH, Düsseldorf, Deutschland) nach beiliegender Anleitung. Der Messbereich liegt bei 0,05 - 2 mg/l Cl₂ bzw. 0,09 - 3,8 mg/l ClO₂.

Dieses ist eine photometrische Messmethode, bei der N,N-Diethyl-p-phenylendiamin (DPD) durch freies Chlor zu einem roten Farbstoff, sogenannten „Wursters Rot“, umgewandelt wird. Die zum Gehalt an freiem Chlor proportional gebildete Intensität des Farbstoffs wird als erstes mit den vorgegebenen Küvetten photometrisch bei 552 nm bestimmt. Danach werden der Küvette 2-3 Tropfen einer dem Test beiliegenden Kaliumjodidlösung zugegeben, das Kaliumjodid setzt das in den Chloraminen gebundene Chlor frei. Dieses reagiert dann ebenfalls mit dem DPD. Nach einer Reaktionszeit von zwei Minuten wird eine zweite photometrische Messung durchgeführt. Hierbei wird der Gesamtchlorgehalt bestimmt.

2.6 Statistik

2.6.1 Wirksamkeit der Desinfektionsmittel hinsichtlich der Koloniezahl

Koloniezahlen an der BEH

Die Koloniezahlen der untersuchten Proben liegen zwischen 0 und 3000 KBE/ml. Sowohl die niedrigen als auch die hohen Koloniezahlen sind von Interesse und sollen für jede BEH in einem Achsendiagramm dargestellt werden. Dabei soll die zeitliche Darstellung des Probenahmetages mit Hilfe der Kalenderwoche des Jahres (KW/Jahr) auf der Abszisse und die

Koloniezahl auf der Ordinate dargestellt werden. Da jedoch bei einer linearen Darstellung die gesetzlich relevanten Messwertbereiche zu sehr gestaucht würden, musste die Ordinate in diesen Abbildungen in zwei Segmente unterteilt werden. Im ersten Segment erfolgt die Darstellung der Koloniezahlen bis 200 KBE/ml. Dies umfasst nicht nur den von der RKI-Empfehlung vorgegebenen Wertebereich von 100 KBE/ml, sondern zugleich auch den bis 2003 geltenden Richtwert der ADA von 200 KBE/ml. Die Höchstwerte der Koloniezahlen der RKI-Empfehlungen und der ADA werden hier durch zwei zusätzlich eingefügte horizontale Linien angedeutet. Das zweite Segment umfasst den darüberliegenden Wertebereich ab 201 KBE/ml bis 3000 KBE/ml. Proben, deren Platten, die wie in Kapitel 2.4 beschrieben, vollständig bewachsen sind (Rasen), wurde die höchste Koloniezahl von 3000 KBE/ml zugewiesen. Graphisch wurden diese Proben mit einer zusätzlichen Markierung oberhalb von 3000 KBE/ml gekennzeichnet. Für diese Darstellung wurde das Statistikprogramm GraphPad Prism 5 genutzt.

Koloniezahlverteilung

Die Koloniezahlverteilung der unterschiedlichen Desinfektionsmittelverfahren einer Entnahmestelle sowie die Koloniezahlverteilung mit gepoolten Entnahmestellen kommen mittels Boxplots zur Darstellung. Diese sind mit dem Statistikprogramm GraphPad Prism 5 erstellt worden. Hierbei entspricht die Darstellung der Ordinate ebenfalls der oben beschriebenen Einteilung. Die Signifikanzüberprüfung erfolgte mittels des „Mann-Whitney Tests“ und einer anschließenden Korrektur anhand der Bonferroni-Methode. Bei dem hier gewählten Signifikanzniveau sind die Unterschiede signifikant bei p-Werten von $< 0,05$. Das jeweilige Signifikanzniveau ist unter der jeweiligen Abbildung dargestellt.

Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen

Zur Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen werden Säulendiagramme genutzt, die die Mittelwerte und die Standardabweichungen der prozentualen Anteile der untersuchten Proben aufzeigen. Diese Abbildungen sind mit dem Statistikprogramm GraphPad Prism 5 erstellt worden. Die Gruppierung der Daten erfolgte dabei gemäß den Vorgaben der TrinkwV und dessen verdoppelten und bis 2003 geltenden ADA-Wert von 200 KBE/ml. Daraus resultiert ein Wertebereich von 0 bis 100 KBE/ml (TrinkwV) und ein weiterer Bereich von > 100 bis 200 KBE/ml (ADA). Eine weitere Gruppierung der Werte ergibt sich durch die Auszählung der Koloniezahlen. Wie in Kapitel 2.4 beschrieben, wurden Koloniezahlen bis etwa 750 KBE/Platte ausgezählt. Standardmäßig erfolgt dies bei mikrobiologischen Untersuchungen nur bis 300 KBE/Platte. Da bei Koloniezahlen von 750 KBE/Platte eine

gegenseitige Beeinflussung des Wachstumsverhaltens der Kolonien nicht auszuschließen ist, werden im Rahmen dieser Arbeit Werte bis 500 KBE/Platte noch als genaue Werte angenommen, während Koloniezahlen über 500 KBE/Platte als Schätzwerte aufzufassen sind. Da pro Platte 0,5 ml aufgegeben wurde, ergeben sich daraus zwei weitere Wertebereiche: von > 200 bis 1000 KBE/ml und von > 1000 KBE/ml.

Mikrokolonien

Zur Darstellung der Mikrokolonien, die bei den jeweiligen Proben aufgefallen sind, werden für jedes Desinfektionsmittel Farbtabelle gewählt. Statt der Angaben „keine“ bis „sehr viele“ Mikrokolonien, wird in der folgenden Auflistung die farbliche Codierung bevorzugt.

		0	KBE/ml	nicht vorhanden	grün	
1	-	50	KBE/ml	wenige Mikrokolonien	gelb	
51	-	1500	KBE/ml	viele Mikrokolonien	orange	
		>	1500	KBE/ml	sehr viele Mikrokolonien	rot

2.6.2 Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*

Die graphischen Darstellungen der auf dem für *Pseudomonas aeruginosa* selektiven Nährboden gewachsenen Koloniezahlen, sind mit dem Statistikprogramm GraphPad Prism 5 erstellt worden.

Um die Desinfektionsmittel vergleichend darstellen zu können, wurden Scatter dot plots genutzt. Da beim Anolyteverfahren Koloniezahlen bis 48 KBE/ml, aber beim Chlordioxidverfahren Koloniezahlen bis 696 KBE/ml nachweisbar sind, kommen bei einer linearen Darstellung die beim Anolyteverfahren nachgewiesenen Koloniezahlen gestaucht zur Darstellung. Um auch die an den mit Anolyt betriebenen BEH nachgewiesenen Koloniezahlen deutlich darzustellen zu können, wurde die Ordinate in zwei gleichgroße Segmente aufgeteilt, die im ersten Segment Koloniezahlen von bis zu 50 KBE/ml und im zweiten Segment Koloniezahlen bis 800 KBE/ml darstellt. Die Signifikanzüberprüfung erfolgte mittels der Wilcoxon-Rangsummenstatistik und einer anschließenden Korrektur anhand der Bonferroni-Methode. Ein signifikanter Unterschied bestand bei p-Werten von < 0,05. Das jeweilige Signifikanzniveau ist unter der Abbildung dargestellt.

Um die Koloniezahlverteilung von *Pseudomonas aeruginosa* (KBE/ml) für jede Entnahmestelle aller mit Chlordioxid betriebenen BEH (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)

darzustellen, wurden Boxplots genutzt. Auch hier umfasst das untere Segment der Ordinate die wie oben beschriebenen 50 KBE/ml. Das obere Segment hingegen stellt den für die TW-Entnahmestelle relevanten Wertebereich ab 51 KBE/ml bis 3000 KBE/ml. Die Signifikanzüberprüfung erfolgte mittels des „Mann-Whitney Tests“ und einer anschließenden Korrektur anhand der Bonferroni-Methode. Bei dem hier gewählten Signifikanzniveau sind die Unterschiede signifikant bei p-Werten von $< 0,05$. Das jeweilige Signifikanzniveau ist unter der jeweiligen Abbildung dargestellt.

Für die zeitliche Zuordnung des Nachweises von *Pseudomonas aeruginosa* an jeder mit Chlordioxid betriebenen BEH werden Achsendiagramme mit der oben beschriebenen Einteilung der Ordinate dargestellt.

2.6.3 Chlorkonzentrationen

Die gemessenen Chlorkonzentrationen wurden sowohl für das Anolyteverfahren als auch für das Chlordioxidverfahren mit einem Scatter dot plot und einem Boxplot dargestellt. Zusätzlich wurde der von dem UBA zugelassene Konzentrationsbereich mit zwei gepunkteten Linien begrenzt und der durch eine Sondergenehmigung für die Zahnklinik Süd der Charité - Universitätsmedizin Berlin zugelassene Konzentrationsbereich mit einer durchgezogenen Linie gekennzeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungsumfang

Im Untersuchungszeitraum von 07/2007 bis 04/2008 wurden an neun BEH Wasserproben untersucht. Dafür wurden insgesamt 423 Proben entnommen und weiterverarbeitet. 360 Proben wurden zur Bestimmung mikrobiologischer Parameter und 63 Proben zur Bestimmung der Chlorkonzentration genutzt. An mikrobiologischen Parametern wurde die Koloniezahl bei 36 °C und 22 °C sowie von *Pseudomonas aeruginosa* bestimmt. Bei den mit Anolyte und Chlordioxid betriebenen BEH wurde zusätzlich die Konzentration an freiem Chlor bestimmt.

3.2 Wirksamkeit der Desinfektionsmittel hinsichtlich der Koloniezahl

3.2.1 Koloniezahlen der mit Anolyte betriebenen BEH

An den mit Anolyte betriebenen BEH 44, 45 und 46 wurden während des Untersuchungszeitraumes an neun Tagen (siehe Tabelle 3.1) 108 Proben entnommen. Bei der BEH 46 des achten Probeentnahmetages liegen bei vier Proben (3,7 %) keine Ergebnisse bei 36 °C vor, da alle mit der Probe bestrichenen Platten fälschlicherweise bei 22 °C und nicht bei 36 °C inkubiert wurden.

Bei der BEH 44 (Abbildung 3.1) weisen die Proben aus der MGF- und der TW-Entnahmestelle bis auf eine Ausnahme (MGF, 36 °C, 31/07, 110 KBE/ml) sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Sie entsprechen damit hinsichtlich der Koloniezahl den Anforderungen der TrinkwV [97] bzw. der KRINKO-Empfehlung [95]. Demgegenüber weisen die Proben der KW- und der LWS-Entnahmestelle bei 36 °C und 22 °C unterschiedlich zu bewertende Koloniezahlen auf. Nur bei 22 °C sind an jeweils sechs Untersuchungstagen Ko-

Datum	KW/Jahr	Probeentnahme der BEH			Sanierung
		Anolyte	Chlordioxid	Dentosept PL	
17.07.2007	29/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
31.07.2007	31/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
03.08.2007					28, 29, 30
06.08.2007					28, 29, 30
14.08.2007	33/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
20.08.2007					28, 29, 30
28.08.2007	35/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
31.08.2007					28, 29, 30
04.09.2007	36/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
07.09.2007					28, 29, 30
25.09.2007	39/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
09.10.2007	41/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
02.11.2007					28, 29, 30
16.11.2007					28, 29, 30
30.11.2007					28, 29, 30
11.12.2007	50/07	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
14.12.2007					28, 29, 30
04.01.2008	01/08		28, 29, 30		
04.01.2008					28, 29, 30
08.01.2008	02/08		28, 29, 30		
18.01.2008					28, 29, 30
01.02.2008					28, 29, 30
15.02.2008					28, 29, 30
25.02.2008					28, 29, 30
26.02.2008	09/08	44, 45, 46	28, 29, 30	25, 26, 32	
14.03.2008					28, 29, 30
28.03.2008					28, 29, 30
11.04.2008	15/08		28, 29, 30		
11.04.2008					28, 29, 30

Tabelle 3.1 – Übersicht der Probeentnahmetage der jeweiligen BEH und der zugeordneten Kalenderwoche im Jahr (KW/Jahr) sowie die Tage, an denen mit höher konzentriertem Desinfektionsmittel eine Sanierung der angegebenen BEH durchgeführt wurde.

loniezahlen von ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. Alle anderen Werte liegen darüber und genügen somit weder der KRINKO-Empfehlung noch der TrinkwV. An vier Untersuchungstagen liegen die Koloniezahlen zwischen 100 und 200 KBE/ml. Diese Werte liegen somit über der TrinkwV, genügen aber immer noch den bis 2003 geltenden Anforderungen der ADA [92].

Die gemessenen Koloniezahlen der BEH 45 sind in der Abbildung 3.2 dargestellt. Die Proben der TW-Entnahmestelle weisen an fünf Probenentnahmetagen sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Doch im Unterschied zum TW der BEH 44 sind an zwei Tagen Koloniezahlen über 100 KBE/ml und an zwei weiteren Tagen sogar Koloniezahlen über 200 KBE/ml nachweisbar. Erfolgt die Überschreitung der Vorgabewerte der TrinkwV bei 36 °C, während sie bei 22 °C eingehalten werden oder umgekehrt, werden sie bei 36 °C eingehalten und bei 22 °C überschritten, so erfüllt das Wasser somit nicht mehr die Anforderungen der TrinkwV. Die TrinkwV fordert die Einhaltung der Werte sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C. Es verbleiben somit nur fünf Tage, an denen die Koloniezahlen der Proben bei beiden Temperaturen den Anforderungen der TrinkwV genügen. Ein ähnliches Erscheinungsbild weisen die nachweisbaren Koloniezahlen der MGF-Entnahmestelle auf. Bis auf zwei Ausnahmen (41/07, 09/08) weisen alle Proben bei 36 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Bei 22 °C weist eine Probe eine Koloniezahl über 100 KBE/ml auf. Hiermit erfüllen sieben Proben hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C die Anforderung der KRINKO und sechs Proben hinsichtlich der Koloniezahl sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C die Anforderung der TrinkwV. An der KW- und der LWS-Entnahmestelle weist keine der Proben bei 36 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Sie erfüllen somit weder die Anforderungen der KRINKO-Empfehlung noch der TrinkwV. Mit mehr als 200 KBE/ml entsprechen sie noch nicht einmal den bis 2003 geltenden Anforderungen der ADA.

Die gemessenen Koloniezahlen der BEH 46 sind in der Abbildung 3.3 dargestellt. Bis auf zwei Ausnahmen bei 36 °C liegen an der TW-Entnahmestelle alle Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml. Somit werden die mikrobiologischen Anforderungen der KRINKO-Empfehlung und der TrinkwV im Hinblick auf die Koloniezahlen bei 36 °C und bei 22 °C an sechs Untersuchungstagen eingehalten. Da vom siebten Untersuchungstag (50/07) die Koloniezahl bei 36 °C fehlt, kann hier keine Bewertung vorgenommen werden. Ähnliche Ergebnisse liegen bei der MGF-Entnahmestelle vor. Auch hier sind sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C für die Mehrzahl der Untersuchungstage Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. Lediglich an drei Tagen (31/07, 41/07 und 09/08) liegen die Koloniezahlen bei 36 °C über 100 KBE/ml. Im Unterschied zur TW- und MGF-Entnahmestelle sind an den meisten Tagen der KW- und der LWS-Entnahmestelle bei 36 °C deutlich höhere Koloniezahlen nachweisbar. Lediglich an dem ersten, dritten und vierten Tag liegen mit 118 KBE/ml (LWS) bzw. 106 KBE/ml (KW) Werte vor, die den bis 2003 geltenden Anforderungen der ADA bzw. mit 28 KBE/ml (LWS) den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung genügen.

An den mit Anolyte betriebenen BEH entsprechen von insgesamt 78 Proben der drei endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) 21 Proben der KRINKO-Empfehlung. Wie auch aus der Tabelle 3.2 (Seite 46) zu entnehmen, genügen hierbei 20 Proben sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C den mikrobiologischen Anforderungen der TrinkwV. Von diesen 20 Proben entstammen 19 Proben aus den Entnahmestellen des MGF. Bei 22 °C weisen 64 Proben Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Bei allen drei Einheiten ist keine ab- oder zunehmende Tendenz über den gesamten Untersuchungszeitraum zu erkennen.

BEH 44 (Anolyteverfahren)

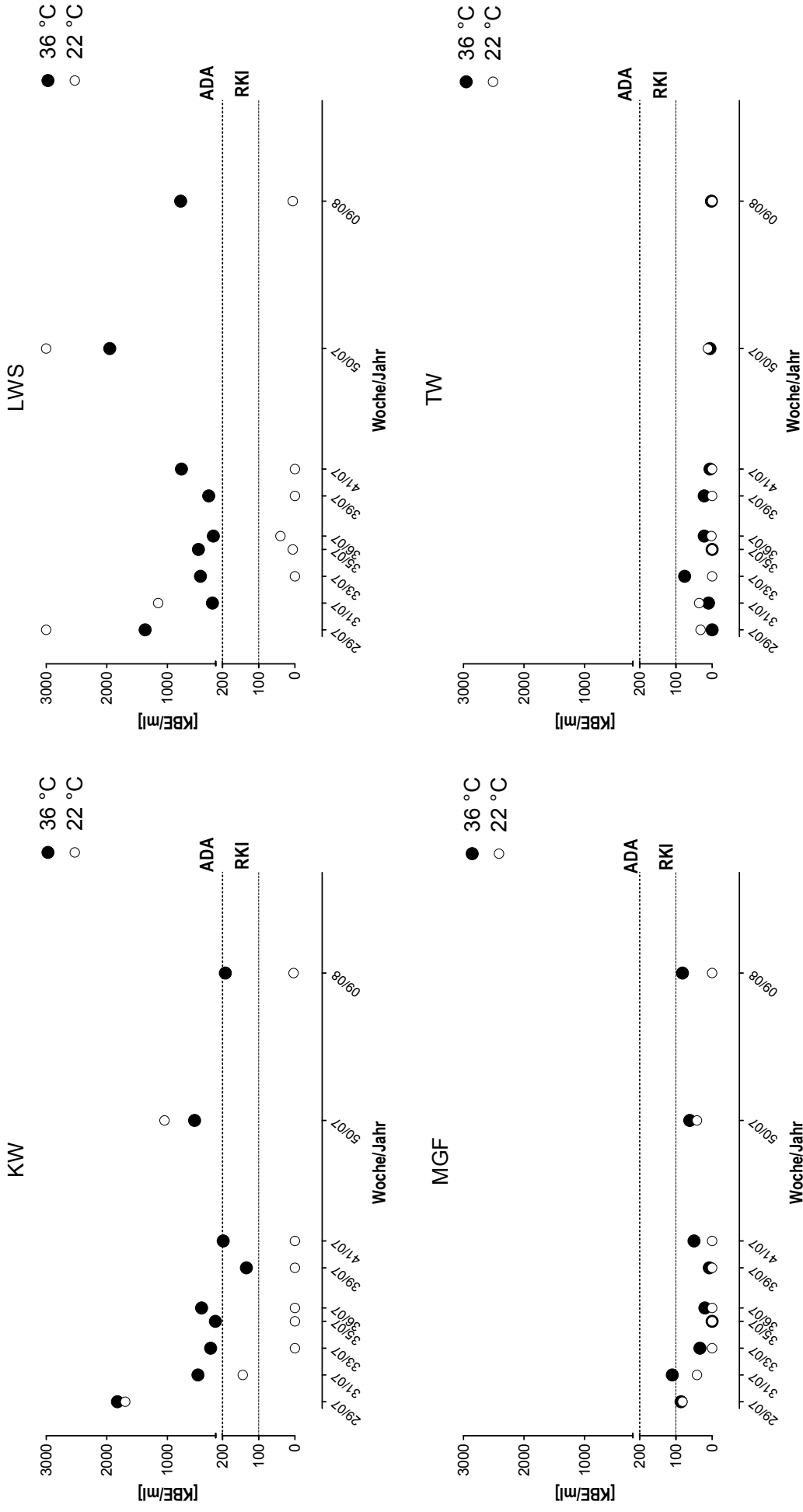


Abbildung 3.1 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 44

BEH 45 (Anolyteverfahren)

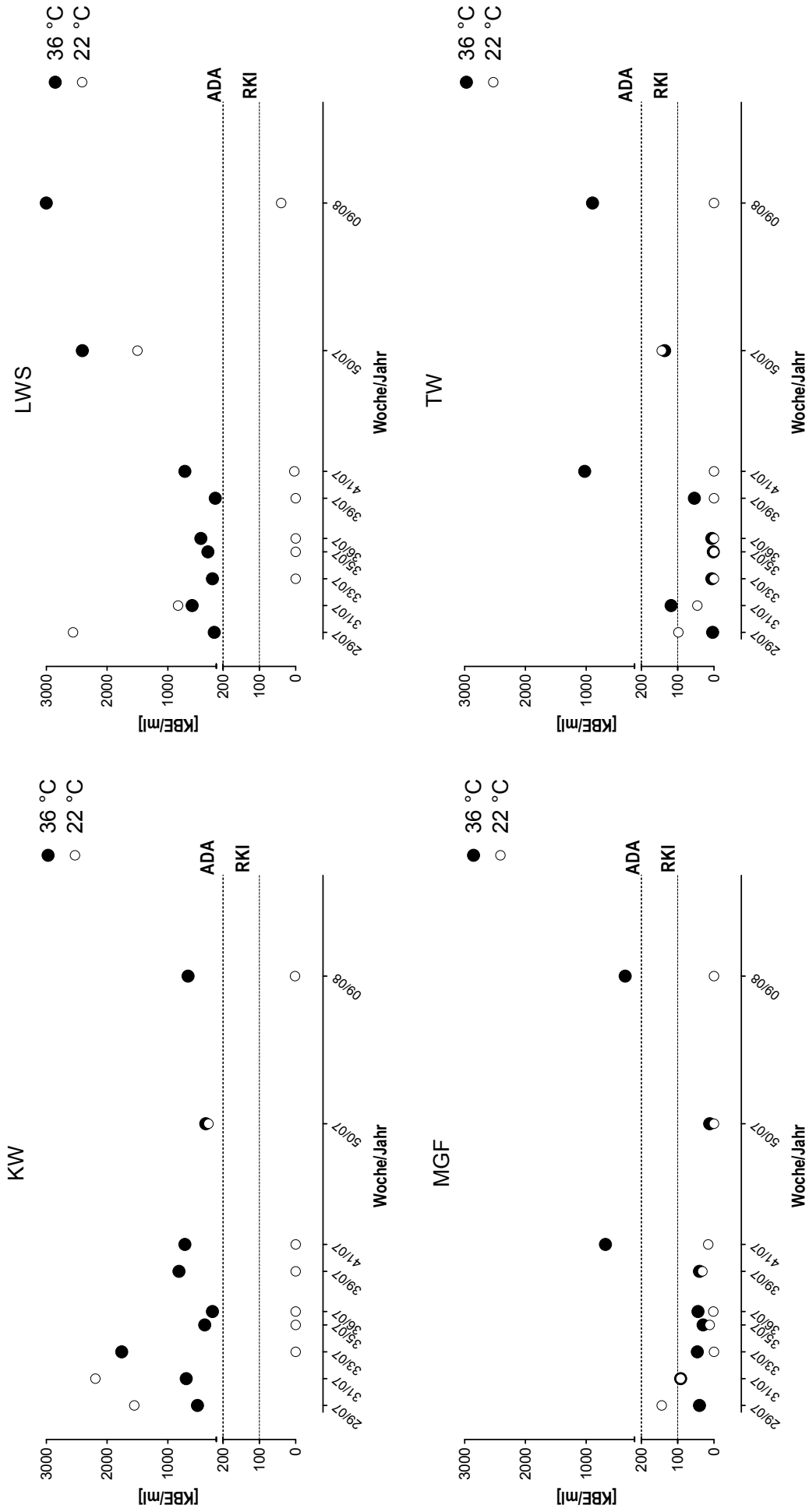


Abbildung 3.2 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 45

BEH 46 (Anolyteverfahren)

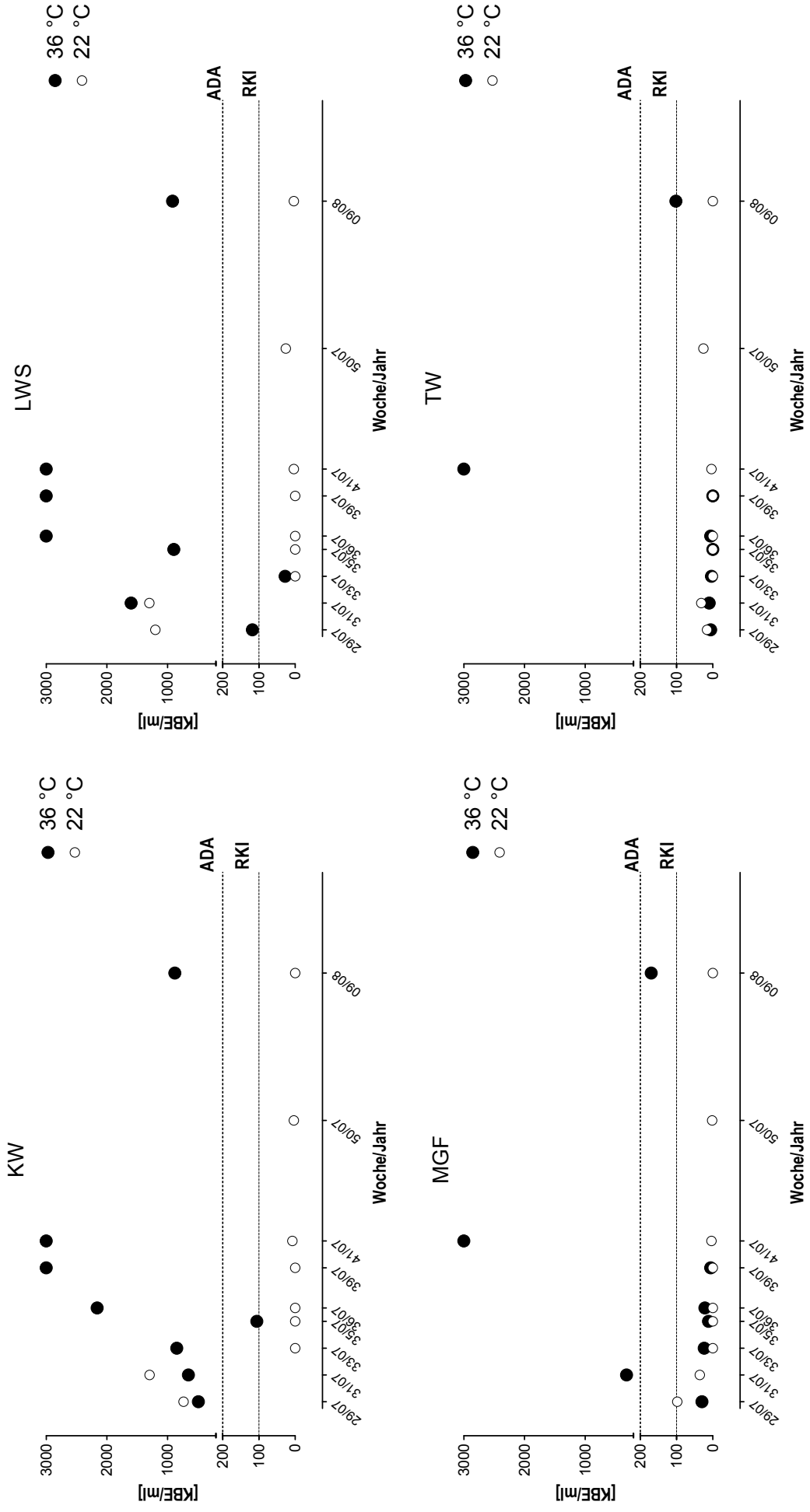


Abbildung 3.3 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 46

3.2.2 Koloniezahlen an den mit Chlordioxid betriebenen BEH

An den mit Chlordioxid betriebenen BEH 28, 29 und 30 wurden an 12 Tagen (siehe Tabelle 3.1) 144 Proben entnommen. Davon konnte eine Probe (0,7 %) nicht ausgewertet werden, da das Reagenzröhrchen bei der Bearbeitung im Labor zersprungen ist und die Probe dabei verloren ging. Bei vier weiteren Proben (2,8 %) (BEH 28) liegt nur ein Ergebniss bei 36 °C aber kein Ergebnis bei 22 °C vor. Eine Verwechslung führte zur fehlerhaften Inkubation der Platten. Die gemessenen Koloniezahlen der BEH 28, 29, und 30 sind in den Abbildungen 3.4 bis 3.6 dargestellt.

An den endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) der BEH 28 liegen die Koloniezahlen bei 36 °C meistens über 100 KBE/ml (28 von 36 Proben), während bei 22 °C vorrangig Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml (24 von 33 Proben) eruiert wurden. An vier Untersuchungstagen der MGF-Entnahmestelle, zwei Untersuchungstagen der KW-Entnahmestelle und einem Untersuchungstag der LWS-Entnahmestelle sind in den Proben bei beiden Inkubationstemperaturen Koloniezahlen unter ≤ 100 KBE/ml feststellbar. Somit entsprechen an den endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) der BEH 28 hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C acht Proben den Anforderungen der KRINKO und hinsichtlich der Koloniezahl sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C, sieben Proben den Anforderungen der TrinkwV. An der TW-Entnahmestelle sind nur an einem Untersuchungstag (35/07) sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. Bis auf eine Ausnahme weisen an den anderen Untersuchungstagen die Proben bei beiden Temperaturen Koloniezahlen von 200 KBE/ml bis 3000 KBE/ml. Am dritten Tag (33/07) sind bei 36 °C und bei 22 °C die Agar-Platten so zugewachsen, dass ein Rasen entstanden ist.

Die während des Untersuchungszeitraumes belegbaren Koloniezahlen der BEH 29 sind in der Abbildung 3.5 dargestellt. An der KW-Entnahmestelle sind bei 36 °C bis auf zwei Ausnahmen (35/07, 0 KBE/ml und 39/07, 120 KBE/ml) Koloniezahlen über 560 KBE/ml nachweisbar. Am siebten Untersuchungstag sind so viele Kolonien vorhanden, dass auf der Agar-Platte ein vollständiger Rasen gewachsen ist. Demgegenüber weisen bei 22 °C sieben Proben Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Auch an der LWS-Entnahmestelle zeigen sieben Proben bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Allerdings liegt keine der Proben bei 36 °C ≤ 100 KBE/ml bzw. unter 200 KBE/ml und es werden an drei Untersuchungstagen Koloniezahlen von 3000 KBE/ml nachgewiesen. An der MGF-Entnahmestelle weisen zehn der Proben bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Vier dieser Proben enthalten auch bei 36 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml und entsprechen somit hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C und 22 °C der TrinkwV. An der TW-Entnahmestelle weisen vier Proben bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Zwei von diesen Proben enthalten auch bei 36 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml und können somit die Anforderung der TrinkwV erfüllen. Eine weitere

dieser Probe genügt mit 106 KBE/ml den Anforderungen der ADA. An den restlichen Untersuchungstagen liegen sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C die Koloniezahlen im Bereich von 250 - 3000 KBE/ml und weisen am ersten Tag sogar einen vollständigen Bewuchs der Agar-Platte auf.

Die während des Untersuchungszeitraumes belegten Koloniezahlen der BEH 30 sind in der Abbildung 3.6 dargestellt. An der KW-Entnahmestelle sind bei 22 °C an neun Untersuchungstagen Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. An zwei dieser Untersuchungstage weisen die Proben auch bei 36 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf. Während eine weitere Probe bei 22 °C im Anforderungsbereich der ADA liegt, sind die anderen Ergebnisse weit darüber. In keiner der an der LWS-Entnahmestelle untersuchten Proben sind bei 36 °C Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml aufzuzeigen. Dementsprechend wird weder den Vorgaben der KRINKO-Empfehlung noch der TrinkwV entsprochen. Vier Proben aus der MGF-Entnahmestelle haben hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C und 22 °C TW-Qualität. Zusätzlich sind bei 22 °C in sechs Proben Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml und in einer Probe Koloniezahlen ≤ 200 KBE/ml nachweisbar. Alle weiteren Werte liegen im Bereich von 218 KBE/ml bis 3000 KBE/ml. An der TW-Entnahmestelle weisen an drei Untersuchungstagen die Proben sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf und entsprechen somit der TrinkwV. Zwei Proben genügen bei beiden Temperaturen mit ≤ 200 KBE/ml den bis 2003 geltenden Anforderungen der ADA. Während noch zwei weitere Proben bei 36 °C Koloniezahlen im Bereich der ADA aufweisen, liegen die anderen Koloniezahlen im Bereich von 228 KBE/ml bis 1040 KBE/ml.

Insgesamt genügen an den endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) der mit Chlordioxid betriebenen BEH 19 Proben den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung und 18 Proben den Anforderungen der TrinkwV (siehe Tabelle 3.2, Seite 46).

BEH 28 (Chlordioxidverfahren)

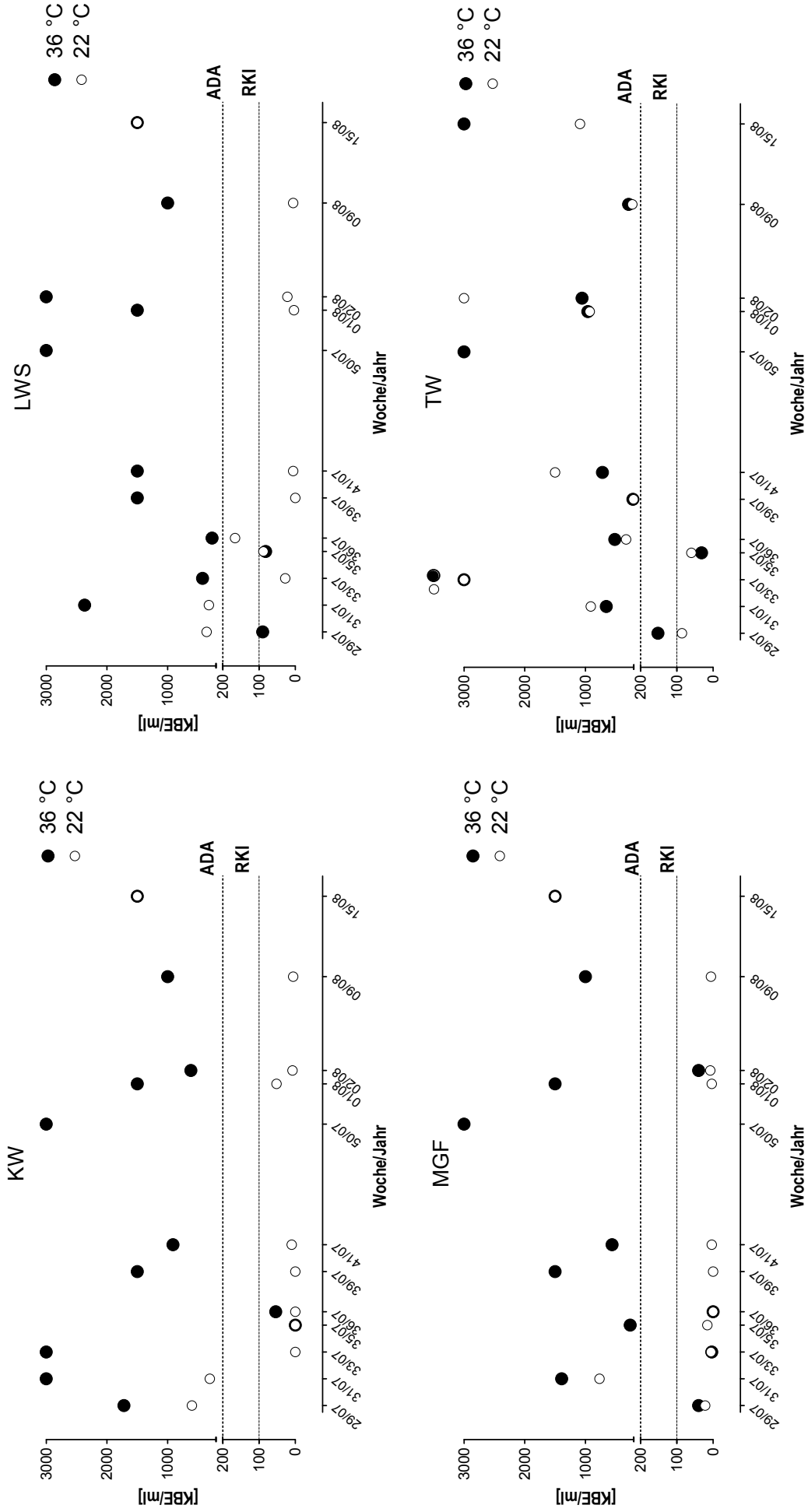


Abbildung 3.4 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 28

BEH 29 (Chlordioxidverfahren)

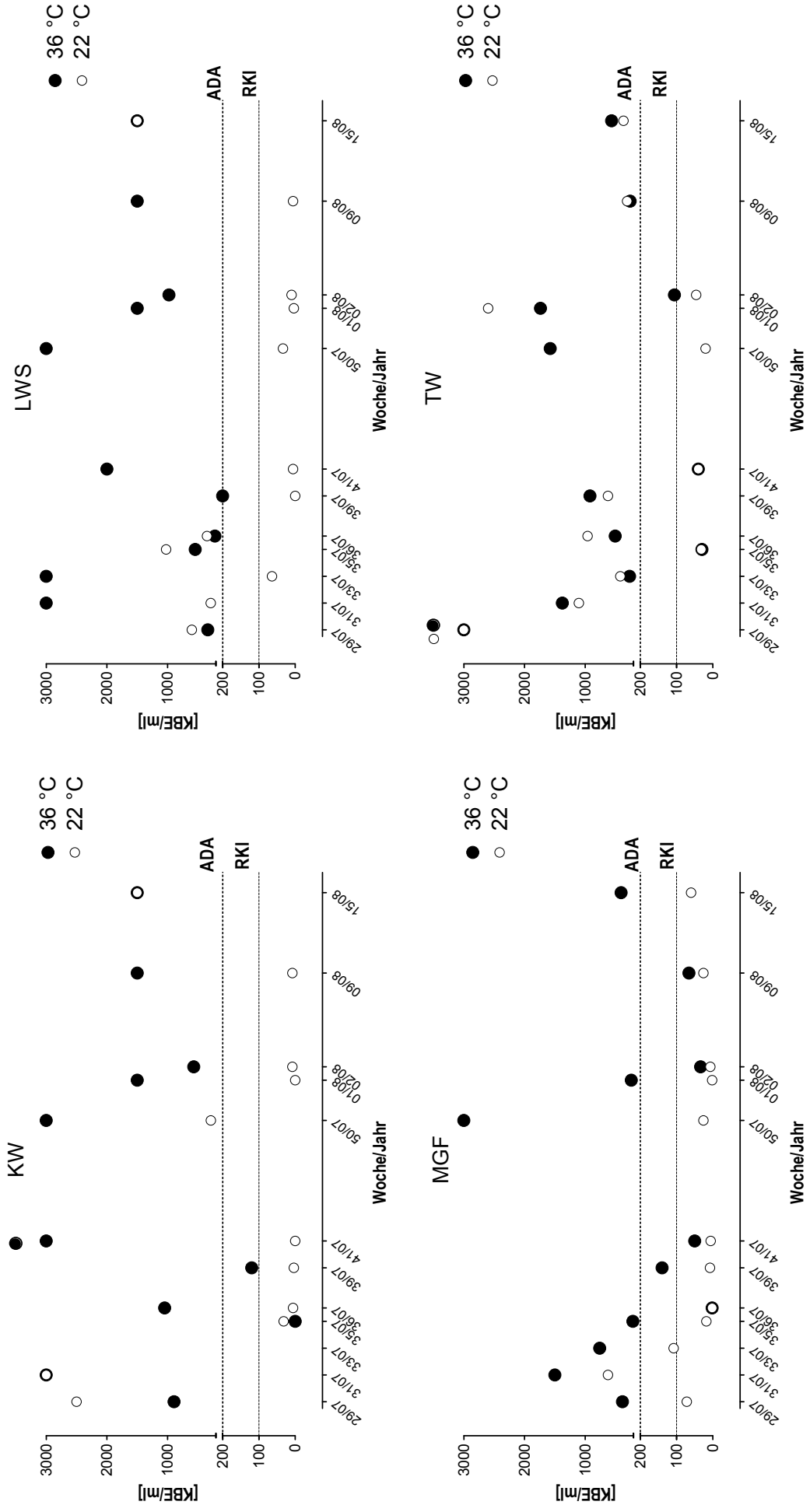


Abbildung 3.5 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 29

BEH 30 (Chlordioxidverfahren)

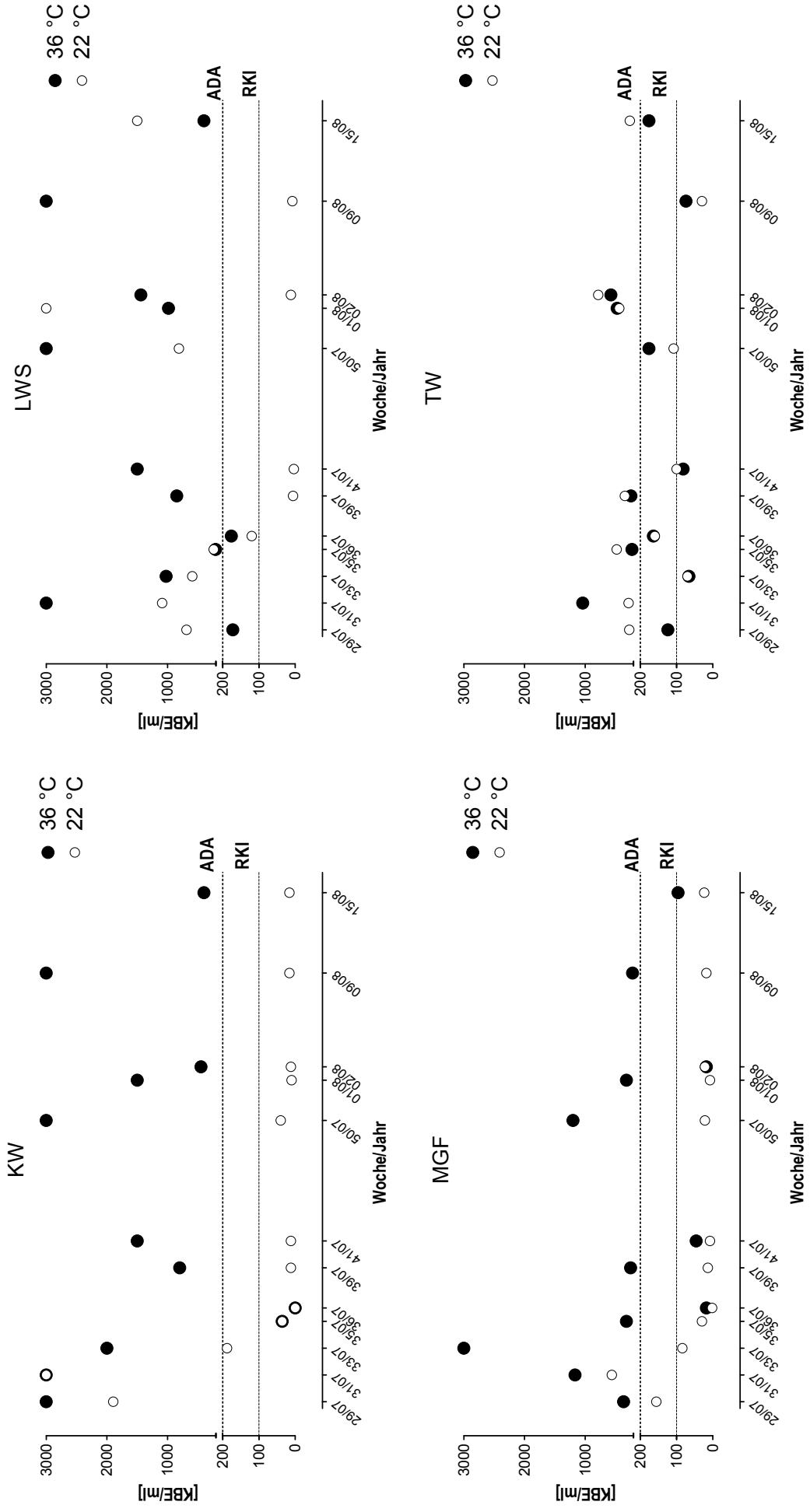


Abbildung 3.6 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 30

3.2.3 Koloniezahlen an den mit Dentosept PL betriebenen BEH

An den mit Dentosept PL betriebenen BEH wurden an neun Untersuchungstagen (siehe Tabelle 3.1) 108 Proben entnommen. Vom vierten Tag der Probeentnahme an der MGF-Entnahmestelle der BEH 25 und vom gesamten achten Tag der Probeentnahme liegt kein Ergebnis für 22 °C vor, da diese Platten anstelle von 22 °C bei 36 °C inkubiert worden sind. Allerdings kann bei diesen Proben hinsichtlich der KRINKO-Empfehlung eine Beurteilung für den Wert bei 36 °C vorgenommen werden.

An der BEH 25 (Abbildung 3.7) liegen an allen Untersuchungstagen, bis auf den dritten Untersuchungstag der LWS-Entnahmestelle, die nachgewiesenen Koloniezahlen deutlich unter 100 KBE/ml. Am vierten Untersuchungstag der MGF-Entnahmestelle liegt kein Ergebnis für 22 °C vor, allerdings genügt die Probe bei 36 °C den Anforderung der KRINKO-Empfehlung. Auch an der BEH 26 (Abbildung 3.8) liegen die Koloniezahlen, bis auf zwei Ausnahmen (KW-Entnahmestelle 31/07 und LWS-Entnahmestelle 29/07), deutlich unter 100 KBE/ml. An der BEH 32 (Abbildung 3.9) weist nur eine Probe der KW-Entnahmestelle bei 36 °C eine Koloniezahl über 100 KBE/ml auf. Alle anderen nachgewiesenen Koloniezahlen liegen meist deutlich unter 100 KBE/ml.

Insgesamt sind an den Wasserauslässen (KW, LWS, MGF) in 78 von 81 untersuchten Proben bei 36 °C Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml festzustellen (siehe Tabelle 3.2). Den Anforderungen der TrinkwV hinsichtlich der Koloniezahl sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C genügen 67 Proben.

BEH 25 (Dentosept PL)

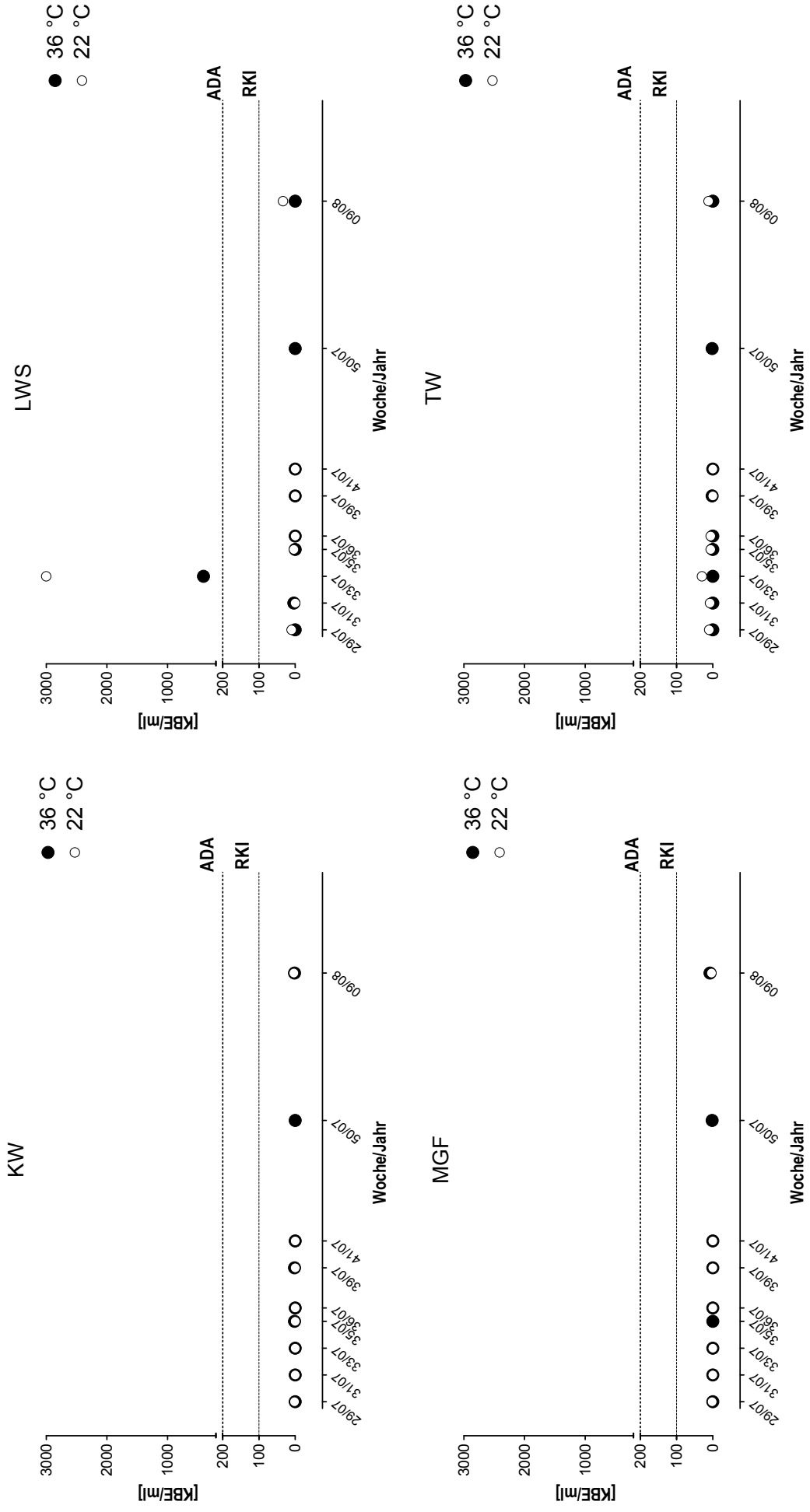


Abbildung 3.7 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 25

BEH 26 (Dentosept PL)

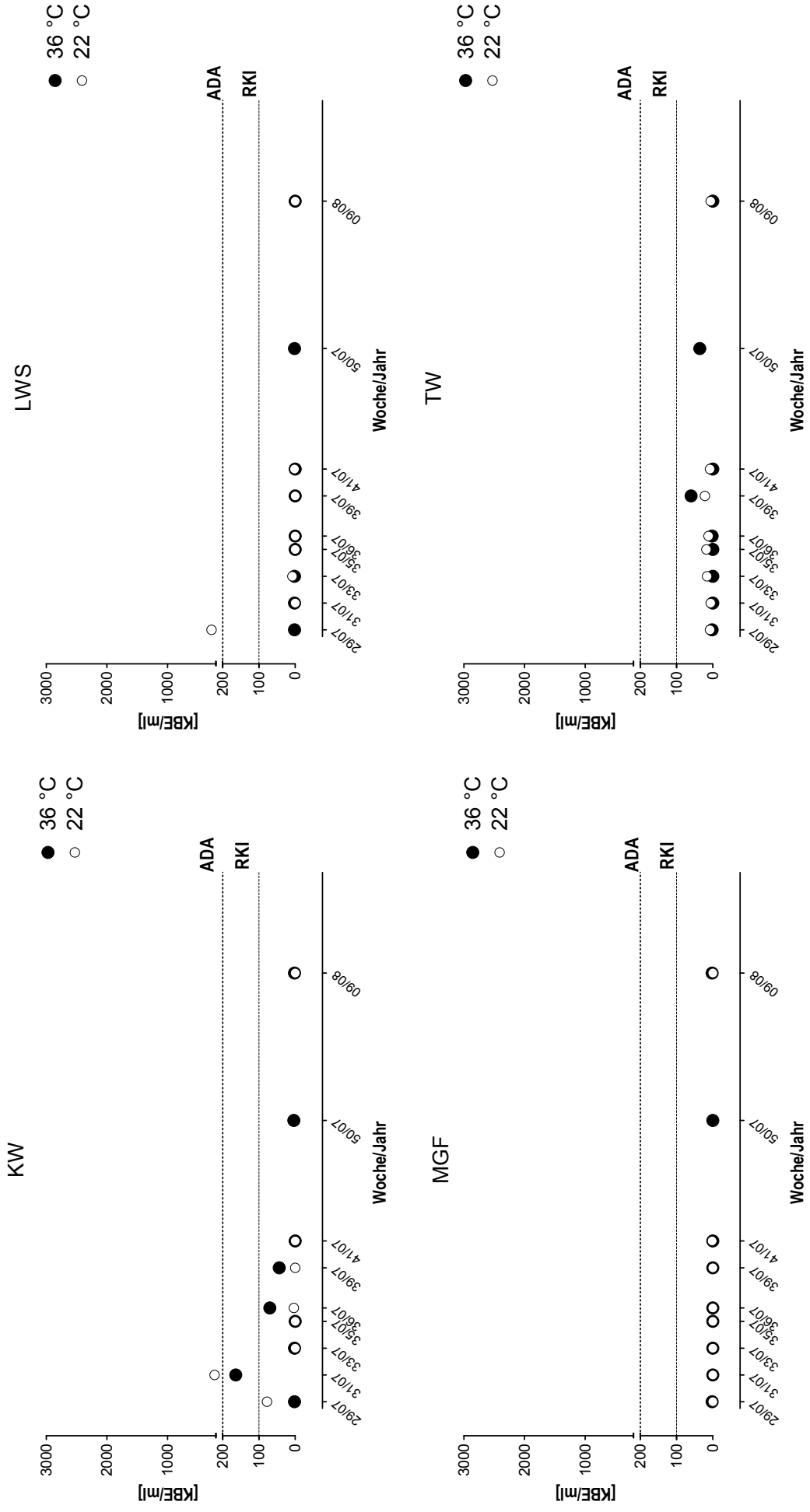


Abbildung 3.8 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 26

BEH 32 (Dentosept PL)

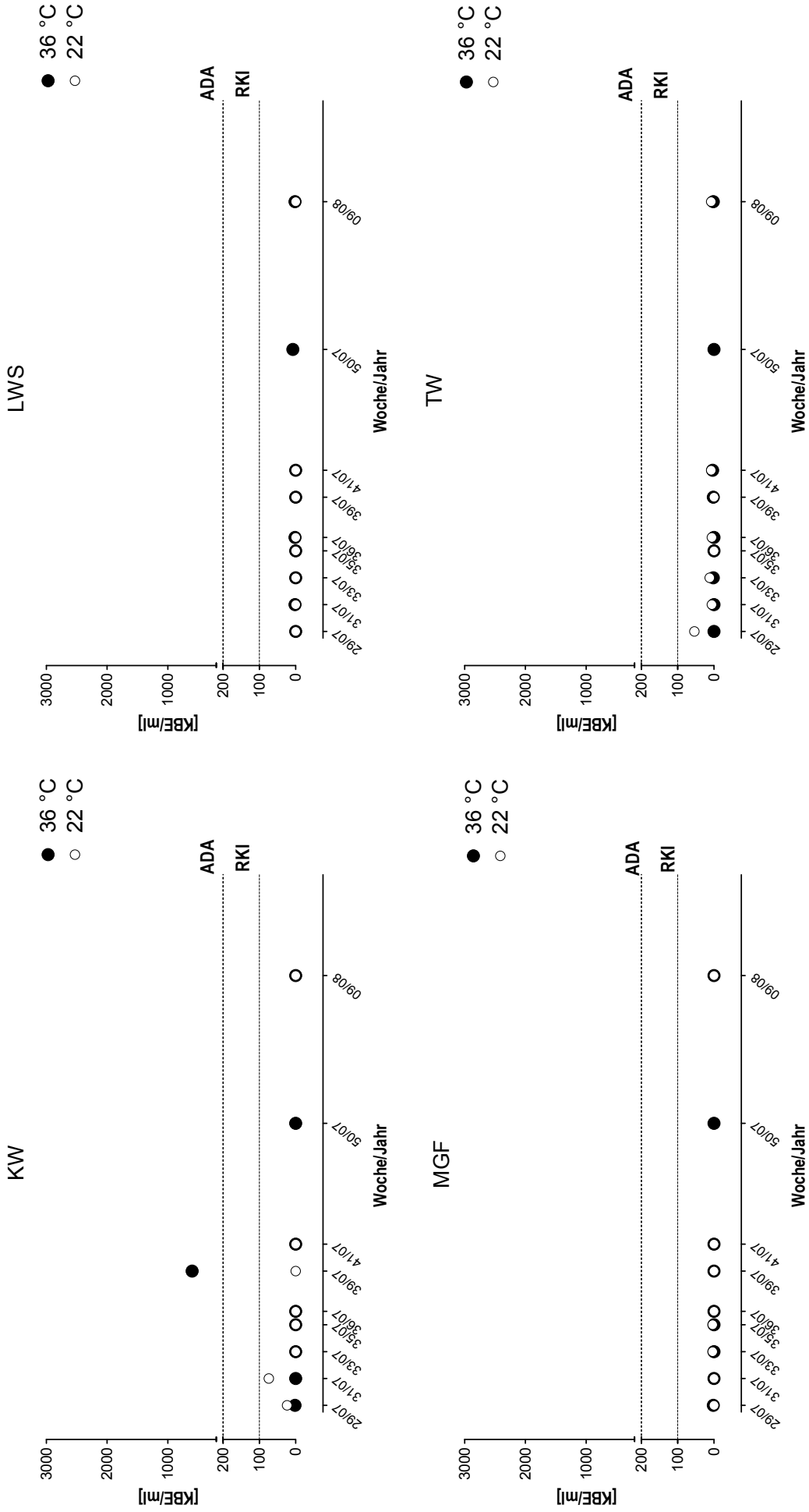


Abbildung 3.9 – Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 32

Desinfektions- verfahren	BEH Nr.	Anzahl Proben, die Vorgaben einhalten			Anzahl Proben, die Vorgaben überschreiten				
		36 °C (KRINKO)	22 °C	36 °C/22 °C (TrinkwV)	36 °C/22 °C (ADA)	36 °C (KRINKO)	22 °C	36 °C/22 °C (TrinkwV)	36 °C/22 °C (ADA)
Anolyte	44	8/27	21/27	8/27	12/27	19/27	6/27	19/27	15/27
	45	7/27	20/27	6/27	7/27	20/27	7/27	21/27	20/27
	46	6/24	23/27	6/24	8/24	18/24	4/27	18/24	16/24
Gesamt		21/78	64/81	20/78	27/81	57/78	17/81	61/78	54/81
Chlordioxid	28	8/36	24/33	7/33	7/33	28/36	9/33	26/33	26/33
	29	5/35	24/35	5/35	8/35	30/35	11/35	30/35	27/35
	30	6/36	23/36	6/36	7/36	30/36	13/36	30/36	29/36
Gesamt		19/107	71/104	18/104	22/104	88/107	33/104	86/104	82/104
Dentosept PL	25	26/27	22/23	22/23	22/23	1/27	1/23	1/23	1/23
	26	26/27	22/24	22/24	22/24	1/27	2/24	2/24	2/24
	32	26/27	24/24	23/24	23/24	1/27	0/24	1/24	1/24
Gesamt		78/81	68/71	67/71	67/71	3/81	3/71	4/71	4/71

Tabelle 3.2 – Anzahl der Proben pro BEH, die den Vorgaben der KRINKO-Empfehlung, der TrinkwV und der ADA genügen (links) bzw. nicht genügen (rechts), zur Anzahl der untersuchten Proben (die endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) für alle Probeentnahmetage zusammengefasst). Da die Bestimmung der Koloniezahl bei 22 °C nach KRINKO-Empfehlung nicht gefordert wird, sind diese Werte separat aufgeführt.

3.2.4 Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle

Im Folgenden werden die Koloniezahlen der äquivalenten Entnahmestellen der drei jeweils mit dem gleichen Desinfektionsmittel betriebenen BEH zusammengefasst. Die Verteilung der Koloniezahlen für die einzelnen Entnahmestellen ist in Abbildung 3.10 für 36 °C und in Abbildung 3.11 für 22 °C in Form von Boxplots dargestellt.

Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle bei 36 °C

Aus der Abbildung 3.10 ist zu erkennen, dass an der KW-Entnahmestelle bei 36 °C die meisten Koloniezahlen des Anolytverfahrens und des Chlordioxidverfahrens über 200 KBE/ml liegen. Beim Chlordioxidverfahren endet das obere Quartil sogar erst bei 3000 KBE/ml. Zudem ist bei diesem Verfahren einmal ein rasenartiges Wachstum auf dem Nährmedium nachweisbar. Beim Verfahren mit Dentosept PL hingegen liegen die meisten Koloniezahlen zumeist ≤ 100 KBE/ml und sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedriger im Vergleich zu den anderen Desinfektionsverfahren. Ähnlich der KW-Entnahmestelle sind die Koloniezahlen an der LWS-Entnahmestelle verteilt. Auch an dieser Entnahmestelle sind die Koloniezahlen des Verfahrens mit Chlordioxid und des Verfahrens mit Anolyte statistisch signifikant ($p < 0,05$) höher als bei dem Verfahren mit Dentosept PL. Allerdings ist im Vergleich zur KW-Entnahmestelle das obere Quartil beim Chlordioxidverfahren kleiner und beim Verfahren mit Anolyte größer. An der MGF-Entnahmestelle liegen im Gegensatz zu der KW- und der LWS-Entnahmestelle, bis auf wenige Ausnahmen, die meisten Koloniezahlen des Verfahrens mit Anolyte ≤ 100 KBE/ml, wodurch auch die Box unter 100 KBE/ml endet. Beim Chlordioxidverfahren sind erneut häufig höhere Koloniezahlen nachweisbar, so dass der Median (291 KBE/ml) und dadurch auch das obere Quartil des Boxplots über 200 KBE/ml liegt. An den mit Dentosept PL betriebenen BEH sind so niedrige Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml nachweisbar, dass ein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied in der Koloniezahlverteilung zu den beiden anderen Verfahren besteht. Auch an der TW-Entnahmestelle sind bei dem Verfahren mit Dentosept PL stets nur Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. Dies ist beim Anolyteverfahren, bei dem der Median bei 6 KBE/ml liegt, bis auf wenige Ausnahmen ähnlich. Dennoch wird anhand des „Mann Whitney Test“ ein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zwischen diesen beiden Verfahren festgestellt. Hingegen sind bei dem Verfahren mit Chlordioxid im TW deutlich öfter höhere Koloniezahlen nachweisbar und es wurde sogar zweimal ein vollständiger Bewuchs der Agar-Platte eruiert. Hier beginnt die Box erst bei 155 KBE/ml, hat ihren Median bei 380 KBE/ml und endet bei 1020 KBE/ml. Es stellt sich ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied des Chlordioxidverfahrens zu den beiden anderen Verfahren heraus.

Bei 36 °C sind an allen Entnahmestellen signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen an den mit Dentosept PL betriebenen BEH im Vergleich zu den anderen beiden Desinfektionsmitteln nachweisbar. Das Anolyteverfahren und das Chlordioxidverfahren weisen an der KW- und auch an der LWS-Entnahmestelle keinen statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied in der Koloniezahlverteilung auf. An der MGF- und der TW-Entnahmestelle sind die beiden Desinfektionsverfahren in der Koloniezahlverteilung statistisch signifikant ($p < 0,05$) verschieden.

Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle bei 22 °C

Die Ergebnisse der Koloniezahlverteilung für jede Entnahmestelle bei 22 °C ist in Abbildung 3.11 dargestellt. An der KW-Entnahmestelle weisen die Proben der mit Dentosept PL betriebenen BEH, bis auf wenige Ausnahmen, Koloniezahlen deutlich ≤ 100 KBE/ml auf. Bei den anderen beiden Verfahren sind bei 22 °C auch höhere Koloniezahlen festzustellen, so dass die Boxen erst über 200 KBE/ml enden. Dennoch liegt beim Chlordioxidverfahren der Median bei 12 KBE/ml und beim Anolyteverfahren bei 0 KBE/ml. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergibt sich bei den KW-Proben bei 22 °C somit nur zwischen dem Chlordioxidverfahren und dem Verfahren mit Dentosept PL.

Ähnlich der KW-Entnahmestelle liegen die Koloniezahlen der Verfahren mit Anolyte und Chlordioxid an der LWS-Entnahmestelle meistens im Bereich unter 200 KBE/ml. Allerdings weist das Verfahren mit Anolyte diesmal einen Median von 4 KBE/ml auf und das obere Quartil endet bei 1152 KBE/ml. Beim Chlordioxidverfahren liegt der Median bei 88 KBE/ml und das obere Quartil endet bei 600 KBE/ml.

An beiden Entnahmestellen (KW und LWS) ist die Koloniezahlverteilung der Verfahren mit Anolyte und Dentosept PL nicht signifikant verschieden. Dies ist bereits durch die nahe beieinanderliegenden Mediane zu vermuten. Jedoch führen die nicht normal verteilten Daten beim Anolyteverfahren im Gegensatz zum Verfahren mit Dentosept PL zu einer hohen Spreizung des oberen Quartils, wodurch im Vergleich zum Verfahren mit Dentosept PL eine höhere Box dargestellt ist. Dies erklärt, warum, trotz optischer großer Unterschiede in den Box-Plots, sich nach dem Mann-Whitney Test kein signifikanter Unterschied in der Koloniezahlverteilung ergibt.

An der MGF-Entnahmestelle bei 22 °C sind beim Verfahren mit Dentosept PL sehr niedrige Koloniezahlen aufzuzeigen. Aber auch bei den beiden anderen Verfahren sind die Koloniezahlen im Vergleich zur KW- und LWS-Entnahmestelle bei 22 °C deutlich niedriger und es liegen alle Boxen vollständig ≤ 100 KBE/ml. Jedoch sind wie bei den anderen Entnahmestellen auch an der MGF-Entnahmestelle häufig höhere Koloniezahlen beim Chlordioxidver-

fahren nachweisbar und es besteht ein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied in der Koloniezahlverteilung zu dem Verfahren mit Anolyte und dem Verfahren mit Dentosept PL.

An der TW-Entnahmestelle weisen auch bei 22 °C die Koloniezahlen der Verfahren mit Dentosept PL und Chlordioxid ein ähnliches Verteilungsmuster auf wie bei 36 °C. Daraus ergeben sich ähnliche statistische Kennwerte mit vergleichbaren Boxplots. Somit wird der schon bei 36 °C beobachtete statistisch signifikante ($p < 0,05$) Unterschied zwischen beiden Verfahren bestätigt. Bei dem Anolyteverfahren liegen die Koloniezahlen an der TW-Entnahmestelle bei 22 °C, bis auf wenige Ausnahmen, ebenfalls ≤ 100 KBE/ml, doch zeigt sich hier eine kleinere Spreizung des oberen Quartils der Box als bei 36 °C. Es ergibt sich im Gegensatz zu 36 °C kein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied in der Koloniezahlverteilung im Vergleich zum Verfahren mit Dentosept PL.

Bei 22 °C konnten an allen Entnahmestellen statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH gegenüber dem Verfahren mit Chlordioxid, nicht aber gegenüber dem Verfahren mit Anolyte gezeigt werden. Bei dem Verfahren mit Anolyte und Chlordioxid sind an der KW- und auch an der LWS-Entnahmestelle keine statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschiede in der Koloniezahlverteilung nachweisbar. An der MGF- und der TW-Entnahmestelle hingegen ist die Koloniezahlverteilung der beiden Verfahren statistisch signifikant ($p < 0,05$) verschieden.

3.2.5 Koloniezahlverteilung der Entnahmestellen KW, LWS und MGF für alle Probeentnahmetage zusammengefasst

In Abbildung 3.12 sind die Desinfektionsmittelverfahren durch Zusammenfassung der Entnahmestellen KW, LWS und MGF dargestellt. Es bestätigt sich der für die einzelnen Entnahmestellen zu beobachtende Trend, dass bei 36 °C statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen in den Proben der mit Dentosept PL betriebenen BEH gegenüber den beiden anderen Desinfektionsverfahren nachweisbar sind. Bei 22 °C hingegen sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen in den Proben der mit Dentosept PL betriebenen BEH gegenüber dem Chlordioxidverfahren, aber nicht gegenüber dem Verfahren mit Anolyte nachweisbar.

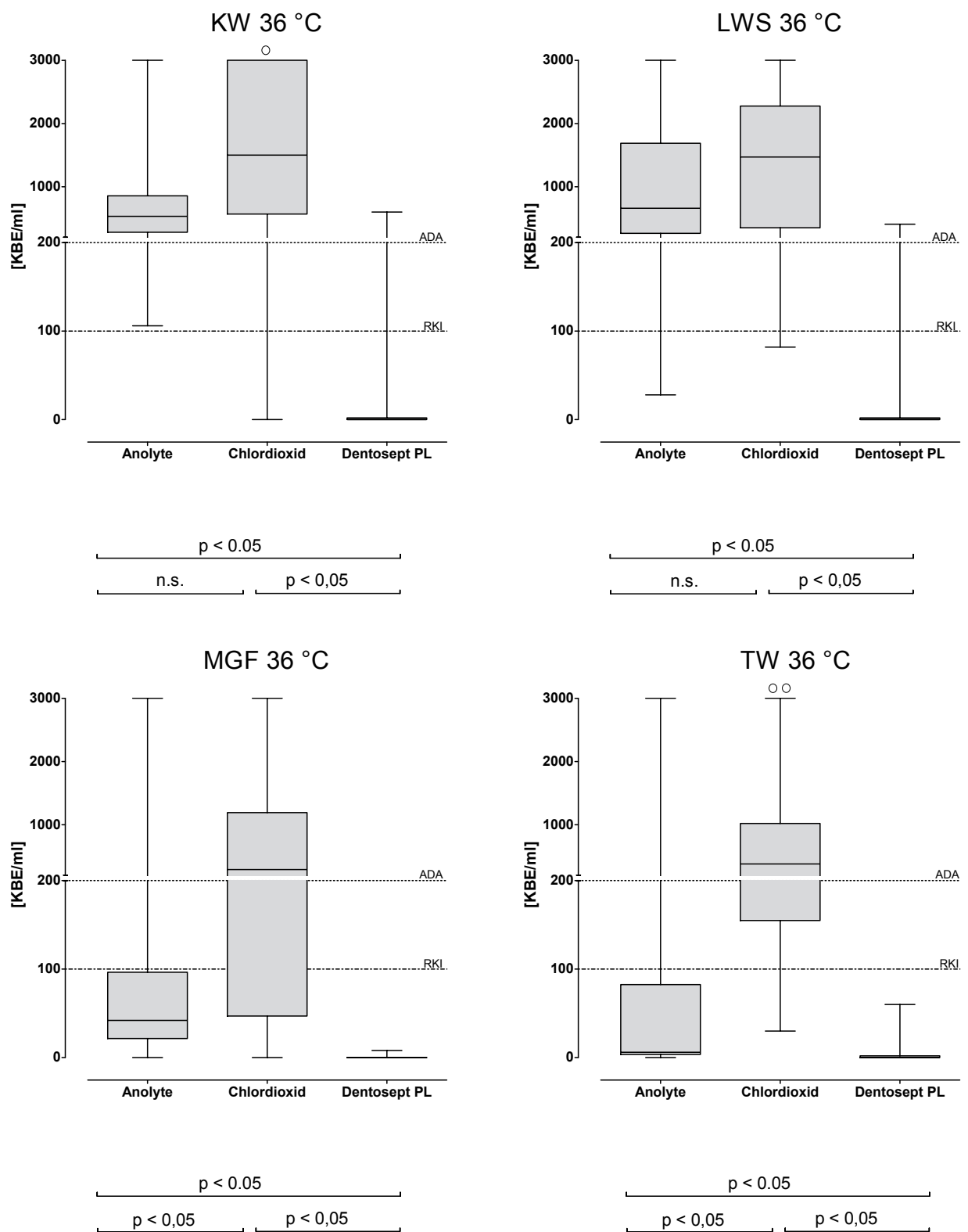


Abbildung 3.10 – Boxplot-Darstellungen der nach Desinfektionsverfahren zusammengefassten Koloniezahlen [KBE/ml] aller Probeentnahmetage für jede Entnahmestelle bei 36 °C (n.s.: nicht signifikant)

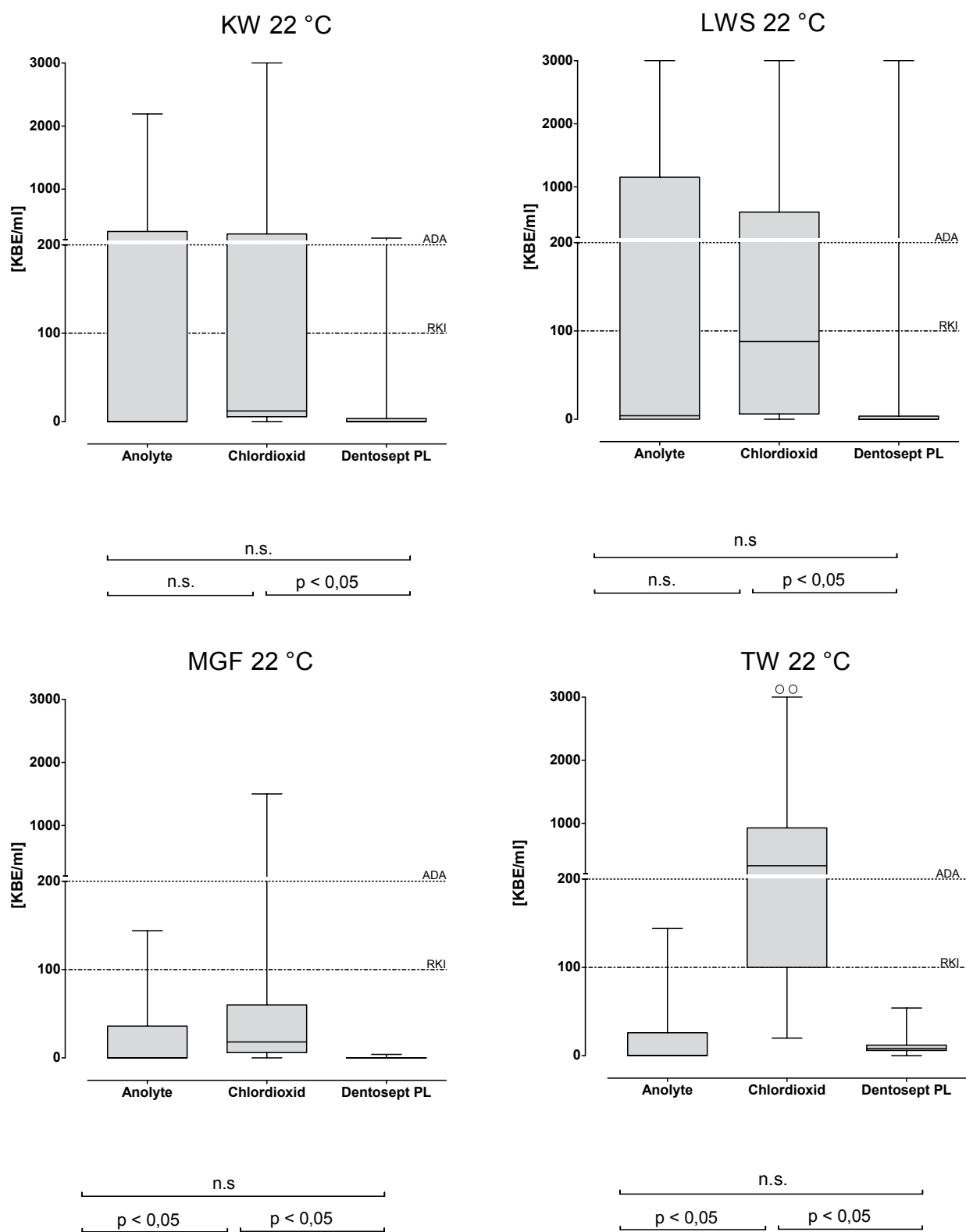


Abbildung 3.11 – Boxplot-Darstellungen der nach Desinfektionsverfahren zusammengefassten Koloniezahlen [KBE/ml] aller Probeentnahmetage für jede Entnahmestelle bei 22 °C (n.s.: nicht signifikant)

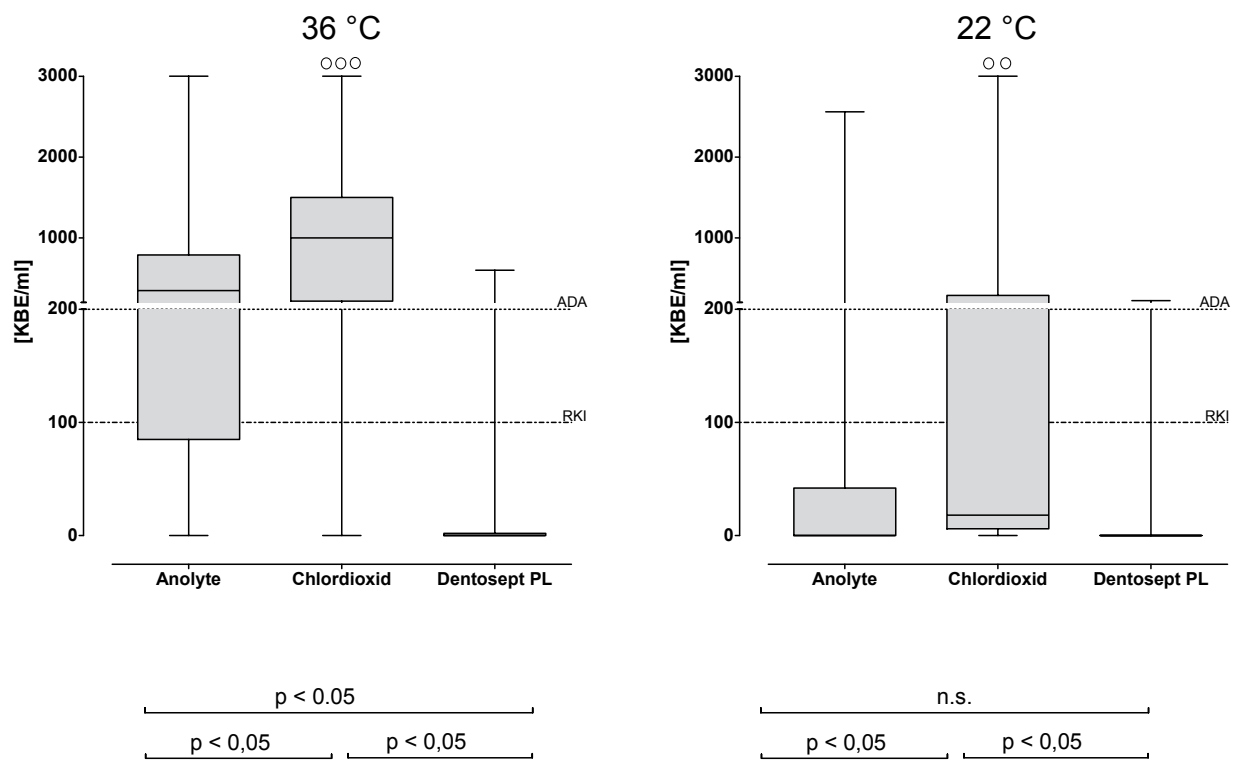


Abbildung 3.12 – Koloniezahlverteilung der unterschiedlichen Desinfektionsmittelverfahren für alle Probeentnahmetage und für die Entnahmestellen KW, LWS und MGF zusammengefasst (n.s.: nicht signifikant)

3.2.6 Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel und jede Entnahmestelle

Für die Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.15 wurden die Koloniezahlen den folgenden Gruppen zugeordnet: 0 bis ≤ 100 KBE/ml, 101 bis ≤ 200 KBE/ml, 201 bis ≤ 1000 KBE/ml und über 1000 KBE/ml. Die Gruppierung der Werte erfolgte gemäß den in Kapitel 2.6.1 beschriebenen Kriterien. Da in dieser Arbeit auch untersucht werden sollte, ob mit der von der KRINKO-Empfehlung vorgegebenen mikrobiologischen Überprüfung der BEH bei nur 36 °C eine ausreichende Aussage hinsichtlich des mikrobiologischen Zustandes der BEH getroffen werden kann, sind in den folgenden Darstellungen die Ergebnisse bei 36 °C und 22 °C gegenübergestellt.

Häufigkeitsverteilung bei den mit Anolyte betriebenen BEH

Abbildung 3.13 zeigt die prozentuale Verteilung der Koloniezahlen der mit Anolyte betriebenen BEH. Bei 36 °C weisen die Proben der KW- und der LWS-Entnahmestellen überwiegend hohe Koloniezahlen in den Bereichen von 201 - 1000 KBE/ml und über 1000 KBE/ml auf. In keiner Probe der KW-Entnahmestellen sind Koloniezahlen im Bereich ≤ 100 KBE/ml nachweisbar. Hingegen weisen im Mittel 76,7 % der MGF-Proben und 77 % der TW-Proben Koloniezahlen im niedrigsten Bereich von ≤ 100 KBE/ml auf.

Bei 22 °C sind niedrige Koloniezahlen häufiger nachzuweisen. Im Unterschied zu 36 °C weisen bei 22 °C nicht nur die meisten Proben der TW- und der MGF-Entnahmestellen, sondern auch die meisten Proben der KW- und der LWS-Entnahmestellen niedrige Koloniezahlen von unter 100 KBE/ml auf. Bei den TW- und den MGF-Entnahmestellen liegen die Koloniezahlen aller weiteren Proben noch im Bereich der bis 2003 geltenden Anforderung der ADA. Hingegen sind in den Proben der KW- und den LWS-Entnahmestellen auch hohe Koloniezahlen im Bereich von über 1000 KBE/ml belegbar.

Häufigkeitsverteilung bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH

Die Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen der mit Chlordioxid betriebenen BEH ist in Abbildung 3.14 dargestellt. Bei 36 °C sind hohe Koloniezahlen häufiger aufzuzeigen als niedrige Koloniezahlen. Mehr als die Hälfte der Proben der KW- und der LWS-Entnahmestellen enthalten Koloniezahlen im obersten Wertebereich von über 1000 KBE/ml. Jeweils etwa ein Drittel der Proben des MGF weisen Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml, 201 - 1000 KBE/ml und über 1000 KBE/ml auf.

Bei 22 °C liegen im Vergleich zu 36 °C häufiger niedrige Koloniezahlen vor. Die meisten Proben der KW-, der LWS- und der MGF-Entnahmestellen weisen Koloniezahlen im Bereich von ≤ 100 KBE/ml auf. Nur etwa ein Viertel der TW-Proben liegen in diesem Bereich. Die meisten der TW-Proben weisen Koloniezahlen im Bereich von 201 - 1000 KBE/ml auf.

Häufigkeitsverteilung bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH

Sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C sind bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH, bis auf wenige Ausnahmen, niedrige Koloniezahlen nachweisbar. Bei den MGF- und den TW-Entnahmestellen liegen die Koloniezahlen aller Proben im Bereich von ≤ 100 KBE/ml. Aber auch die meisten Proben der KW- und der TW-Entnahmestellen zeigen Koloniezahlen in diesem Bereich auf (siehe Abbildung 3.15).

3.2.7 Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel

Die Häufigkeitsverteilung der Koloniezahlen der jeweiligen Desinfektionsmittel ist in Abbildung 3.16 dargestellt. Bei 36 °C weisen an den endständigen Entnahmestellen der mit Dentosept PL betriebenen BEH im Mittel 96 % der Proben Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml auf. An den mit Anolyte betriebenen BEH konnten dies lediglich 27 % und an den mit Chlordioxid nur noch 18 % der Proben erreichen. An den mit Anolyte betriebenen BEH sind am häufigsten Koloniezahlen im Bereich von 201 - 1000 KBE/ml und an den mit Chlordioxid sind am häufigsten Koloniezahlen über 1000 KBE/ml nachweisbar.

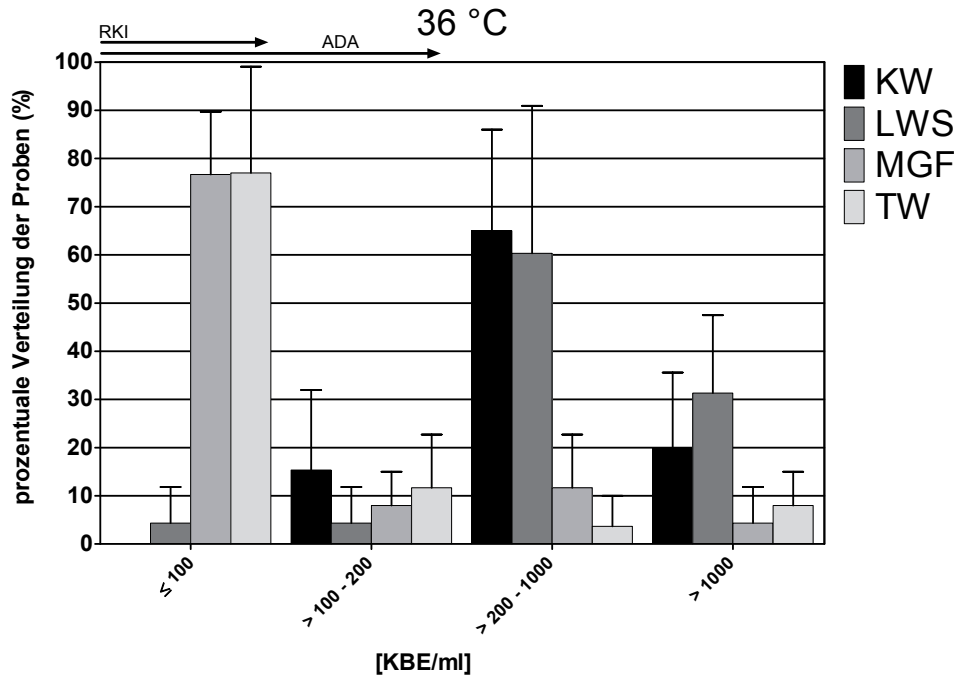
Im Unterschied zu 36 °C liegen bei 22 °C bei jedem Desinfektionsverfahren die Koloniezahlen der meisten Proben im kleinsten Wertebereich von ≤ 100 KBE/ml. Bei den mit Dentosept PL betriebenen Einheiten sind dies im Mittel 96 % der Proben, beim Verfahren mit Anolyte noch 79 % und beim Verfahren mit Chlordioxid noch 69 % der Proben. Andererseits haben immer noch 15 % der Proben der mit Anolyte betriebenen und 12 % der Proben der mit Chlordioxid betriebenen BEH Koloniezahlen über 1000 KBE/ml.

3.2.8 Der Trinkwasserverordnung entsprechende Proben

In Abbildung 3.17 sind für jedes Desinfektionsmittel und jede Entnahmestelle die mittleren Anteile der Proben dargestellt, die sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml aufweisen und somit hinsichtlich der Koloniezahl der TrinkwV entsprechen.

Anolyte

a)



b)

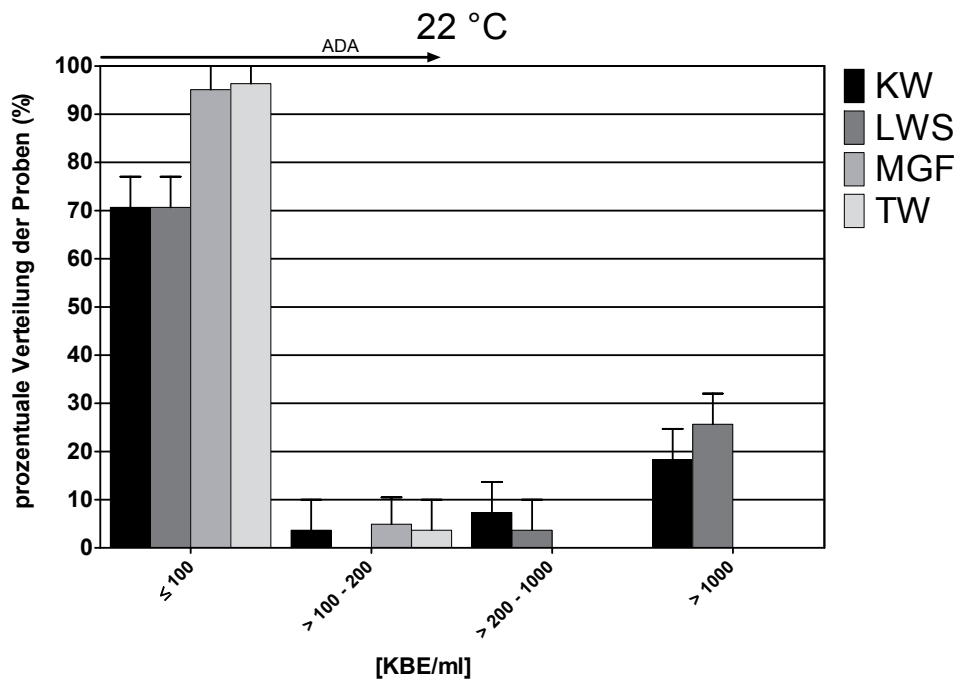


Abbildung 3.13 – Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Anolyte betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probenentnahmetage zusammengefasst)

Chlordioxid

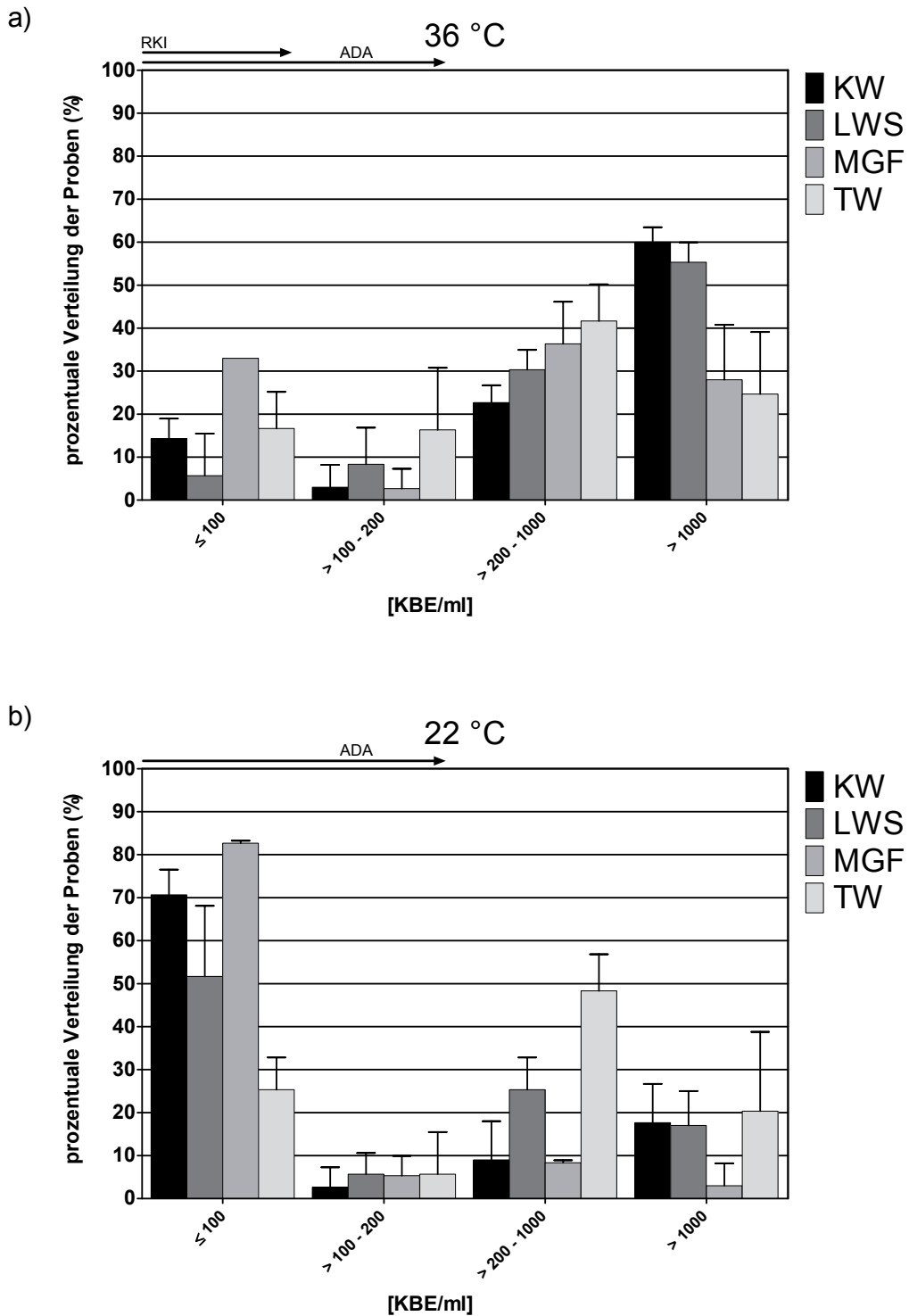


Abbildung 3.14 – Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probenentnahmetage zusammengefasst)

Dentosept PL

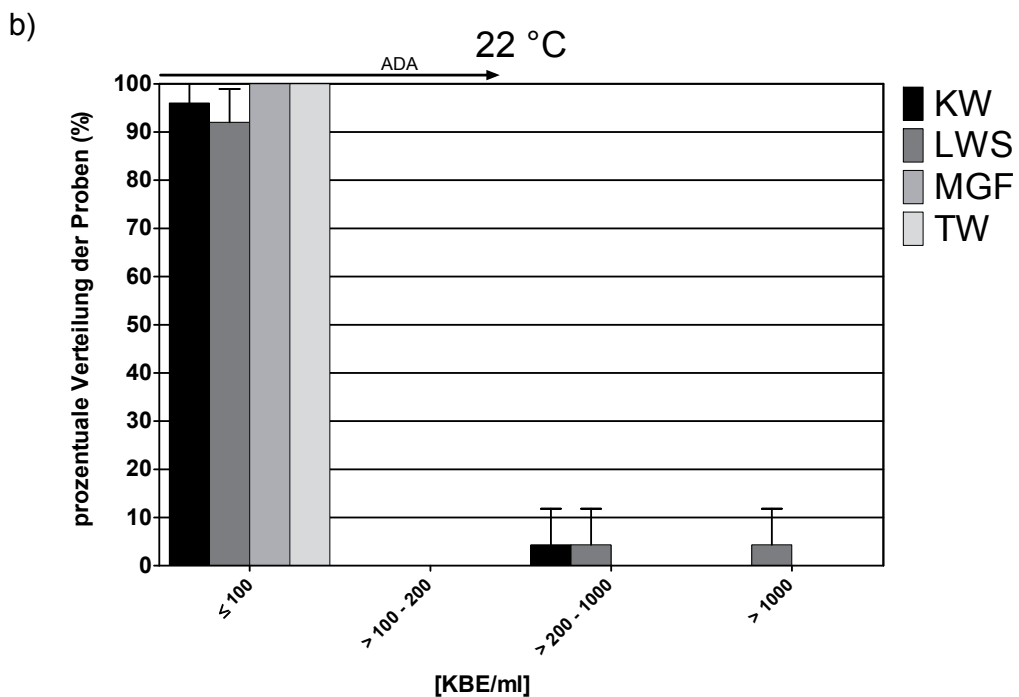
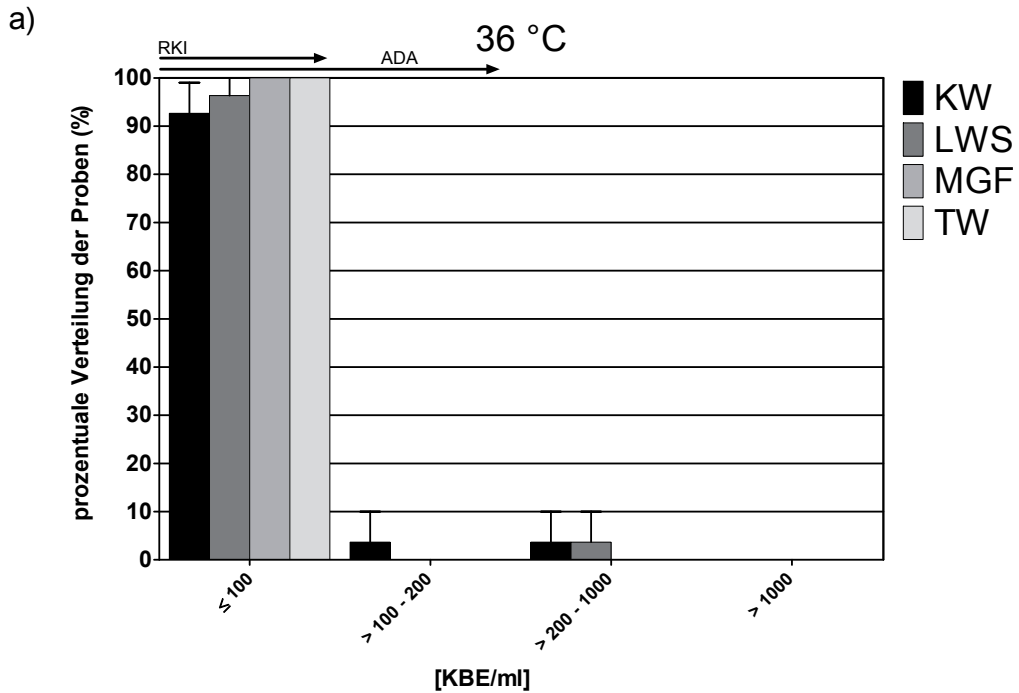


Abbildung 3.15 – Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probenentnahmetage zusammengefasst)

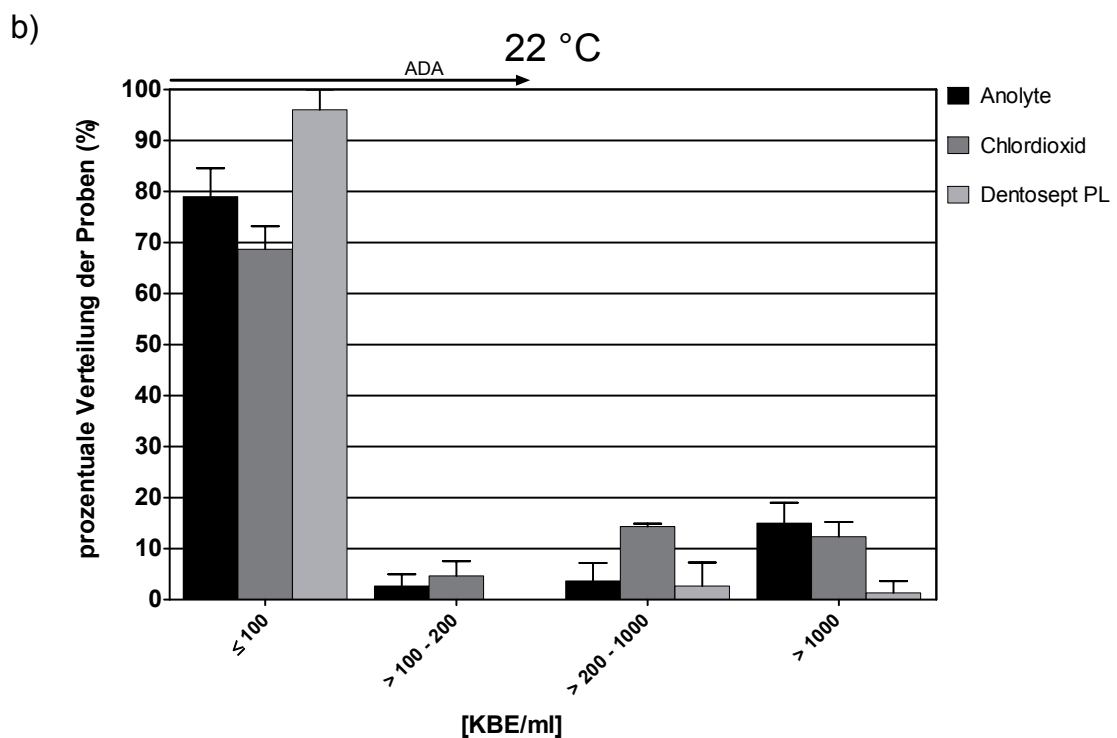
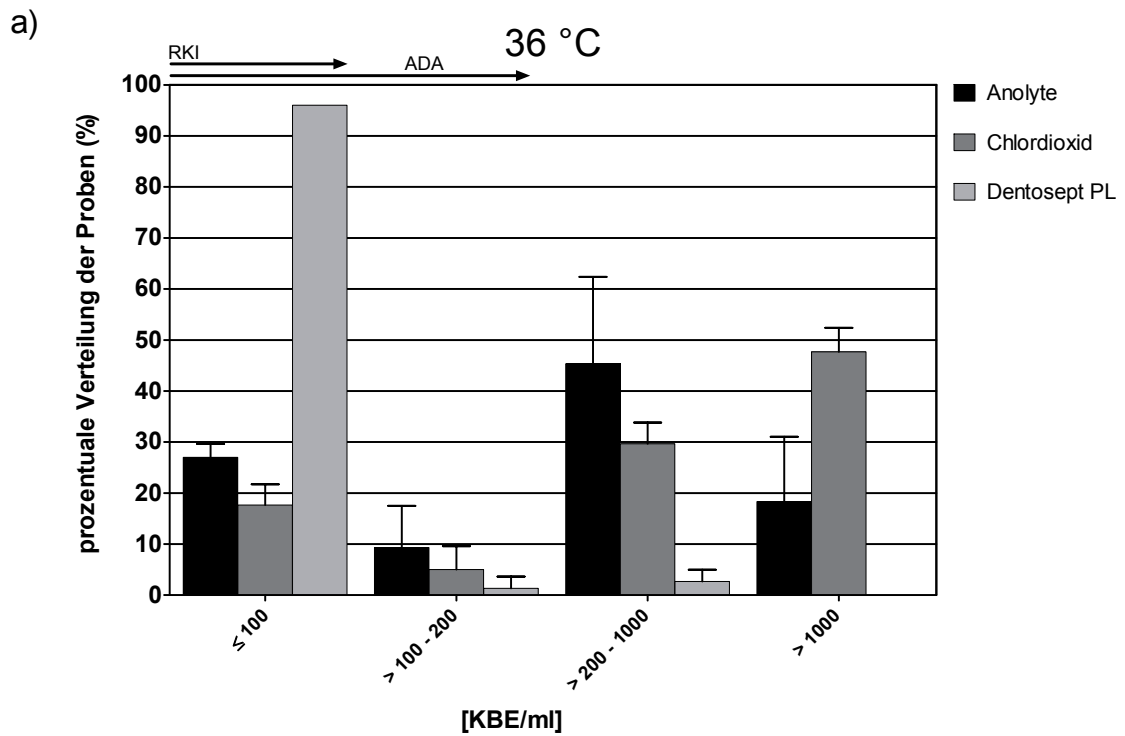


Abbildung 3.16 – Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (die Entnahmestellen KW, LWS und MGF und allen Probeentnahmetagen zusammengefasst)

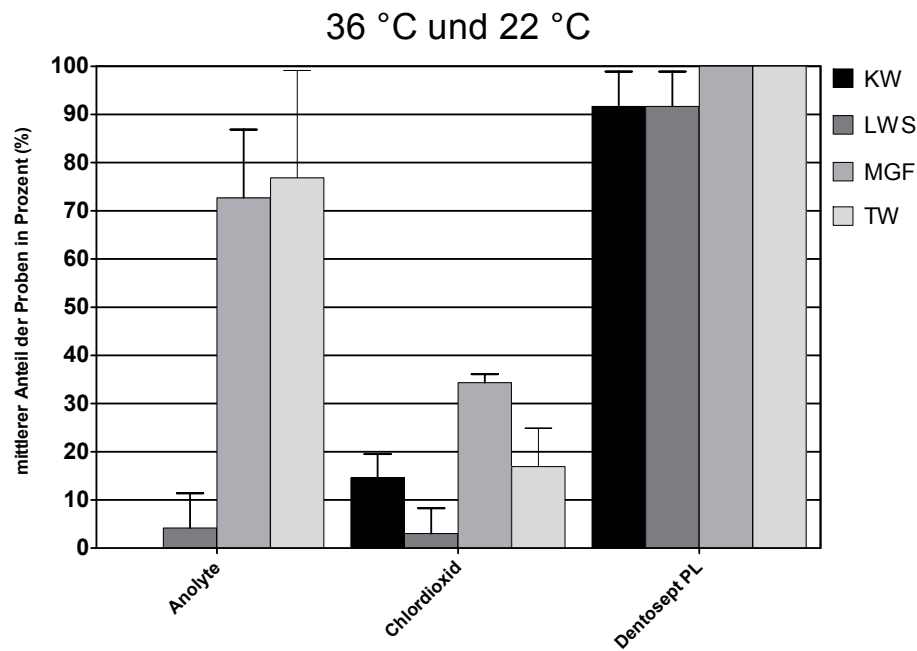


Abbildung 3.17 – Mittlerer Anteil der Proben in Prozent (%), die hinsichtlich der Koloniezahl der TrinkwV entsprechen, für jedes Desinfektionsverfahren und jede Entnahmestelle

Die Proben aus den mit Dentosept PL betriebenen BEH erfüllen an allen vier Probenahmestellen zu über 90 % die o. g. Anforderungen. An den mit Anolyte betriebenen BEH weisen über 70 % der Proben aus den MGF- und den TW-Entnahmestellen sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf, während keine der Proben aus den KW-Entnahmestellen und nur wenige Proben aus der LWS-Entnahmestelle den Anforderungen genügen. Bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH weisen an allen Entnahmestellen nur wenige Proben bei beiden Temperaturen Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf.

3.2.9 Mikrokolonien

Beim seitlichen Betrachten der Nährböden im Licht wurden sehr kleine durchsichtig erscheinende Kolonien detektiert. Diese wurden als Mikrokolonien (MK) bezeichnet und in Abhängigkeit von ihrer Koloniegröße in drei Größen eingeteilt. Dabei stellten die Mikrokolonien der Größe MK3 kleine, MK2 sehr kleine und MK1 winzige Kolonien dar. Da ihr Vorkommen nur näherungsweise erfasst werden konnte, wurde versucht, die Anzahl der Kolonien zu schätzen und die Häufigkeit ihrer Vorkommen in folgende Gruppen eingeteilt:

1. keine Mikrokolonien: 0 KBE/ml
2. wenige Mikrokolonien: bis zu 50 KBE/ml
3. viele Mikrokolonien: bis zu 1500 KBE/ml
4. sehr viele Kolonien: über 1500 KBE/ml

Zur Darstellung der Mikrokolonien, die bei den jeweiligen Proben aufgefallen sind, wird für jedes Desinfektionsmittel eine nach folgender Auflistung angegebene farbliche Codierungen bevorzugt.

	0	KBE/ml	nicht vorhanden	grün	
1	-	50	KBE/ml	wenige Mikrokolonien	gelb
51	-	1500	KBE/ml	viele Mikrokolonien	orange
	>	1500	KBE/ml	sehr viele Mikrokolonien	rot

Anolyteverfahren

Eine farblich Übersicht über die Mikrokolonien der mit Anolyte betriebenen BEH ist in Abbildung 3.18 dargestellt. Insgesamt fällt bei Abbildung 3.18 auf, dass bei 22 °C, besonders an der KW- und LWS-Entnahmestelle, weniger grüne Felder vorhanden sind als bei 36 °C. Bei 36 °C sind an diesen beiden Entnahmestellen 100 und bei 22 °C 52 grüne Felder (keine Mikrokolonien vorhanden) abgebildet.

Häufig sind in einer Probe Mikrokolonien bei 22 °C nachweisbar, nicht aber bei 36 °C. Beispielsweise sind in den MGF-Proben der BEH 44 vom 31.07.2007 und 14.08.2007 und der BEH 45 vom 14.08.2007 und 11.12.2007 Mikrokolonien bei 22 °C zu beobachten, während bei 36 °C keine Mikrokolonien nachweisbar sind. Dies trifft ebenfalls für Proben aus der KW-Entnahmestelle der BEH 44 vom 17.07.2007, 31.07.2007, vom 14.08.2007 und bei Proben der BEH 45 vom 17.07.2007 und 14.08.2007 sowie der BEH 46 vom 17.07.2007 und 09.10.2007 zu.

Auch der umgekehrte Fall kommt vor, jedoch seltener. So ist in der MGF-Probe vom 25.09.2007 der BEH 46 ein „sehr starkes“ Wachstum an MK2 bei 36 °C vorhanden, während bei 22 °C keine Mikrokolonien aufgezeigt werden können.

Ein genereller Trend einer Zu- oder Abnahme der Mikrokolonien im Verlauf der Untersuchung ist bei diesem Desinfektionsverfahren nicht zu erkennen.

Chlordioxidverfahren

Die Übersicht über die Mikrokolonien der mit Chlordioxid betriebenen BEH ist in Abbildung 3.19 dargestellt.

Auch bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH fällt auf, dass bei 22 °C weniger grüne Felder (121 mal keine Mikrokolonien) vorhanden sind als bei 36 °C (231 mal keine Mikrokolonien). In insgesamt 10 Proben der KW-, der LWS- und der MGF-Entnahmestellen und in 7 Proben der TW-Entnahmestellen sind bei 22 °C Mikrokolonien vorhanden, während diese bei 36 °C nicht nachzuweisen sind. Das bei 36 °C Mikrokolonien nachweisbar sind, aber nicht bei 22 °C, wird in 5 Proben der MGF- und in einer Probe der KW-Entnahmestelle dargestellt. In der Abbildung 3.19 sind viele rote Felder abgebildet (bei 36 °C 68, bei 22 °C 83), die den Nachweis von über 1500 Mikrokolonien pro Milliliter symbolisieren.

Dentosept PL Verfahren

In der Abbildung 3.20 sind die Mikrokolonien der mit Dentosept PL betriebenen BEH dargestellt. Im Unterschied zu dem Anolyteverfahren und dem Chlordioxidverfahren konnten bei dem Verfahren mit Dentosept PL kaum Mikrokolonien nachgewiesen werden. Bei 22 °C sind in 21 der KW-, der LWS- und der MGF-Entnahmestellen und in 6 Proben der TW-Entnahmestellen Mikrokolonien aufgefallen. Bei 36 °C weisen an den endständigen Entnahmestellen und an den TW-Entnahmestellen jeweils 3 Proben Mikrokolonien auf. An den MGF-Entnahmestellen konnten bei 36 °C keine Mikrokolonien nachgewiesen werden.

Anolyte

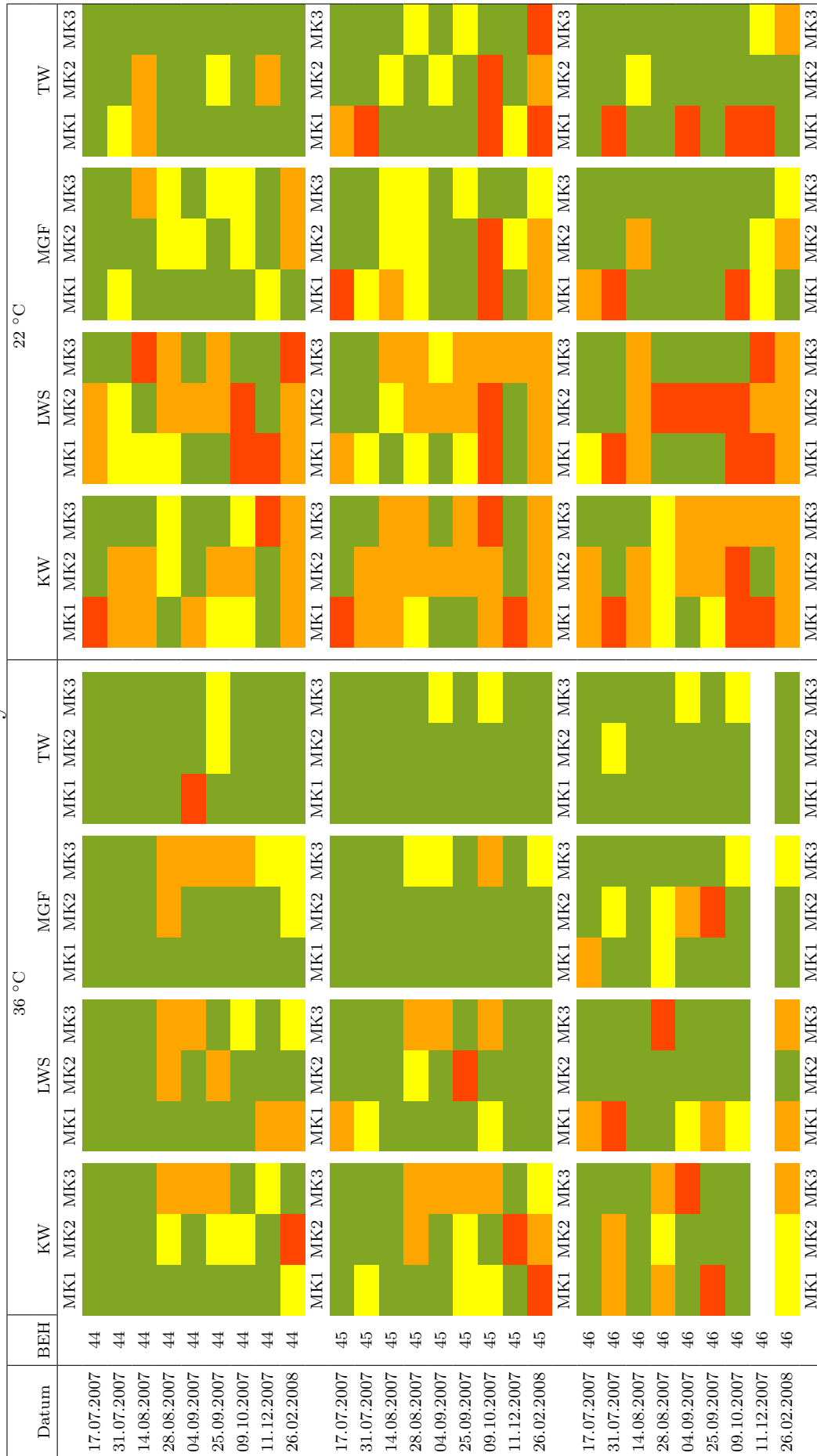


Abbildung 3.18 – Nachweis der Mikrokolonien für die mit Anolyte betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)

Chlordioxid

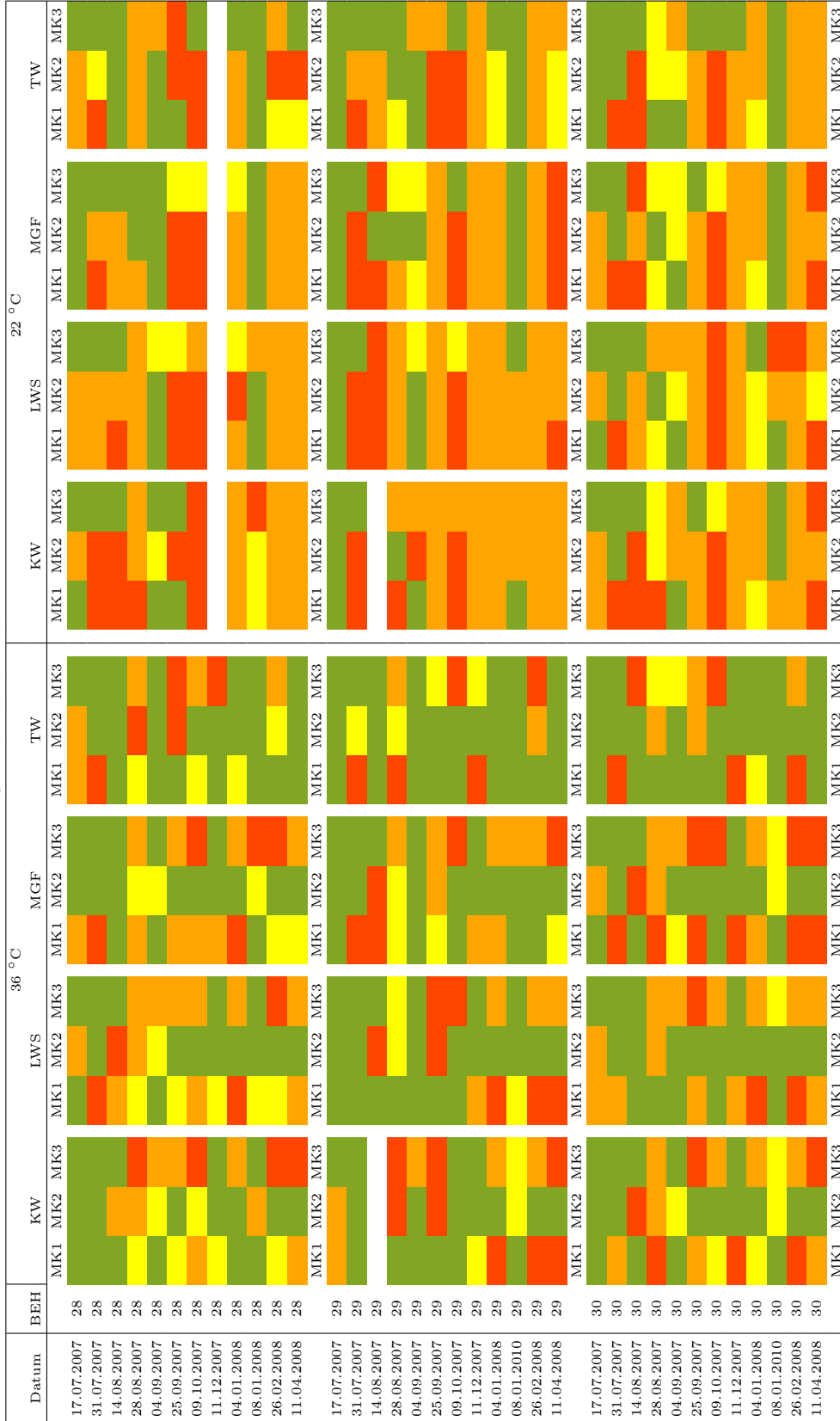


Abbildung 3.19 – Nachweis der Mikrokolonien für die mit Chlordioxid betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)

Dentosept PL

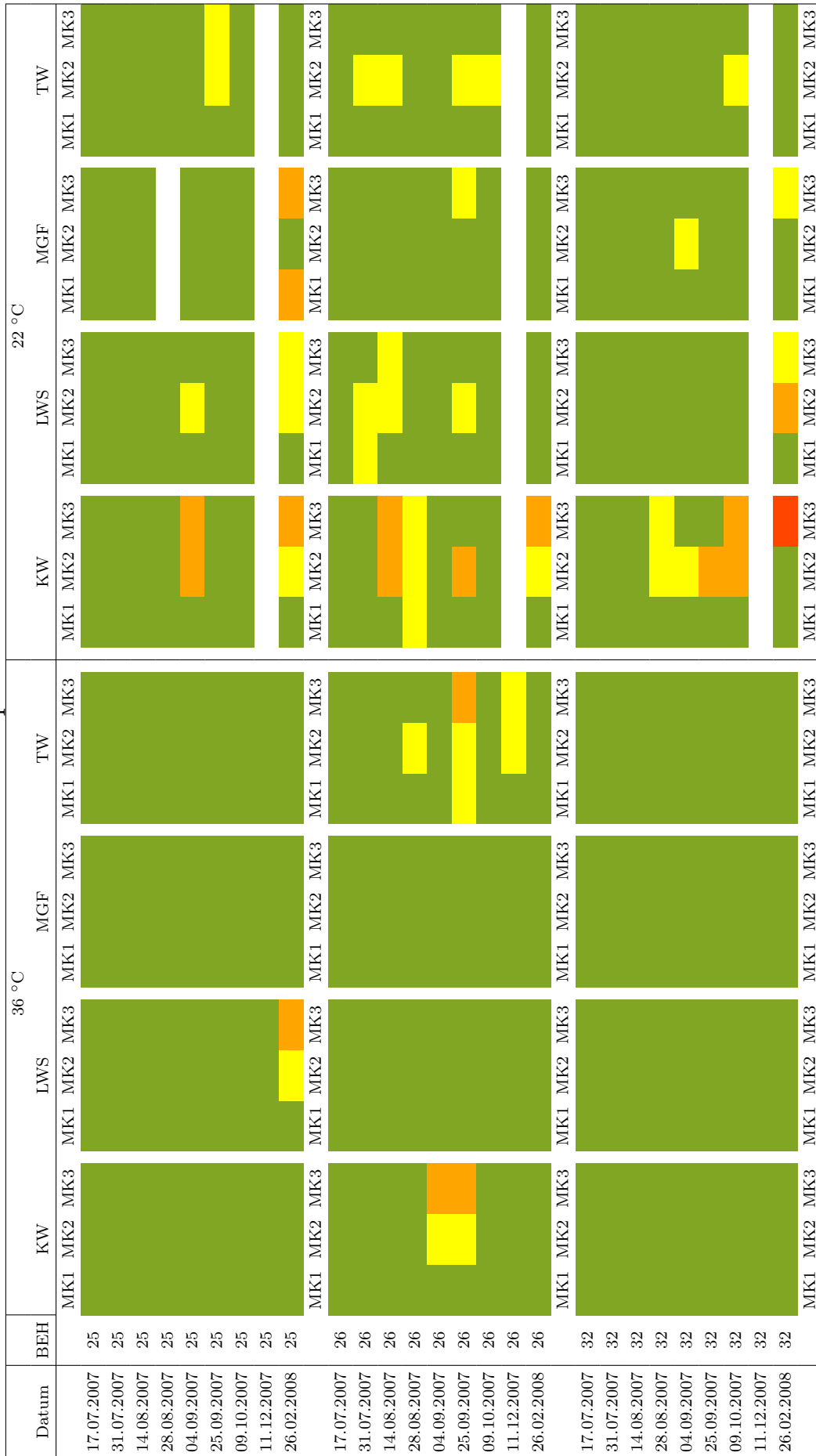


Abbildung 3.20 – Nachweis der Mikrokolonien für die mit Dentosept PL betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)

Häufigkeiten der in einer Probe nachweisbaren Mikrokolonien

Um eine Aussage über die Häufigkeit der in einer Probe nachgewiesenen Kombination an Mikrokolonien an den mit unterschiedlichen Desinfektionsmittel betriebenen BEH treffen zu können, wird folgendes Zuordnungsverfahren für jede Probe entwickelt. Dem Nachweis von Mikrokolonien bei 22 °C wird der Zahlenwert 1, bei 36 °C der Zahlenwert 2 und bei beiden Temperaturen der Zahlenwert 3 zugeordnet. Zudem wird je nach Größe der Mikrokolonien dieser Zahlenwert mit unterschiedlichen Zehnerpotenzen multipliziert. Dieser ist für die Mikrokolonien MK1 „einhundert“, für MK2 „zehn“ und für MK3 nur „eins“. Sind keine Mikrokolonien nachweisbar, so wird der Wert „0“ zugeordnet. Damit kann für jede Größe der Mikrokolonien ein spezifischer Zahlenwert vergeben werden. Dieser codiert für die jeweilige Mikrokolonie, ob und wenn ja, bei welchen Temperaturen sie vorliegen. Werden die für jede Probe vorliegenden Produkte anschließend addiert, erhält man eine Summe, mit der eine genaue Aussage über die in einer Probe nachgewiesenen Mikrokolonien getroffen werden kann. Da bei dieser Darstellung mit nur einer Zahl eine Aussage zur Probe gemacht werden soll, werden nur Proben berücksichtigt, die auch bei beiden Inkubationstemperaturen ausgewertet werden konnten. In der folgenden Tabelle 3.3 sind die möglichen Variationen und Häufigkeiten der sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C in einer Probe nachweisbaren Mikrokolonien (MK1, MK2 und MK3) für die unterschiedlichen Desinfektionsverfahren und deren Entnahmestellen anhand einer mathematischen Beschreibung aufgezeigt.

An den mit Anolyte betriebenen BEH sind an den KW-, den LWS- und den MGF-Entnahmestellen in 77 von den bei beiden Inkubationstemperaturen ausgewerteten 78 Proben (99 %) Mikrokolonien aufgefallen. Wie die Tabelle 3.3 darstellt, ist die Variation der nachweisbaren Mikrokolonien an den mit Anolyte betriebenen BEH sehr unterschiedlich.

An den mit Chlordioxid betriebenen BEH sind in 102 von 104 Proben (98 %) Mikrokolonien aufzuzeigen. Auffallend häufig (29 %) sind bei diesen BEH in den Proben der KW- (9), der LWS- (11) und der MGF-Entnahmestellen (10) bei beiden Temperaturen Mikrokolonien MK1 und MK3 und bei 22 °C Mikrokolonien MK2 vorhanden.

An den mit Dentosept PL betriebenen BEH sind in 22 von 71 Proben (31 %) Mikrokolonien nachweisbar. In 19 der 22 Proben (86 %) liegen die Mikrokolonien ausschließlich bei 22 °C vor. Wobei am häufigsten (8 Proben) in einer Probe gleichzeitig die Mikrokolonien MK2 und MK3 vorhanden sind.

22 °C	MK1			MK2			MK3			Anolyte						Chlordioxid						Dentosept PL																	
	36 °C	22 °C/ 36 °C	36 °C	22 °C	36 °C	22 °C/ 36 °C	22 °C	36 °C	22 °C/ 36 °C	XX1	XX2	XX3	Summe	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW								
	2XX	3XX	X20	X10	X20	X30	X11	X12	X13																														
100													000	2	3	1	5	6	4	1	7	1	1	2	2	6	2	2	2	2	6	17							
				10			1						100													2	2	2	2	2	6	17							
100				10									001	4	2	6	8	1	3	2	1	1	1	6	6	1	1	1	1	1	4	4							
100				10			1						101	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4							
100				10			1						111	2	2	1	5	6	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1						
				200			1						011	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6	2	8	11	1	1							
													200		2	2	3	3	1			1	1	1	1							1	1						
													020		1	1	1	1	1																				
													220		2	2	1	1	1			1	1	1	1														
													202																										
													222																										
													022																										
						300							300	5	1	6	8	8				1	1	1	3														
													030																										
													003	1	1	2	3	3																					
													330																										
													303																										
													333	3		3	4	4																					
													033	1	2	3	4	4																					
100													102	1	2	3	4	4	2																				
100													103																										
100				10									112		1	2	3	1	3	1																			
100				10									113		2	2	3	3	1	3																			
100													120	1	1	2	3	1	1	1																			
100													121																										
100													122																										
100													123																										
100													130																										
100													131	1	1	2	3	3	1	1																			
100													132	1	1	1	1	1	1	1																			
100													133	1	2	3	4	4	2																				
200													201																										
200													203		2	2	3	3																					
200				10									210																										
200				10									211																										
200				10									212																										
200				10									213																										
200													221																										
200													223																										
200													230																										
200													231	1																									
200													232																										
200													233	1																									

MK1		MK2				MK3				Analyte				Chlordioxid				Dentosept PL									
22 °C	36 °C	22 °C/ 36 °C	22 °C	36 °C	22 °C/ 36 °C	22 °C	36 °C	22 °C/ 36 °C	Summe	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW	KW	LWS	MGF	Gesamt	%	TW
1XX	2XX	3XX	X10	X20	X30	XX1	XX2	XX3	301																		
		300				1	2		301	1	1		2	3		2	2	2	4	4							
		300	10						302	1	1		1	1			2	2	2	6	6						
		300	10			1	2		310	1			1	1			2	2	2	3	3						
		300	10						311	1			1	1			1	1	1	3	3						
		300	10						312	1	3		4	5		9	1.1	10	30	29	2						
		300	10						313	1			1	1					1	1	1						
		300	20	20					320	1			1	1					1	1	1						
		300	20	20					321										1	1	1						
		300	20	20					322										1	1	1						
		300	20	20					323										2	2	2						
		300			30	1	2		331	1			1	1					1	1	1						
		300			30		2		332																		
			10				2		012	1	2	1	4	5	1				3	3	1						
			10						013	1	1	2	4	5		1	2		3	3							
				20		1			021											1	1						
				20					023											1	1						
					30	1	2		031		1		1	1		1	1		1	1	1						
					30		2		032							1	1		1	1	1						
																						1				1	

Tabelle 3.3 – Zusammenfassende Darstellung (mittels mathematischer Beschreibung) der für jede Probe nachgewiesenen Mikrokolonien für jedes Desinfektionsmittel und deren Entnahmestellen

3.3 Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*

Die auf Cetrimid gewachsenen Kolonien wurden, wie in Kapitel 2.4.2 dargestellt, als *Pseudomonas aeruginosa* gewertet. Drei Kolonien von drei verschiedenen Proben wurden zur weiteren Differenzierung ausgewählt. Wie in der Tabelle 3.4 dargestellt, bestätigen die Ergebnisse bei jeder ausgewählten Kolonie den Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*, so dass von allen auf Cetrimid gewachsenen Kolonien angenommen werden kann, dass es *Pseudomonas aeruginosa* ist. Zudem hatten die Kolonien ein identisches Aussehen auf Cetrimid und wurden aus demselben Reservoir entnommen.

BEH	Entnahmestelle	Mikroskopie		Katalase	Oxidase	KOH-Test	api [®] 20 NE
		Färbung	Form				
28	TW	Gram-neg	Stäbchen	positiv	positiv	positiv	1154575 (99 % <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
29	TW	Gram-neg	Stäbchen	positiv	positiv	positiv	1154575 (99 % <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
30	TW	Gram-neg	Stäbchen	positiv	positiv	positiv	1154575 (99 % <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)

Tabelle 3.4 – Weiterführende Diagnostik der auf dem Selektivnährboden Cetrimid gewachsenen Kolonien

Bei den mit Anolyte betriebenen BEH konnten in fünf der insgesamt 72 untersuchten Proben *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden. Betroffen war ausschließlich die BEH 45, wobei vier der fünf Proben aus der MGF-Entnahmestelle stammen. Die Koloniezahl betrug in den vier Proben 6, 48, 14 und 4 KBE/ml. Zeitgleich mit dem Nachweis von 48 KBE/ml im Wasser an der MGF-Entnahmestelle konnten an der KW-Entnahmestelle 4 KBE/ml nachgewiesen werden. Im zugeführten TW und in der LWS-Entnahmestelle konnte *Pseudomonas aeruginosa* nicht nachgewiesen werden.

Bei den KW-, LWS- und MGF-Entnahmestellen der mit Chlordioxid betriebenen BEH konnte in 15 von 107 untersuchten Proben (14 %) *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden. Von den 36 aus der TW-Entnahmestelle untersuchten Proben waren in 33 Proben (92 %) *Pseudomonas aeruginosa* nachzuweisen. In einem Fall wurde sogar ein rasenartiges Wachstum auf dem Nährmedium beobachtet. Die Kolonieverteilung von *Pseudomonas aeruginosa* an den mit Chlordioxid betriebenen BEH ist in Abbildung 3.21 dargestellt.

Bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH waren in keiner Probe *Pseudomonas aeruginosa* nachweisbar.

So zeigen die Ergebnisse beim Vergleich der mit den unterschiedlichen Desinfektionsmitteln betriebenen BEH (siehe Abbildung 3.22), dass an den mit Chlordioxid betriebenen BEH

ein statistisch signifikant ($p < 0,05$) höheres Vorkommen von *Pseudomonas aeruginosa* im Vergleich zu den mit Dentosept PL und den mit Anolyte betriebenen BEH nachweisbar war. Das Vorkommen von *Pseudomonas aeruginosa* bei den mit Anolyte betriebenen BEH ist dagegen nicht statistisch signifikant verschieden zu den mit Dentosept PL betriebenen BEH.

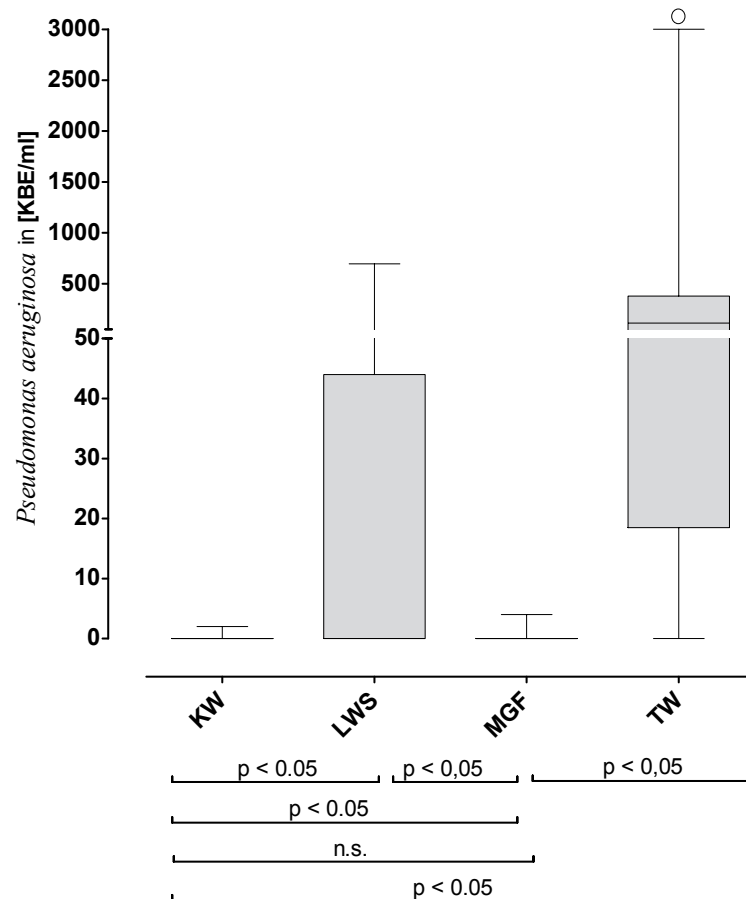


Abbildung 3.21 – Koloniezahlverteilung von *Pseudomonas aeruginosa* (KBE/ml) für jede Entnahmestelle der mit Chlordioxid betriebenen BEH (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)

Sanierung der mit Chlordioxid betriebenen BEH

Da vermehrt positive Befunde auf *Pseudomonas aeruginosa* in den Proben der mit Chlordioxid betriebenen BEH vorlagen, wurde, wie in Abbildung 3.23 dargestellt und in der Tabelle 3.1 angegeben, eine regelmäßige Sanierung dieser Einheiten durchgeführt. Die „Sanie-

rungstage“ sind mit einem „S“ an der Abszisse markiert. Zur Sanierung wurde Chlordioxid in einer hohen Konzentration (25 mg/l ClO₂) vom Punkt der Zudosierung bis zu den Auslässen eingeleitet und über Nacht belassen. Anschließend wurde das höher konzentrierte Desinfektionsmittel an der TW-Entnahmestelle der BEH abgelassen und die Auslässe der BEH gespült.

Zusätzlich ist die Untersuchungshäufigkeit an den mit Chlordioxid betriebenen BEH erhöht worden. Aus der Abbildung 3.23 ist erkennbar, dass durch die Sanierung der BEH eine Beseitigung der *Pseudomonas aeruginosa* nicht erreicht werden konnte.

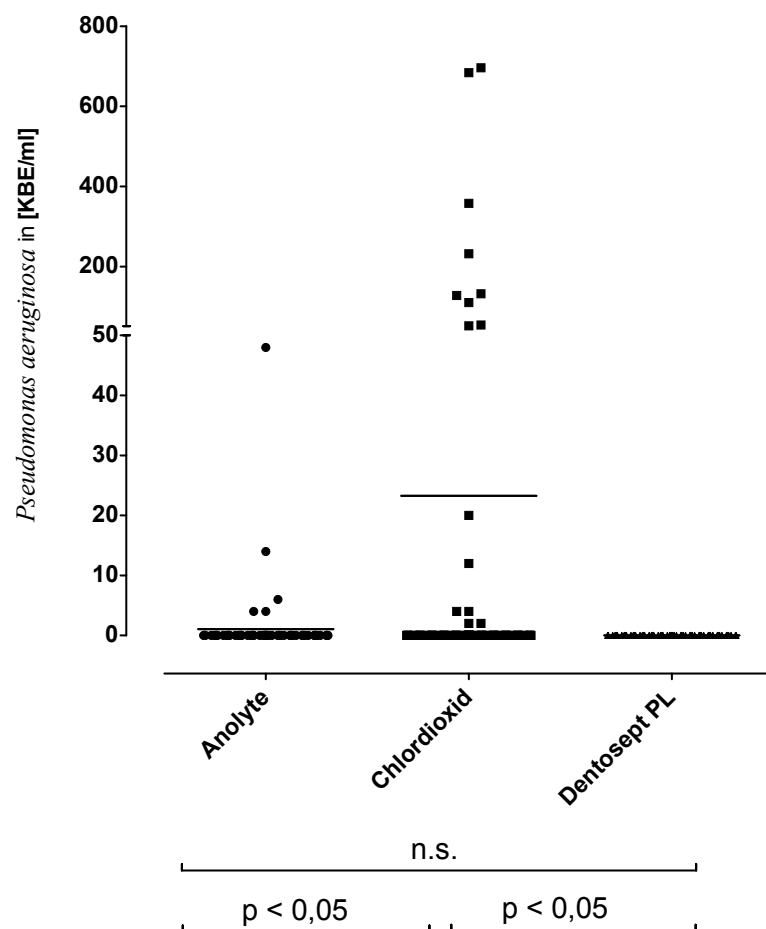


Abbildung 3.22 – Koloniezahlverteilung von *Pseudomonas aeruginosa* (KBE/ml) für jedes Desinfektionsmittel (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)

Chlordioxidverfahren

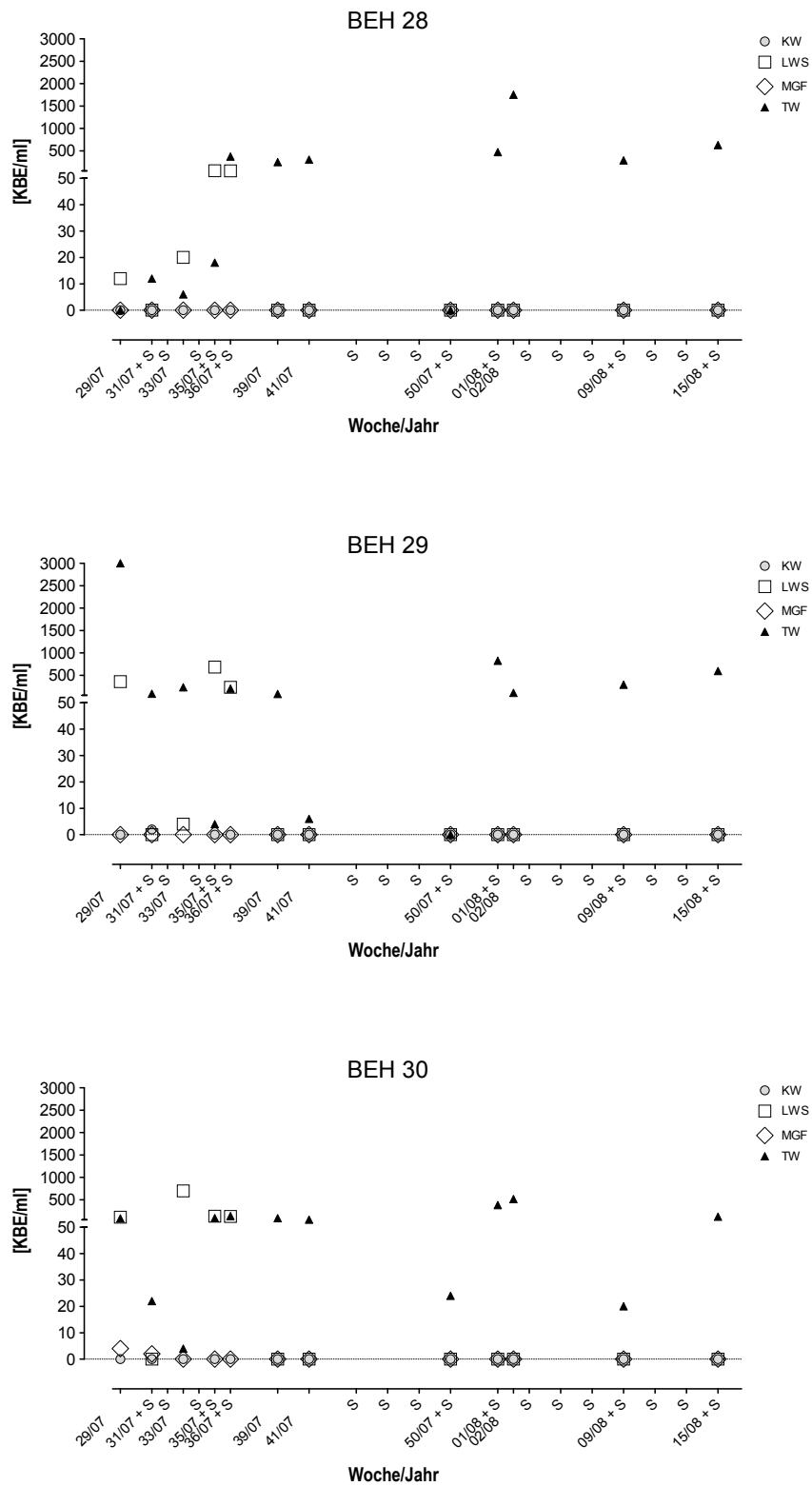


Abbildung 3.23 – Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* in Abhängigkeit von der Zeit (Kalendarwoche/Jahr). Tage, an denen eine Sanierung mit einem höher konzentrierten Desinfektionsmittel durchgeführt wurden, sind mit einem „S“ markiert.

3.4 Chlorkonzentrationen

Gemäß der KRINKO-Empfehlung und der AWMF-Leitlinie hat das der BEH zugeführte Wasser den Anforderungen der TrinkwV zu entsprechen. Innerhalb der BEH wird allerdings der Einsatz von Desinfektionsanlagen empfohlen, um einer mikrobiellen Kontamination entgegen zu wirken [95, 96]. Für die Aufbereitung von Trinkwasser verzeichnet die Liste des Umweltbundesamtes (UBA-Liste) „Aufbereitungsstoffe, die zur Desinfektion des Wassers eingesetzt werden“ dürfen und verweist auf den zulässigen Konzentrationsbereich nach der Aufbereitung [104]. Für das beim Anolyteverfahren genutzte Natriumhypochlorit ist der Konzentrationsbereich laut UBA-Liste mit 0,1 bis 0,3 mg/l Cl_2 angegeben. Für Chlordioxid dürfen laut UBA-Liste im Trinkwasser 0,05 bis 0,2 mg/l ClO_2 enthalten sein, was 0,1 mg/l bis 0,42 mg/l an freiem Cl_2 entspricht.

Von dem zuständigen Gesundheitsamt liegt eine Sondergenehmigung vor, die in dieser Studie untersuchten BEH mit einer Konzentration von bis zu 0,6 mg/l Cl_2 zu betreiben. Daher wurde auch eine Konzentration bis zu max. 0,6 mg/l Cl_2 angestrebt. Die Einhaltung der Maximalwerte wurde an der TW-Entnahmestelle kontrolliert.

Wie aus der Abbildung 3.24 ersichtlich, liegen die bei dem Verfahren mit Anolyte nachgewiesenen Konzentrationen zumeist im Bereich von 0,3 bis 0,6 mg/l Cl_2 . Die niedrigste gemessene Konzentration liegt bei 0,1 mg/l Cl_2 , eine weitere Konzentration unter der Nachweisgrenze von 0,05 mg/l Cl_2 . An den mit Chlordioxid betriebenen BEH sind, bis auf eine Ausnahme, alle gemessenen Konzentrationen im Bereich der TrinkwV bzw. der oben erwähnten Sondergenehmigung. Sowohl bei Anolyte als auch bei Chlordioxid sind die im Trinkwasser gemessenen Unterschiede an freiem Chlor auf eine unterschiedliche Chlorzehrung in der Trinkwasserinstallation zurückzuführen.

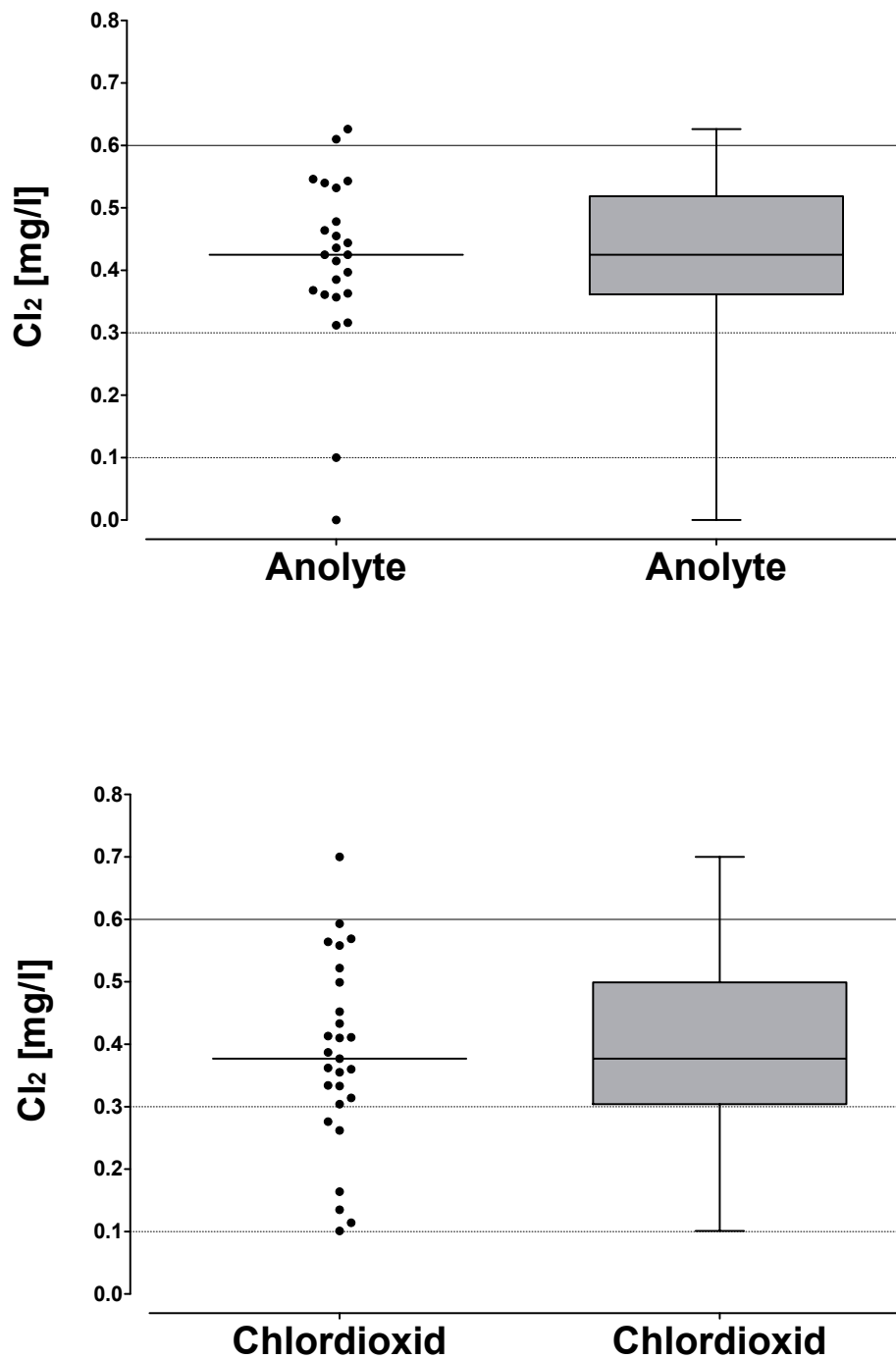


Abbildung 3.24 – Konzentrationen an freiem Cl₂ im TW der mit Anolyte (oben) und Chlordioxid (unten) betriebenen BEH in [mg/l] (links als einzelne Messwerte, rechts als Boxplots), die beiden unteren gepunkteten Linien begrenzen den von der UBA zugelassenen Konzentrationsbereich, die obere Linie begrenzt den durch eine Sondergenehmigung zugelassenen Konzentrationsbereich

4 Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Rahmen eines Forschungsprojektes der Arbeitsgruppe „Technische Hygiene“ der „Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin“ an der Zahnklinik Süd durchgeführt. Hierfür wurden an neun studentisch genutzten BEH über einen Zeitraum von zehn Monaten Proben entnommen und untersucht. Der Hauptaspekt dieser Untersuchung ist der Vergleich der Wirksamkeit dreier verschiedener Desinfektionsmittelverfahren, wobei zwei Desinfektionsanlagen (Anolyteverfahren und Chlordioxidverfahren) auf Grund von verfahrenstechnischen Erneuerungen (siehe Kapitel 1.6) neu in BEH eingesetzt werden konnten. Diese für BEH neuen Verfahren wurden mit dem in der Zahnklinik standardmäßig eingesetzten Dentosept PL-Verfahren verglichen. Vorteilhaft für diese Fragestellung wirkt sich aus, dass die untersuchten Einheiten identischen äußeren Rahmenbedingungen wie beispielsweise Raumtemperatur, Betriebs- und Stagnationszeiten, Wartung und Auslastung ausgesetzt sind und somit als mögliche Störgrößen wenig Einfluss haben. Des Weiteren wurden die Proben an allen neun Behandlungseinheiten innerhalb eines kurzen Zeitfensters von maximal einer Stunde entnommen. Direkt im Anschluss erfolgte die Weiterverarbeitung der Proben, dabei unterlagen alle Proben den identischen Verarbeitungsprozessen (Transportzeit und -temperatur, Verarbeitungszeit und -temperatur).

Gemäß der KRINKO-Empfehlung „Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderung an die Hygiene“ [95] hat das in die BEH eingeleitete Wasser den Anforderungen der TrinkwV [97] zu entsprechen. Jedoch kann es innerhalb der BEH, ausgehend von einem etablierten Biofilm, zur mikrobiellen Verunreinigung des Wasser kommen. Die mikrobielle Verunreinigung von Wasser aus BEH wurde bereits in unterschiedlichen Arbeiten aufgezeigt [10, 21, 22, 24, 33, 52, 108–121]. In vielen Studien [5–27, 52] wurden dabei in den Wasserproben von BEH Koloniezahlen von bis zu 10^5 KBE/ml nachgewiesen. Das mikrobiell belastete Wasser stellt nicht nur für gesunde Patienten und das zahnärztliche Personal sondern insbesondere für ältere und immunsupprimierte Patienten ein Risiko dar. Für Patienten mit erhöhtem Infektionsrisiko sind laut KRINKO-Empfehlung und AWMF-Leitlinie sterile Lösungen zu verwenden [95, 96]. Dass bei diesen Patienten ein erhöhtes Infektionsrisiko besteht, ist dem behandelnden Zahnarzt nicht immer bewusst. So wurde in einer Untersuchung

von HÜBNER et al. [122] festgestellt, dass 11 % der Zahnärzte keine dokumentierte Anamnese durchführten und in 29 % der untersuchten Praxen kein Bestellsystem für Risikopatienten existierte. Wenn dann in solchen Fällen schon kein steriles Wasser gemäß den Empfehlungen der KRINKO eingesetzt wird, sollte diesbezüglich doch wenigstens Wasser mit einer Koloniezahl gemäß den Empfehlungen der KRINKO und nicht Wasser mit höheren Koloniezahlen verwendet werden. Dies mindert zugleich auch das Risiko für gesunde Patienten und das zahnärztliche Personal. Laut der KRINKO-Empfehlung soll bei einer jährlichen Überprüfung das aus einer Entnahmestelle der BEH entnommene Wasser nicht mehr als 100 KBE/ml bei 36 °C enthalten. In der vorliegenden Arbeit sollte auch überprüft werden, ob mit der o. g. Forderung der KRINKO-Empfehlung (jährlich eine Entnahmestelle bei 36 °C zu überprüfen) eine ausreichende Aussage hinsichtlich der mikrobiellen Kontamination der BEH getroffen werden kann. Daher wurde die Koloniezahl bei 36 °C untersucht und um die von der TrinkwV geforderte Untersuchung bei 22 °C ergänzt. Des Weiteren wurden statt einer insgesamt drei endständige Entnahmestellen (KW, LWS, MGF) der BEH untersucht.

4.1 Wirksamkeit der Desinfektionsmittel

4.1.1 Koloniezahlen der BEH

Anolyteverfahren

Von den insgesamt 78 Proben (KW, LWS und MGF) der drei mit Anolyte betriebenen BEH (44, 45 und 46) genügen lediglich 21 den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung. Hiervon entsprechen immerhin 20 Proben auch den Anforderungen der TrinkwV hinsichtlich der Koloniezahlen sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C. Bei 44 weiteren Proben liegen die Koloniezahlen nur bei 22 °C, nicht aber $36\text{ °C} \leq 100\text{ KBE/ml}$. Bei allen drei Einheiten ist über den gesamten Untersuchungszeitraum keine abnehmende Tendenz der Koloniezahlen zu erkennen.

Auch GEBEL et al. [123] untersuchten die Wirksamkeit von Natriumhypochlorit, dass, wie bei der hier vorliegenden Arbeit, mittels Membranzellenelektrolyse generiert wurde. In ihrem Modellversuch konnte gezeigt werden, dass Natriumhypochlorit in der Lage war, die Koloniezahlen an Biofilm-kontaminierten Silikonschläuchen mit anfänglich über 10^7 KBE/cm^2 innerhalb von 31 Behandlungstagen bis unter die Nachweisgrenze zu reduzieren. Anders als aber in der vorliegenden Arbeit, bestimmten GEBEL et al. die Koloniezahlen nur bei einer Inkubationstemperatur von 20 °C. Bei dieser sind wiederum auch in der vorliegenden Untersuchung (bei 79 % der Proben) vergleichbar niedrige Koloniezahlen von $\leq 100\text{ KBE/ml}$ nachweisbar. Anders als bei GEBEL et al. [123] wurden aber in der vorliegenden Arbeit

auch die Koloniezahlen bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C untersucht. Hier erfüllen allerdings nur 27 % der Proben die Anforderung der KRINKO-Empfehlung und entsprechend nur noch 26 % die Anforderungen der TrinkwV.

Diese Ergebnisse zeigen, dass Anolyte in der vorliegenden Untersuchung nicht in der Lage war, die bei der Inkubationstemperatur von 36 °C wachsenden Mikroorganismen zu reduzieren und dass ggf. bei zukünftigen Untersuchungen immer ein Nachweis der Koloniezahlen bei 36 °C erfolgen sollte.

Auch KISTEMANN et al. [121] beschreiben den Einsatz einer in situ hergestellten, elektrochemisch aktivierten Lösung von Natriumhypochlorit. Obwohl immer noch 41 % der Proben nicht den Anforderungen der TrinkwV entsprechen, bezeichnen KISTEMANN et al. die Anwendung dieses Verfahrens als erfolgreich. Dies wurde darin begründet, dass die Einheiten zuvor mit einer Desinfektion auf Basis von Wasserstoffperoxid betrieben wurden. Während dieser Zeit wurden weitaus höhere Koloniezahlen nachgewiesen, die durch den Einsatz des „Natriumhypochloritverfahrens“ reduziert werden konnten. Hierbei ist zu überlegen, ob diese Verbesserung zum vorhergehenden Verfahren als Erfolg zu werten ist. In der vorliegenden Arbeit kann keine Aussage darüber getroffen werden, welchen mikrobiologischen Zustand die mit Anolyte betriebenen BEH vor Beginn der Untersuchung aufwiesen. Allerdings werden im Vergleich zum Verfahren mit Dentosept PL bei 36 °C hier signifikant ($p < 0.05$) höhere Koloniezahlen nachgewiesen. Außerdem zeigen die Ergebnisse, dass über den gesamten Untersuchungszeitraum keine abnehmende Tendenz der Koloniezahlen festzustellen war. Allerdings wurde das Anolyte vor Beginn der Studie bereits über einen Zeitraum von vier Monaten zudosiert. Seit Inbetriebnahme des neuen Desinfektionsmittelverfahrens wurden die gleichen BEH von EMMRICH und SIMONIS [124] untersucht. Ähnlich wie GEBEL et al. beschreiben sie eine Reduktion der Koloniezahlen von der ersten zur zweiten Untersuchungshälfte. Demnach sind die hier vorliegenden Ergebnisse eher als eine anschließende Gleichgewichtseinstellung zwischen Biofilmwachstum und -entfernung zu deuten. So wäre Anolyte zwar in der Lage, den in BEH angesiedelten Biofilm zu reduzieren, aber nicht so stark, dass den Anforderungen der KRINKO-Empfehlungen bzw. TrinkwV entsprochen werden kann.

Chlordioxid

An den mit Chlordioxid betriebenen BEH (28, 29 und 30) entsprachen lediglich 19 von 107 Proben (17 %) den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung. So wiesen auch nur noch 18 Proben sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml auf und genügten somit den Anforderungen der TrinkwV. Bei allen drei BEH ist über den gesamten Untersuchungszeitraum keine abnehmende Tendenz der Koloniezahlen erkennbar. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Desinfektion mit Chlordioxid nicht ausreicht, um zuverlässig den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung bzw. der TrinkwV zu entsprechen.

Bisher beziehen sich die Daten zum Einsatz von Chlordioxid an BEH vor allem auf stichprobenartige Untersuchungen [118, 119, 125] und somit ist wenig über den langfristigen Einsatz von Chlordioxid an BEH bekannt. In der Arbeit von SMITH et al. [118] wurde gezeigt, dass es durch den temporären Einsatz von Chlordioxid durchaus zu einer Reduktion der Koloniezahlen gekommen ist. Hierbei gelang es ihnen aber nicht, langfristig Trinkwasserqualität zu erzielen. Somit folgerten die Autoren, dass der intermittierende Einsatz von Chlordioxid nicht zur Langzeitdesinfektion geeignet ist. WIRTHLIN et al. [125] untersuchten den Einsatz von Chlordioxid über einen kürzeren Zeitraum an zahnärztlichen Ultraschalleinheiten. Sie konnten eine 12- bis 20-fache Reduktion der Koloniezahlen nachweisen und gehen daher davon aus, dass ein langfristiger Einsatz von Chlordioxid sogar zur Biofilmreduktion führen könnte.

In der hier vorliegenden Arbeit konnte nun gezeigt werden, dass auch der kontinuierliche Einsatz von Chlordioxid über mehrere Monate nicht ausreicht, um niedrige Koloniezahlen zu gewährleisten. Grund dafür ist wahrscheinlich, dass Chlordioxid (in der hier eingesetzten und nahe der TrinkwV entsprechenden Konzentration) nicht in der Lage ist, einen bereits in der BEH etablierten Biofilm vollständig zu entfernen. Um dieses zu überprüfen wären elektronenmikroskopische Untersuchungen, wie sie in anderen Studien [44, 125–128] bereits durchgeführt wurden, wünschenswert. Jedoch konnte dies hier aus Praktikabilitäts- (Gewinnung von Schlauchabschnitten) und Kostengründen nicht durchgeführt werden. Unterstützt wird diese These allerdings durch eine weitere Arbeit von WIRTHLIN et al. [21]. In dieser konnten sie zwar durch den Einsatz von Chlordioxid eine Biofilmreduktion feststellen, jedoch war diese statistisch nicht signifikant. Anders als bei der hier vorliegenden Arbeit zeigten sie jedoch, dass die beiden von ihnen getesteten Chlordioxidprodukte in der Lage waren, die Koloniezahlen gegen null zu reduzieren und im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant ($p < 0,001$) besser abschnitten.

Dentosept PL

In der hier vorliegenden Arbeit sind die Koloniezahlen an den mit Dentosept PL betriebenen BEH bei 36 °C signifikant ($P < 0,05$) niedriger als die Koloniezahlen an den mit Anolyte oder Chlordioxid betriebenen BEH. So sind bei 36 °C in 78 von 81 Proben Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml nachweisbar und erfüllen somit die Anforderungen der KRINKO-Empfehlung. Den Anforderung der TrinkwV entsprechen hinsichtlich der Koloniezahl sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C 67 von 71 Proben (95 %).

Auch in der Arbeit von DEMUTH und DUNKELBERG [39] konnten an den mit Wasserstoffperoxid betriebenen BEH in 83 % der Proben Koloniezahlen nachgewiesen werden, die nach der KRINKO-Empfehlung bzw. TrinkwV zugelassen sind. In ihren Untersuchungen nutzten sie allerdings eine 1,41 Vol.-%ige Wasserstoffperoxidlösung, welche zur kontinuierlichen Desinfektion verdünnt (1 : 100) und zur monatlichen Intensivdesinfektion unverdünnt

eingesetzt wurde. Dabei stellten sie fest, dass nach der Intensivdesinfektion alle Proben sowohl bei 36 °C als auch bei 20 °C Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml aufwiesen, jedoch bei der kontinuierlichen Desinfektion in 18,6 % bei 36 °C und in 14,8 % der Proben bei 20 °C Koloniezahlen über 100 KBE/ml nachweisbar waren. So schlussfolgerten die Autoren, dass bei ihnen eine kontinuierliche Desinfektion der Dentaleinheit allein nicht ausgereicht hätte, um konstant niedrige Koloniezahlen zu gewährleisten. Grund dafür ist wahrscheinlich auch hier, dass die zur kontinuierlichen Desinfektion angewendete Konzentration nicht ausreicht, um die entsprechenden Mikroorganismen zu inaktivieren oder den Biofilm abzubauen.

In der vorliegenden Arbeit wurde Dentosept PL mit einer Konzentration von 0,94 Vol.-% Wasserstoffperoxid kontinuierlich im Verhältnis 1 : 100 eingesetzt. Anders als bei DEMUTH und DUNKELBERG [39] reichte hier die Konzentration bei allen drei untersuchten BEH aus, um niedrige Koloniezahlen zu gewährleisten. Ursache hierfür könnte sein, dass die in dieser Arbeit untersuchten BEH eine geringere mikrobielle Verunreinigung aufwiesen als die von DEMUTH und DUNKELBERG [39] untersuchten BEH.

In den Arbeiten von BEHRINGER und JATZWALK [17] und JATZWALK und REITEMEIER [20] wird gezeigt, dass auch bei kontinuierlicher Desinfektion mit Dentosept PL und zusätzlich halbjährlicher Desinfektion mit einer 1,41 %-igen Wasserstoffperoxidlösung in 80 % der Proben des Stagnationswassers (ohne vorheriges Spülen) Koloniezahlen über 100 KBE/ml nachweisbar waren. Sie untersuchten aber nicht nur das Stagnationswasser vor Behandlungsbeginn, sondern auch Proben, die nach zweiminütigem Spülen entnommen wurden. Hier lagen dann die Koloniezahlen in mehr als 84 % der Proben ≤ 100 KBE/ml. So weisen die hohen Koloniezahlen im Stagnationswasser auf eine Biofilmkontamination der BEH hin. Allerdings zeigen die Ergebnisse auch, dass es möglich war, die Ablagerungen des Biofilms durch eine zweiminütige Spülzeit so zu reduzieren, dass nur noch etwa 20 % der Proben Koloniezahlen über 100 KBE/ml aufwiesen. Es ist zu vermuten, dass Wasserstoffperoxid in der Lage ist, den Biofilm in dem Maße zu reduzieren, dass er keinen ausgedehnten flächenhaften Bewuchs mehr darstellt. Diese Annahme wird auch durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von MEILLER et al. [102] unterstützt, nach denen Wasserstoffperoxid in der Lage ist, ca. 90 % des sichtbaren Biofilmes zu entfernen.

Vergleich der drei Desinfektionsverfahren

In der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, dass bei der von der KRINKO-Empfehlung geltenden Inkubationstemperatur von 36 °C die Proben an den mit Anolyte betriebenen BEH und auch an den mit Chlordioxid betriebenen BEH signifikant ($p < 0.05$) höhere Koloniezahlen aufwiesen als die Proben aus den mit Dentosept PL versorgten BEH. Hierbei waren die Koloniezahlen der mit Chlordioxid betriebenen BEH wiederum signifikant ($p < 0.05$) höher als die Koloniezahlen der mit Anolyte betriebenen BEH. Zudem wurde beobachtet, dass bei 36 °C im Mittel 96 % der Proben aus den mit Dentosept PL versorgten BEH

Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml aufwiesen. Hier liegt der Mittelwert der drei mit Anolyte betriebenen BEH bei lediglich 27 % und der Mittelwert der drei mit Chlordioxid betriebenen BEH bei nur 18 % der Proben.

Auch bei der Inkubationstemperatur von 22 °C sind in den Proben der mit Chlordioxid betriebenen BEH signifikant ($p < 0.05$) höhere Koloniezahlen nachgewiesen worden als bei den beiden anderen Verfahren. Doch ergab der „Mann-Whitney Test“ bei dieser Inkubationstemperatur keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Verfahren mit Anolyte und Dentosept PL-Verfahren. Während bei dem Dentosept PL-Verfahren auch hier 96 % der Proben Koloniezahlen ≤ 100 KBE/ml aufweisen, sind es bei dem Verfahren mit Anolyte 79 % und bei dem Verfahren mit Chlordioxid 69 % der Proben.

4.1.2 Mikrokolonien

In der vorliegenden Arbeit sind nach einer gemäß TrinkwV geltenden Inkubationszeit von zwei Tagen Kolonien aufgefallen, die trotz Vergrößerungsmöglichkeit am Koloniezählgerät nur sehr schwer zu erkennen waren. Während diese Mikrokolonien an den Auslässen der mit Anolyte betriebenen BEH in 77 Proben (99 %) und an den mit Chlordioxid betriebenen BEH in 102 Proben (98 %) beobachtet werden konnten, waren an den mit Dentosept PL betriebenen BEH diese nur in 22 Proben (31 %) vorhanden. Die Ergebnisse zeigen auch, dass die Mikrokolonien häufiger bei 22 °C nachgewiesen werden konnten als bei 36 °C.

Auch andere Autoren [8, 10] beschreiben zusätzlich kleine „Anhäufungen“ auf den von ihnen untersuchten Nährmedien. Durch ihr sehr kleines Erscheinungsbild ist davon auszugehen, dass diese Kolonien innerhalb von zwei Tagen auf diesem Nährmedium oder bei diesen Inkubationstemperaturen nicht optimal wachsen konnten. Viele Organismen sind an ihre spezifische Umgebung genau angepasst und können sich eventuell nicht an die Nährbodenbedingungen adaptieren [129]. So konnten BRISITELA et al. [130] deutlich mehr Wachstum auf R2A-Agar als auf Hefe-Extrakt-Agar feststellen. Des Weiteren kann es möglich sein, dass die Organismen auf einem Nährboden gut wachsen würden, aber durch andere, schneller wachsende Organismen überwuchert und dadurch in ihrem Wachstum gehemmt werden. Zudem wird in der Literatur beschrieben, dass Bakterien unter bestimmten Stresssituationen in einem „viable but non-culturable“ (VBNC) Zustand verharren können [131]. Sie sind dann zwar lebensfähig, aber nicht kultivierbar. In anderen Arbeiten [10, 15, 132] wurde bereits gezeigt, dass die kultivierbaren Mikroorganismen weniger als 5 % der Mikroorganismen darstellen, die sich wirklich im Wasser befinden.

ULTEE et al. [132] fanden heraus, dass die kultivierbaren Mikroorganismen bei einer Inkubationstemperatur von 20 °C zu den Klassen der Proteobacteria (α , β und γ), der Flavob-

acteria oder der Actinobacteria gehörten und die nicht kultivierbaren Organismen vorrangig in die Klasse der β -Proteobacteria einzuordnen waren. Auch in der vorliegenden Arbeit ist es wahrscheinlich, dass es sich bei den beobachteten Mikrokolonien um wasserspezifische Organismen handelt, die bevorzugt bei niedrigeren Temperaturen wachsen. Diese Vermutung müsste in einer weiterführenden Differenzierung der Mikrokolonien überprüft werden. Bis dahin bleibt offen, ob es sich bei den hier beobachteten Mikrokolonien um Bakterien, Hefen oder Pilze handelt.

Aufgrund der größeren Kolonieförmigkeit ist anzunehmen, dass sich hier die Mikrokolonien MK3 in der kurzen Zeit besser entwickeln konnten als die Mikrokolonien MK1 und MK2. In der Arbeit von KRAUT [8] wurde nach der Beobachtung von sehr winzigen Kolonien die Inkubationszeit von 44 ± 4 h bis auf 96 h verlängert. Hierbei konnte ein Heranwachsen der kaum sichtbaren Kolonien innerhalb der verlängerter Inkubationszeit festgestellt werden. Anders als in der Arbeit von KRAUT [8] erfolgt in der vorliegenden Arbeit keine Verlängerung der Inkubationszeit, sondern es erfolgte eine Einteilung der Mikrokolonien nach ihrer Kolonieförmigkeit.

Dennoch ist auch davon auszugehen, dass wenigstens die größeren dieser Mikrokolonien (MK3) sich bei etwas längerer Inkubationszeit (als die nach TrinkwV standardisierten zwei Tage) ebenfalls zu zählbaren Kolonien nach TrinkwV hätten entwickeln können. Hätte man die Koloniezahlen dann ermittelt, fielen möglicherweise mindestens die Mikrokolonien MK3 ebenfalls unter die Kategorie der zählbaren Kolonien.

Es ist ersichtlich, dass durch die Hinzunahme der Mikrokolonien (MK3) zu den Koloniezahlen der prozentuale Anteil der Proben abnimmt, die hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C und bei 22 °C der TrinkwV entsprechen. Andere Autoren [10, 15, 132] zeigten sogar, dass im Unterschied zu dem hier genutzten Kultivierungsverfahren andere Nachweisverfahren in der Lage waren, wiederum noch höhere Koloniezahlen im Wasser nachzuweisen.

Andererseits zeigen viele Studien, dass bereits mit den herkömmlichen Kultivierungsverfahren häufig im Hinblick auf die TrinkwV bzw. KRINKO-Empfehlung grenzwertüberschreitende Koloniezahlen im Wasser von BEH nachgewiesen werden konnten. Auch wenn nach heutigem wissenschaftlichen Stand mit anderen Methoden deutlich mehr Mikroorganismen im Wasser nachgewiesen werden können, so werden die herkömmlichen Kultivierungsverfahren in Kombination mit dem Richtwert von 100 KBE/ml bis heute erfolgreich zur Qualitätssicherung und Risikoabschätzung von Trinkwasser herangezogen [95, 97].

Dementsprechend sollten für das mikrobiologische Screening von BEH auch keine neuen Verfahren mit höherem Untersuchungsaufwand entwickelt und eingesetzt werden, um weitere Mikroorganismen nachzuweisen, denn das nach TrinkwV angewandte Verfahren zum Nach-

weis der Koloniezahlen hat sich in Kombination mit den Vorgaben der TrinkwV bewährt und ist im Vergleich zu anderen Nachweisverfahren leicht zu handhaben und kostengünstig.

4.2 Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*

In der KRINKO-Empfehlung heißt es: „Wasser aus zahnärztlichen Anlagen, das zur Behandlung hochgradig immunsupprimierter Patienten genutzt wird, muss ... nach übereinstimmender Expertenmeinung frei von Pseudomonaden ... sein“ [95]. Allerdings wurden wiederholt Pseudomonaden im Wasser aus BEH nachgewiesen [5, 9–11, 39, 43, 44, 53, 121]. In der hier vorliegenden Arbeit wurde in keiner Probe der mit Dentosept PL betriebenen BEH *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen. An den mit Anolyte betriebenen BEH waren hingegen fünf von 72 Proben mit *Pseudomonas aeruginosa* kontaminiert. Allerdings wurden diese fünf Proben ausschließlich an der BEH 45 entnommen. An den mit Chlordioxid betriebenen BEH wurde sogar in jeder BEH *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen. Und obwohl aus diesem Grund eine regelmäßige Sanierung dieser Einheiten erfolgte und die Untersuchungshäufigkeit erhöht wurde, sind an diesen BEH alle TW-Entnahmestellen und weitere fünf der neun Auslässe kontaminiert. Im Vergleich zu den anderen Entnahmestellen wurden hier signifikant ($p < 0,05$) höhere Koloniezahlen nachgewiesen. In einem Fall konnte sogar ein rasenartiges Wachstum von *Pseudomonas aeruginosa* auf dem Nährmedium beobachtet werden.

Auch KISTEMANN et al. [121] berichteten über einen teilweise rasenartigen Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* in Proben aus zahnärztlichen BEH. Im Unterschied zu der hier vorliegenden Arbeit wurden diese BEH aber mit Wasserstoffperoxid betrieben. Sie schilderten, dass nach dem anschließenden Einsatz einer zentralen Desinfektionsanlage, vergleichbar mit dem hier angewandten Anolyteverfahren, mit einer Ausnahme nur noch Höchstwerte von 12 KBE/ml nachgewiesen werden konnten. BARBEAU et al. [10] berichten bei den mit *Pseudomonas aeruginosa* besiedelten BEH gleichzeitig über eine signifikant höhere mikrobielle Kontamination im Vergleich zu den anderen BEH. In der vorliegenden Studie sind ebenfalls an den mit Chlordioxid betriebenen BEH am häufigsten hohe Koloniezahlen und gleichzeitig regelmäßig *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen worden. Umgekehrt waren an den mit Dentosept PL betriebenen BEH häufig niedrige Koloniezahlen nachweisbar, gleichzeitig war *Pseudomonas aeruginosa* nicht nachweisbar. Daraus ließe sich folgern, dass beim Vorkommen von *Pseudomonas aeruginosa* auch ein stark ausgeprägter Biofilm vorhanden sein könnte, der zu einer starken mikrobiellen Kontamination mit hohen Koloniezahlen der BEH führt. Gemäß dieser Annahme wäre davon auszugehen, dass der Biofilm an den hier untersuchten BEH mit Dentosept PL nicht so stark ausgeprägt war, und *Pseudomonas aeruginosa* sich möglicherweise deshalb nicht ansiedeln konnte. Demzufolge wäre Wasserstoffper-

oxid, anders als bei KISTEMANN et al. [121], bei den drei untersuchten BEH in der Lage, den guten mikrobiellen Zustand über den gesamten Zeitraum zu erhalten. Diese Vermutung müsste allerdings mit weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Dass umgekehrt bei hohen Koloniezahlen nicht auch *Pseudomonas aeruginosa* enthalten sein muss, wird in der Arbeit von KRAUT [8] dargestellt. Darin wird berichtet, dass in keiner der untersuchten BEH *Pseudomonas aeruginosa* nachweisbar war, obwohl hohe Koloniezahlen vorlagen. Auch in der vorliegenden Arbeit sind an zwei der drei mit Anolyte betriebenen BEH hohe Koloniezahlen jedoch kein *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen worden.

Die KRINKO-Empfehlung fordert zwar für die Behandlung hochgradig immunsupprimierter Patienten, dass das Wasser aus zahnärztlichen Anlagen frei von Pseudomonaden sein muss, verlangt aber hierfür keine Überprüfung [95]. Dies ist besonders bedenklich, da der Zahnarzt, wie bereits auf Seite 74 beschrieben, häufig keine genauen Kenntnisse über den Gesundheitszustand des Patienten hat. Zusätzlich steigt die Anzahl immunsupprimierter und älterer Patienten an, die zahnerhaltende Maßnahmen in Anspruch nehmen. Daher sollte die Kontrolle und Verhütung von wasserbedingten Krankheitserregern eine zunehmend höhere Bedeutung zukommen. Hier und auch in anderen Untersuchungen [5,9–11,39,43,44,53,121] wurde *Pseudomonas aeruginosa* im Wasser zahnärztlicher BEH festgestellt. Deshalb wäre eine Überprüfung auf diesen Krankheitserreger eine sinnvolle Ergänzung bei der Infektionsprävention in der Zahnheilkunde.

4.3 Inkubationstemperaturen

Für die mikrobiologische Untersuchung gibt die KRINKO u. a. die jährliche Bestimmung der Koloniezahl bei 36 °C nicht jedoch bei 22 °C vor. Dabei soll eine Koloniezahl von 100 KBE/ml nicht überschritten werden. Höhere Koloniezahlen sprechen laut KRINKO für einen ausgedehnten Biofilm in der BEH und erfordern eine Desinfektion und eine Intensivierung der Spülung vor der Patientenbehandlung [95]. Dementsprechend könnte die mikrobiologische Überprüfung bei nur 36 °C als ausreichend und eine Koloniezahl von ≤ 100 KBE/ml als Zustand einer „geringeren Biofilmbelastung“ interpretiert werden. Bei der Untersuchung von Trinkwasser werden die Koloniezahlen gemäß der TrinkwV auch bei einer Inkubationstemperatur von 22 °C bestimmt, bei der ebenfalls eine Koloniezahl von 100 KBE/ml nicht überschritten werden soll.

In dieser Arbeit wurden 338 Proben sowohl bei 36 °C als auch bei 22 °C ausgewertet. In 60 Proben (18 %) konnten bei beiden Inkubationstemperaturen ähnliche Koloniezahlen nachgewiesen werden. In 193 der 338 Proben (57 %) waren die Koloniezahlen bei 36 °C höher als bei

22 °C. Ebenfalls enthielten bei 36 °C mehr Proben (52 %) Koloniezahlen über 100 KBE/ml als bei 22 °C (23 %). In 85 Proben kommt auch der umgekehrte Fall vor, d. h. die Koloniezahl bei 36 °C ist geringer als bei 22 °C. Hier liegen aber in über 96 % dieser Proben die Koloniezahlen bei beiden Temperaturen über dem von der KRINKO-Empfehlung vorgegebenen Richtwert von 100 KBE/ml. Somit wären diese Proben auch bei der alleinigen Überprüfung bei 36 °C auffällig gewesen. Lediglich bei drei Proben (1 %) liegen die Koloniezahlen bei $36\text{ °C} \leq 100\text{ KBE/ml}$, während gleichzeitig die Koloniezahlen bei 22 °C darüber sind. Nur in diesen drei Fällen wäre gemäß der KRINKO-Empfehlung (ausschließliche Untersuchung bei 36 °C) der mikrobiologische Zustand der BEH für ein weiteres Jahr als ausreichend eingestuft worden, obwohl durch die Koloniezahl bei 22 °C eine starke mikrobiologische Verunreinigung der BEH angezeigt wird. Insgesamt lassen die Ergebnisse vermuten, dass eine Untersuchung der Koloniezahl bei 36 °C ausreichend ist.

Weitere Studien [43, 121, 133] untersuchten die Koloniezahl einer Probe in beiden Temperaturbereichen. So zeigen die Ergebnisse in der Arbeit von KISTEMANN et al. [121], dass sowohl vor als auch nach der Veränderung des Desinfektionsverfahrens, von wenigen Ausnahmen abgesehen, eine mikrobiologische Verunreinigung nur bei 36 °C und nicht bei 20 °C nachweisbar war. Zudem waren in den wenigen Fällen, bei denen mikrobiologisches Wachstum bei 20 °C nachweisbar war, diese Koloniezahlen immer geringer als jene bei 36 °C. Demzufolge hätte eine ausschließliche Untersuchung bei 36 °C die Ergebnislage nicht stark beeinflusst. Hingegen wurde in der Arbeit von BARBEAU et al. [10] sogar der höchste mikrobiologische Nachweis bei 22 °C - 25 °C festgestellt. Andere Studien [70, 101, 117, 119, 123, 125, 127, 134] wiederum nutzen zur mikrobiologischen Bestimmung der Koloniezahl nur eine Inkubationstemperatur unter 30 °C und vernachlässigen dabei die für humanpathogene Erreger relevante Wachstumstemperatur von 36 °C.

Die Ergebnisse zeigen, dass für die Beurteilung des mikrobiologischen Zustandes einer BEH auch die Überprüfungen bei 22 °C wünschenswert wäre. Dies wird auch durch das in dieser Arbeit beobachtete Wachstum der Mikrokolonien bei bevorzugt 22 °C bestärkt. Jedoch steht der vergleichsweise hohe Mehraufwand hier nicht im Verhältnis zum Informationsgewinn.

4.4 Probeentnahmeorte

4.4.1 Entnahmestellen der BEH

Laut KRINKO-Empfehlung wird die mikrobiologische Überprüfung einer Entnahmestelle pro BEH als ausreichend angesehen [95]. In der vorliegenden Arbeit wurden an jeder BEH

drei Entnahmestellen beprobt. Neben dem Kühlwassers (KW) und der Luft-Wasser-Spritze (LWS) wurde auch das Wasser des Mundglasfüllers (MGF) untersucht. An jeder Entnahmestelle der mit Dentosept PL betriebenen BEH liegt der Mittelwert für den Bereich von ≤ 100 KBE/ml bei über 92 % der Proben. Demzufolge scheint hier die mikrobiologische Überprüfung einer Entnahmestelle ausreichend. Ähnliche Ergebnisse zeigt die Arbeit von KRAUT [8], bei der jeweils sieben unterschiedliche Entnahmestellen an drei BEH untersucht wurden. Im Hinblick auf die Einhaltung der TrinkwV waren die Koloniezahlen der meisten Entnahmestellen einer BEH gleich einzuordnen, d. h. zu einem gegebenen Probenahmezeitpunkt lagen die Koloniezahlen der meisten Proben entweder über oder aber die der meisten Proben unter dem Wert der TrinkwV. Dementsprechend würde hier die Überprüfung einer Entnahmestelle, wie es auch die KRINKO-Empfehlung vorgibt, in den meisten Fällen den Grad der mikrobiellen Verunreinigung einer BEH widerspiegeln.

Anders als bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH liegen beim Anolyteverfahren an den verschiedenen Entnahmestellen unterschiedliche Ergebnisse vor. Hierbei sind die Koloniezahlen über den gesamten Untersuchungszeitraum (bis auf eine Ausnahme) an der KW- und der LWS-Entnahmestelle über dem von der KRINKO geforderten Wert von 100 KBE/ml. Im Unterschied dazu weisen die meisten Proben der MGF-Entnahmestelle über den gesamten Untersuchungszeitraum Koloniezahlen unter 100 KBE/ml auf. Eine ausschließliche Überprüfung der Koloniezahl an der MGF-Entnahmestelle würde daher in den meisten Fällen ein der KRINKO-Anforderung entsprechendes Ergebnis liefern, wohingegen eine ausschließliche Überprüfung der KW- und der LWS-Entnahmestelle kein der KRINKO-Anforderung entsprechendes Ergebnis anzeigen würde.

Wiederum anders als bei den zuvor genannten Verfahren sind die Ergebnisse der mit Chlordioxid betriebenen BEH. Hier liegen sowohl an den KW, LWS und der MGF Entnahmestellen die Koloniezahlen bei 36 °C sowohl einmal über als auch einmal unter 100 KBE/ml. Somit sind selbst an einem Probenahmetag an den verschiedenen Entnahmestellen einer BEH unterschiedliche Ergebnisse nachweisbar. An der BEH 28 (siehe Abbildung 3.4) ist beispielsweise am dritten Probeentnahmetag (33/07) die Koloniezahl der KW- und der LWS-Entnahmestelle über 100 KBE/ml, während in der Probe der MGF-Entnahmestelle die Koloniezahl deutlich darunter liegt. Demnach würde diese BEH bei einer ausschließlichen mikrobiologischen Untersuchung an der MGF-Entnahmestelle den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung entsprechen, im Unterschied zur Überprüfung an den anderen Entnahmestellen, bei denen die Ergebnisse einen schlechten mikrobiologischen Zustand der BEH aufzeigen. Am folgenden Probenahmetag (35/07) tritt der umgekehrte Fall ein. Hier genügen die Koloniezahlen der KW- und der LWS-Entnahmestelle der KRINKO-Anforderung, während die Koloniezahl der an der MGF-Entnahmestelle entnommenen Probe über 100 KBE/ml liegt. Wieder einen Probeentnahmetag später (36/07) genügen die Proben der KW- und der

MGF-Entnahmestelle der KRINKO-Empfehlung, während die Probe aus der LWS-Entnahme diese verfehlt.

Diese Ergebnisse zeigen recht deutlich, dass die Überprüfung einer Entnahmestelle pro BEH nicht repräsentativ den mikrobiologischen Zustand einer BEH widerspiegelt. Gerade an den mit Chlordioxid betriebenen BEH wird deutlich, schon mit Überprüfung einer weiteren Entnahmestelle pro Untersuchungstag steigt die Wahrscheinlichkeit stark, den tatsächlichen mikrobiologischen Zustand einer BEH zu ermitteln. Diese Beobachtung deckt sich mit denen von Arvand und Hack [38], die feststellten, „dass die Wahl der Probeentnahmestelle einen entscheidenden Einfluss auf die Nachweishäufigkeit der mikrobiologische Kontamination hat.“ In ihrer Querschnittsstudie stellten sie u. a. eine signifikant höhere Nachweisrate von Legionellen in Proben aus einem Instrumentenkanal (z. B. KW) im Vergleich zum Mundglasfüller fest. Demnach sollte in der KRINKO-Empfehlung die mikrobiologische Überprüfung mehr als der bisher einen Entnahmestelle gefordert werden.

4.4.2 Trinkwasser (TW)

Die KRINKO-Empfehlung gibt vor, dass in die BEH eingeleitetes Wasser Trinkwasserqualität aufzuweisen hat. Um das überprüfen zu können, wurde hier die TW-Probe, wie bereits in Kapitel 2.3 beschrieben, direkt am Übergang in die BEH entnommen. Während an den mit Dentosept PL betriebenen BEH alle TW-Proben den Anforderungen der TrinkwV hinsichtlich der Koloniezahl sowohl bei 22 °C als auch bei 36 °C entsprachen, waren es an den mit Anolyte betriebenen BEH nur 77 %. Im Unterschied dazu weisen die TW-Proben der mit Chlordioxid betriebenen BEH signifikant häufiger ($p < 0,05$) höhere Koloniezahlen auf. Lediglich in 17 % der Proben wurden Koloniezahlen nachgewiesen, die den Anforderungen der TrinkwV genügen konnten. Auf einigen Platten waren so viele Kolonien vorhanden, dass ein vollständiger Rasen auf dem Nährboden entstanden ist. Auf Grund der hohen Koloniezahlen wurde an den mit Chlordioxid betriebenen BEH eine regelmäßige Sanierung (siehe Tabelle 3.1) durchgeführt. Da allerdings nur an diesen drei BEH eine derartige mikrobielle Verunreinigung an der TW-Entnahmestelle nachgewiesen wurde, ist davon auszugehen, dass die Kontamination nicht aus dem Trinkwassernetz der Zahnklinik stammt, sondern im Zusammenhang mit den BEH und dem neuen Desinfektionsverfahren steht. Zudem ist aus routinemäßig durchgeführten Untersuchungen bekannt, dass das Trinkwasser der Zahnklinik im Hinblick auf die Koloniezahl bei 22 °C und 36 °C einwandfrei ist. Es stellt sich die Frage, warum an dieser Stelle, insbesondere bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH, eine solche enorme mikrobielle Verunreinigung nachgewiesen wurde.

Eine mögliche Erklärung ist die folgende: Vier Monate vor Beginn dieser Arbeit wurde bei al-

len untersuchten BEH ein Biofilmremoving durchgeführt. Dieses wurde gemäß den Angaben der Fa. Sirona mit Alpron (Fa. Alpro Medical GmbH, St. Georgen) ab der Desinfektionsmitelanlage der BEH vorgenommen. Da aber bei den mit Anolyte und Chlordioxid betriebenen BEH auf eine zentrale Desinfektion umgestellt wurde, bei der das Desinfektionsmittel bereits vor der BEH in das Trinkwasser zugeführt wird, erfolgte an diesen BEH zusätzlich eine Sanierung der Trinkwasserinstallation. Dafür wurde das jeweilige Desinfektionsmittel in einer hohen Konzentration (Chlordioxid 25 mg/l ClO_2 bzw. 70 mg Cl_2 /l) vom Punkt der Zudosierung bis zur TW-Entnahmestelle in die BEH eingeleitet und über Nacht belassen. Danach wurde das hoch konzentrierte Desinfektionsmittel an der TW-Entnahmestelle der BEH abgelassen. Wie aus der schematischen Abbildung 4.1 zu erkennen, verblieb hierbei ein kurzer, nicht sanierter Abschnitt von der TW-Entnahmestelle bis zur Desinfektionsanlage. Es ist anzunehmen, dass besonders bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH ein flächendeckender Biofilm vorhanden war, der nun in diesem Bereich nicht entfernt wurde. Dieser Biofilm ist weiterhin in der Lage, hohe Konzentrationen an Mikroorganismen an das durchfließende Wasser abzugeben.

Bei dem Verfahren mit Anolyte und Chlordioxid wird das Desinfektionsmittel in der gewünschten Konzentration von bis zu 0,6 mg/l Cl_2 in das Trinkwasser vor der BEH zudosiert, und durchfließt im Unterschied zu den mit Dentosept PL betriebenen BEH die gesamte BEH. Das Desinfektionsmittel kann daher den Biofilm im Bereich zwischen TW-Entnahmestelle und Desinfektionsanlage oberflächlich angreifen und die Biofilmstruktur aufflockern, wodurch leichter hohe Konzentrationen an Mikroorganismen in das Wasser der BEH abgegeben werden.

Bei der Entnahme der TW-Probe wurde durch das Spülen für 20 Sekunden viel Wasser abgelassen. Genau dies kann aber auch zu einer rückwärts gerichteten Strömung und damit zu einer Beeinflussung der TW-Probe geführt haben. Es ist daher gut vorstellbar, dass neben dem der BEH zugeführten Trinkwasser stark mikrobiell verunreinigtes Wasser aus dem nicht sanierten Leitungsabschnitt der BEH entnommen wurde. Auf diese Weise können die hohen Koloniezahlen verursacht worden sein.

Prinzipiell trifft dies auch auf die mit Anolyte betriebenen BEH zu. Doch im Vergleich zu den mit Chlordioxid betriebenen BEH weisen die TW-Proben signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Koloniezahlen auf. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass der im nicht sanierten Leitungsabschnitt vorhandene Biofilm an den mit Anolyte betriebenen BEH durchaus wesentlich dünner besiedelt war als an den mit Chlordioxid betriebenen BEH. Im Vergleich zu einem flächenhaften Bewuchs hat das Desinfektionsmittel somit weniger Angriffsfläche und kann daher auch weniger zusätzliche Mikroorganismen aus dem Biofilm lösen. Eine weitere Möglichkeit ist, dass während der davorliegenden Betriebsphase mit Anolyte das Desinfektionsmittel bereits viel besser in der Lage war, den Biofilm abzubauen als Chlordioxid und

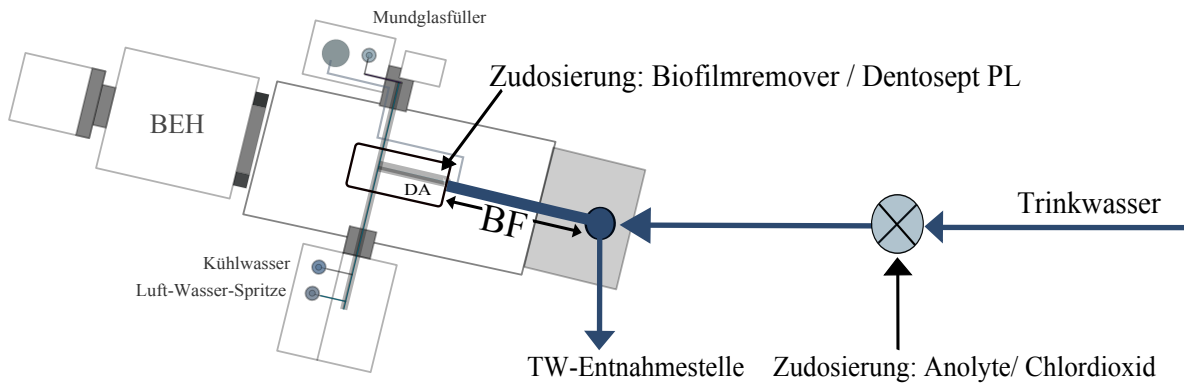


Abbildung 4.1 – Schematische Darstellung der Biofilmstrecke (BF), DA: Desinfektionsanlage.

dadurch niedrigere Koloniezahlen an der TW-Entnahmestelle nachgewiesen werden konnten. Auf der anderen Seite hätte dann das Anolyte auch innerhalb der BEH zu einer deutlichen Reduzierung der Koloniezahlen führen müssen. Daher ist es auch gut möglich, dass das Anolyte nicht (wie vom Hersteller angegeben) oder nur bedingt in der Lage ist, Biofilm in der BEH abzubauen.

Natürlich kann auch an den mit Dentosept PL betriebenen BEH im Bereich zwischen TW-Entnahmestelle und Desinfektionsanlage Biofilm vorhanden sein. Das Desinfektionsmittel wird allerdings erst in der Desinfektionsanlage zudosiert. Somit kann es den Biofilm in dem davor liegenden, nicht sanierten Leitungsabschnitt, nicht angreifen und führt dementsprechend auch nicht zu einer weiteren Erhöhung der Koloniezahlen in der TW-Probe.

4.5 Schlussfolgerung

In der Zahnheilkunde werden durch die KRINKO-Empfehlung verschiedene Maßnahmen zur Infektionsprävention vorgegeben, welche durch die Änderung des Infektionsschutzgesetzes vom Juli 2011 einen juristisch verbindlichen Charakter erhalten.

Besonders in den komplexen wasserführenden Systemen einer BEH entstehenden mikrobiologische Verunreinigungen, die das Infektionsrisiko bei der zahnärztlichen Behandlung erhöhen können. Um der mikrobiellen Kontamination entgegenzuwirken, wird u. a. der Einsatz von Desinfektionsmitteln innerhalb der BEH empfohlen [95]. Dass die Wasserdesinfektion zu einer Reduktion der Koloniezahlen in BEH führt, wurde bereits in der Literatur beschrieben [9, 20, 44, 101, 117, 119, 127]. Wie in dieser Studie zeigen auch andere Untersuchungen, dass einige Desinfektionsmittel besser wirken als andere [11, 121]. So wird in der Arbeit von WALKER et al. [135] beschrieben, dass zwar viele Desinfektionsmittel die Koloniezahlen

reduzierten, aber einige zusätzlich in der Lage waren, einen Biofilm fast vollständig zu entfernen. Demzufolge ist es auch entscheidend, welches Desinfektionsmittel eingesetzt wird. Die KRINKO-Empfehlung fordert daher, nur jene Desinfektionsmittel zum Einsatz zu bringen, deren Wirksamkeit unter praxisnahen Bedingungen nachgewiesen und belegt worden ist [95].

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Desinfektionsverfahren unter praxisnahen Bedingungen getestet. Dabei diente die in der Zahnklinik standardmäßig durchgeführte Desinfektion mit Wasserstoffperoxid (Dentosept PL) als Referenzverfahren, während die beiden anderen Verfahren neu im Einsatz zur Desinfektion in BEH getestet wurden.

Zum einen wurde das Anolyteverfahren untersucht, bei dem das HYDROSTEL®-Wasserdesinfektionssystem den Einsatz in BEH ermöglicht. Hierbei wird eine Natriumhypochloritlösung vollautomatisch „vor Ort“ hergestellt. Zum anderen wurde der Einsatz von Chlordioxid als Desinfektionsmittel in BEH getestet, welches erst durch den im Kapitel 1.6 (Gl 1.8) genannten Herstellungsweg ermöglicht wurde. Bei beiden Verfahren wird von den Herstellern eine Biofilmbeseitigung und Bakterienreduktion sogar unter Einhaltung der von der TrinkwV vorgegebenen Richtwerte angegeben, obwohl innerhalb der BEH die Desinfektion nicht nach TrinkwV erfolgen müsste.

Die Ergebnisse zeigen sowohl bei den mit Anolyte als auch bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH, dass mit diesen Verfahren Koloniezahlen von ≤ 100 KBE/ml nicht zuverlässig und durchgängig erzielt werden konnten. Demnach war in der vorliegenden Arbeit unter den gegebenen Bedingungen eine ausreichende Wirksamkeit der beiden Desinfektionsmittel in BEH nicht nachzuweisen. Dennoch können diese beide Verfahren, besonders da sie nach TrinkwV zugelassen sind, interessante Alternativen darstellen. In weiterführenden Studien sollte z. B. überprüft werden, ob die Verfahren in der Lage sind, an nicht kontaminierten, neuen BEH einen guten mikrobiologischen Zustand zuverlässig zu gewährleisten.

Der KRINKO-Empfehlung entsprechende Ergebnisse wurden an den mit Dentosept PL betriebenen BEH nachgewiesen. Somit war Dentosept PL an den in der vorliegenden Arbeit untersuchten BEH in der Lage, den guten mikrobiologischen Zustand über den gesamten Untersuchungszeitraum zu halten.

Im Unterschied zu den beiden anderen Verfahren ist dieses Verfahren hinsichtlich der Aufbereitung von Wasser nach TrinkwV nicht in der UBA-Liste gelistet. Da es sich aber bei dem Wasser in BEH um Betriebswasser handelt, ist die Desinfektion mit Wasserstoffperoxid erlaubt.

Die KRINKO-Empfehlung „fordert den sachgerechten Betrieb einer Dentaleinheit unter dem Aspekt der mikrobiologischen Qualität des Wassers zu überprüfen“ [95]. Dabei werden u. a.

folgende Maßnahmen empfohlen:

1. einmal jährlich eine mikrobiologische Überprüfung,
2. Überprüfung an nur einer Entnahmestelle ausreichend,
3. Untersuchung der Koloniezahl bei einer Inkubationstemperatur von 36 °C

Zu 1.

In der vorliegenden Arbeit wurde die mikrobiologische Überprüfung innerhalb von zehn Monaten an bis zu zwölf Untersuchungstagen an einer BEH durchgeführt. Dabei konnten in der Abhängigkeit von der Zeit starke Variationen der Koloniezahlen nachgewiesen werden. So kam es vor, dass an einem Untersuchungstag die Proben den Anforderungen der KRINKO-Empfehlung entsprachen und bereits ein Probeentnahmetag später (nach ca. zwei Wochen) die Koloniezahl weit über dem geforderten Wert von 100 KBE/ml lag. Der umgekehrte Fall kam ebenso vor. Diese Ergebnisse zeigen, dass je nach Untersuchungstag der mikrobiologische Zustand der BEH als ungenügend oder auch für ein weiteres Jahr als ausreichend eingestuft worden wäre. Nach der KRINKO-Empfehlung kann eine sichere Aussage hinsichtlich der mikrobiologischen Wasserqualität über einen Zeitraum von 12 Monaten nicht getroffen werden.

Zu 2.

In der hier vorliegenden Studie wurden anstatt der geforderten einen Entnahmestelle drei Entnahmestellen jeder BEH untersucht. Diese Ergebnisse zeigten unterschiedlich hohe Koloniezahlen an den verschiedenen Entnahmestellen einer BEH. Dabei waren die Koloniezahlen an einem Probenahmetag so unterschiedlich, dass an einigen Entnahmestellen die Anforderung der KRINKO-Empfehlung hinsichtlich der Koloniezahl bei 36 °C erfüllt wurden, während an einer anderen Entnahmestelle die Koloniezahl weit über dem geforderten Wert von 100 KBE/ml lag. Dies verdeutlicht, dass der mikrobiologische Zustand einer BEH nicht nur anhand der Überprüfung einer Entnahmestelle erfolgen sollte, sondern dass bereits die Überprüfung einer weiteren Entnahmestelle den mikrobiologischen Zustand der BEH zuverlässiger aufzeigt.

Zu 3.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung zeigen, dass auch bei der Inkubationstemperatur von 22 °C hohe Koloniezahlen nachweisbar sind. Dennoch kam es sehr selten vor, dass wenn die Koloniezahl bei 36 °C den Anforderung der KRINKO-Empfehlung entsprach die Koloniezahl bei 22 °C über 100 KBE/ml lag. Obwohl bei der ausschließlichen Überprüfung der Koloniezahl bei 36 °C nur eine Teilaussage hinsichtlich des mikrobiologischen Zustandes und der TrinkwV erbracht werden kann, ist in der vorliegenden Arbeit aber in den meisten Fällen eine richtungsweisende Aussage hinsichtlich des mikrobiologischen Zu-

standes der BEH möglich. Außerdem werden bei der Inkubationstemperatur von 36 °C auch die Koloniezahlen human pathogener Erreger eher miterfasst als bei 22 °C. Somit scheint die Untersuchung bei 36 °C für ein jährliches Screening sehr sinnvoll.

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass durch die von der KRINKO-Empfehlung vorgegebenen Untersuchungsparameter kein ausreichender Überblick über den mikrobiologischen Zustand des Wassers einer BEH gewonnen werden kann. Dieser ist aber durch wenige Zusatzuntersuchungen deutlich zu verbessern. Insbesondere wird durch die Überprüfung mindestens einer zusätzlichen Entnahmestelle der mikrobiologische Gesamtzustand der BEH besser beurteilbar. Des Weiteren würde natürlich eine Verkürzung des Probenahmeintervalles von einem Jahr und die Hinzunahme der Koloniezahlen bei 22 °C die Aussagekraft über den mikrobiologischen Zustand einer BEH ebenfalls verbessern. Doch steigen mit zusätzlichem Untersuchungsaufwand die Untersuchungskosten, daher muss zwischen Informationsgewinn durch weitere Untersuchungen einerseits und der daraus entstehenden Kostenerhöhung andererseits, abgewogen werden. Unter diesem Aspekt sollte eine zuverlässigere Erfassung des hygienischen Zustandes einer BEH zu einem gegebenen Zeitpunkt durch Beprobung mehrerer Entnahmestellen den Vorrang erhalten und eventuell die Überprüfung auf *Pseudomonas aeruginosa* erfolgen.

Wird durch diese Prüfung eine zu hohe mikrobiologische Belastung einer BEH festgestellt, sollte die vorher stattgefundene screeningmäßige Überprüfung auf eine Ursachenforschung erweitert werden. Dabei bietet sich die Überprüfung aller Entnahmestellen sowie die Überprüfung an der TW-Entnahmestelle an. Anhand dieser Ergebnisse können danach gezielte Maßnahmen zur Reduktion der Koloniezahlen ergriffen werden und je nach Ausmaß der mikrobiellen Kontamination eine Intensivdesinfektion, ein Biofilmremoving oder der Austausch von Wasserleitungen und Ventilen erfolgen. Durch diese ursachenorientierte Vorgehensweise kann von einer nachhaltigeren Sanierung der BEH ausgegangen werden, die wiederum auch eine kostengünstigere Alternative darstellt. Um den Erfolg dieser Maßnahmen überprüfen zu können, sollte sich eine erneute mikrobiologische Überprüfung anschließen.

Wird durch diese Überprüfung festgestellt, dass der mikrobiologische Zustand der BEH den hier geforderten Anforderungen genügt, ist dieser Zustand zu erhalten und die Voraussetzung zur (Re-)Kontamination minimiert werden. Hierfür ist ein entsprechendes Hygienemanagement von immenser Bedeutung! Dies wird auch von BIERHENKE et al. [136] beschrieben. Sie führten in ihrer Arbeit die Sicherstellung der mikrobiologischen Qualität des Wassers auf die Einhaltung eines standardisierten Hygieneprotokolles zur Desinfektion, Pflege und regelmäßigen Wartung einer BEH zurück. Bestärkt wurden diese Erkenntnisse auch dadurch, dass während des Untersuchungszeitraumes von drei Jahren es krankheitsbedingt zu Unregelmäßigkeiten in der Umsetzung des Hygieneprotokolles kam, woraufhin sich die Ergebnisse verschlechterten. Auch JORGENSEN et al. [137] berichten über die Desinfektion

und Überwachung der zahnärztlichen Wasserleitungen. Hierbei stellten sie fest, dass mit Einhaltung eines Protokolles die Koloniezahlen innerhalb von drei Wochen unterhalb der Messgrenze von 1 KBE/ml reduziert werden konnten und danach bestehen blieben. Hielt man sich nach der Desinfektion nicht streng an das Protokoll, stieg die mikrobielle Verunreinigung an und blieb bis zur nächsten Desinfektion bestehen.

Durch ein zuverlässiges Qualitäts- und Hygienemanagement kann das Verständnis des Personals für Hygiene gefördert bzw. überhaupt erst gebildet werden. Dazu gehören neben überprüfbar und standardisierten Anweisungen für alle hygienisch relevanten Tätigkeiten auch regelmäßige Schulungen des Personals.

Zur Erhaltung eines guten hygienischen Zustandes einer BEH sollten Standardarbeitsanweisungen erstellt werden. Diese sollten beispielsweise Angaben zur Häufigkeit und Dauer des Spülens enthalten, um dadurch Stagnation von Wasser in den BEH zu vermeiden. Die regelmäßige Durchführung dieser Maßnahmen sollten kontrolliert und in Spülprotokollen auch dokumentiert werden. Die Desinfektion des Betriebswassers soll nach KRINKO [95] mit Mitteln erfolgen, dessen Wirksamkeit unter praxisnahen Bedingungen nachgewiesen worden ist. In regelmäßigen Abständen sollte gemäß den Angaben des Herstellers eine Intensivdesinfektion mit gleichzeitiger Überprüfung der Desinfektionsanlage stattfinden. Des Weiteren sollten regelmäßig Wartungen an den BEH durchgeführt werden. Zur Überprüfung des hygienischen Zustandes einer BEH wird durch die KRINKO die Untersuchung des Wassers an einer Entnahmestelle innerhalb eines Jahres empfohlen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen jedoch, dass regelmäßige mikrobiologische Überprüfung der BEH an mehr als nur einer Entnahmestelle empfehlenswert sind, um den tatsächlichen hygienischen Zustand des Betriebswassers und eventuell vorhandener Biofilme einschätzen zu können.

Literaturverzeichnis

- [1] BRAUCKHOFF, G.; KOCHER, T.; HOLTFRETER, B.; BERNHARDT, O.; SPLIETH, C.; BIFFAR, R.; SASS, A. C. ; ROBERT KOCH-INSTITUT (Hrsg.): *Mundgesundheit - Heft 47 Gesundheitsberichterstattung des Bundes*. 2009
- [2] KASSENZAHNÄRZTLICHE BUNDESVEREINIGUNG (KZBV) (Hrsg.): *Jahrbuch 2014 Statistische Basisdaten zur vertragszahnärztlichen Versorgung*. Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung (KZBV), 2014
- [3] HOFFMANN-AXTHELM, W.: *Die Geschichte der Zahnheilkunde*. 2. Aufl. Berlin, London, Rio de Janeiro, Tokio Quintessenz Verlags-GmbH, 1985
- [4] ROESKE, W. ; RITTER, K. (Hrsg.): *Trinkwasserdesinfektion: Grundlagen, Verfahren, Anlagen, Geräte, Mikrobiologie, Chlorung, Ozonung, UV-Bestrahlung, Membranfiltration, Qualitätssicherung*. 2. Aufl. Oldenbourg Industrieverlag München, 2007
- [5] AL-HIYASAT, A. S.; MA'AYEH, S. Y.; HINDIYEH, M. Y.; KHADER, Y. S.: The presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the dental unit waterline systems of teaching clinics. In: *Int J Dent Hyg* 5 (2007), Feb, Nr. 1, S. 36–44
- [6] TÜRETGEN, I.; GÖKSAY, D.; COTUK, A.: Comparison of the microbial load of incoming and distal outlet waters from dental unit water systems in Istanbul. In: *Environ Monit Assess* 158 (2009), Nov, Nr. 1-4, S. 9–14
- [7] SZYMANSKA, J.; SITKOWSKA, J.; DUTKIEWICZ, J.: Microbial contamination of dental unit waterlines. In: *Ann Agric Environ Med* 15 (2008), Dec, Nr. 2, S. 173–179
- [8] KRAUT, W.: *Erprobung verschiedener Verfahren zur Reduktion der Keimzahl im Kühl- und Betriebswasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten.*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diplomarbeit, 2006
- [9] C. RICHTER: *Autochthone aquatische Mikroflora im Kühlwasser zahnärztlicher Einheiten - eine Bestandsaufnahme im niedergelassenen Bereich.*, Med. Fak. Der Universität Düsseldorf, Dissertation, 2003

- [10] BARBEAU, J.; TANGUAY, R.; FAUCHER, E.; AVEZARD, C.; TRUDEL, L.; CÔTÉ, L.; PRÉVOST, A. P.: Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. In: *Appl Environ Microbiol* 62 (1996), Nov, Nr. 11, S. 3954–3959
- [11] SCHEL, A. J.; MARSH, P. D.; BRADSHAW, D. J.; FINNEY, M.; FULFORD, M. R.; FRANDBSEN, E.; ØSTERGAARD, E.; TEN CATE, J. M.; MOORER, W. R.; MAVRIDOU, A.; KAMMA, J. J.; MANDILARA, G.; STÖSSER, L.; KNEIST, S.; ARAUJO, R.; CONTRERAS, N.; GORONCY-BERMES, P.; O’MULLANE, D.; BURKE, F.; O’REILLY, P.; HOURIGAN, G.; O’SULLIVAN, M.; HOLMAN, R.; WALKER, J. T.: Comparison of the efficacies of disinfectants to control microbial contamination in dental unit water systems in general dental practices across the European Union. In: *Appl Environ Microbiol* 72 (2006), Feb, Nr. 2, S. 1380–1387
- [12] SENNHENN-KIRCHNER, S.; MERGERYAN, H.; JACOBS, H.G.; KIRCHNER, B.: Mikrofiltration von Kühlwasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten - ein Weg zum keimfreien Aerosol. In: *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 61 (2006), S. 364–368
- [13] MARAIS, J. T. UND BRÖZEL, V. S.: Electro-chemically activated water in dental unit water lines. In: *Br Dent J* 187 (1999), Aug, Nr. 3, S. 154–158
- [14] WHITEHOUSE, R. L.; PETERS, E.; LIZOTTE, J.; LILGE, C.: Influence of biofilms on microbial contamination in dental unit water. In: *J Dent* 19 (1991), Oct, Nr. 5, S. 290–295
- [15] WALKER, J. T.; BRADSHAW, D. J.; BENNETT, A. M.; FULFORD, M. R.; MARTIN, M. V.; MARSH, P. D.: Microbial biofilm formation and contamination of dental-unit water systems in general dental practice. In: *Appl Environ Microbiol* 66 (2000), Aug, Nr. 8, S. 3363–3367
- [16] PUTNINS, E. E.; DI GIOVANNI, D.; BHULLAR, A. S.: Dental unit waterline contamination and its possible implications during periodontal surgery. In: *J Periodontol* 72 (2001), Mar, Nr. 3, S. 393–400
- [17] BEHRINGER, W. UND JATZWALK, L.: Eine neue Methode zur effektiven Entkeimung des Wassers von Dentaleinheiten. In: *ZWR* 110 (2001), Nr. 10, S. 671–674
- [18] LINGER, J. B.; MOLINARI, J. A.; FORBES, W. C.; FARTHING, C. F.; WINGET, W. J.: Evaluation of a hydrogen peroxide disinfectant for dental unit waterlines. In: *J Am Dent Assoc* 132 (2001), Sep, Nr. 9, S. 1287–1291
- [19] TUTTLEBEE, C. M.; O’DONNELL, M. J.; KEANE, C. T.; RUSSELL, R. J.; SULLIVAN, D. J.; FALKINER, F.; COLEMAN, D. C.: Effective control of dental chair unit waterline biofilm and marked reduction of bacterial contamination of output water

- using two peroxide-based disinfectants. In: *J Hosp Infect* 52 (2002), Nov, Nr. 3, S. 192–205
- [20] JATZWALK, L. UND REITEMEIER, B.: Untersuchungen zur Keimzahlreduktion im Wasser zahnärztlicher Behandlungseinheiten. In: *Krh.-Hyg. + Inf.-verh.* 24 (2002), Nr. 5, S. 157–164
- [21] WIRTHLIN, M. R.; MARSHALL, G. W. JR.; ROWLAND, R. W.: Formation and decontamination of biofilms in dental unit waterlines. In: *J Periodontol* 74 (2003), Nov, Nr. 11, S. 1595–1609
- [22] DE SOUZA-GUGELMIN, M. C. M.; LIMA, C. D. T.; DE LIMA, S. N. M.; MIAN, H.; ITO, I. Y.: Microbial contamination in dental unit waterlines. In: *Braz Dent J* 14 (2003), Nr. 1, S. 55–57
- [23] WALKER, J. T.; BRADSHAW, D. J.; FINNEY, M.; FULFORD, M. R.; FRANDSEN, E.; ØSTERGAARD, E.; TEN CATE, J. M.; MOORER, W. R.; SCHEL, A. J.; MAVRIDOU, A.; KAMMA, J. J.; MANDILARA, G.; STÖSSER, L.; KNEIST, S.; ARAUJO, R.; CONTRERAS, N.; GORONCY-BERMES, P.; O’MULLANE, D.; BURKE, F.; FORDE, A.; O’SULLIVAN, M.; MARSH, P. D.: Microbiological evaluation of dental unit water systems in general dental practice in Europe. In: *Eur J Oral Sci* 112 (2004), Oct, Nr. 5, S. 412–418
- [24] MONTEBUGNOLI, L.; CHERSONI, S.; PRATI, C.; DOLCI, G.: A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units. In: *J Hosp Infect* 56 (2004), Apr, Nr. 4, S. 297–304
- [25] ROSSELLA, S.; BALDISSARRI, A.; DE LUCA, G.; LUCCA, P.; STAMPI, S.; ZANETTI, F.: Microbial contamination in dental unit waterlines: comparison between Er:YAG laser and turbine lines. In: *Ann Agric Environ Med* 13 (2006), Nr. 2, S. 275–279
- [26] WATANABE, E.; AGOSTINHO, A. M.; MATSUMOTO, W.; ITO, I. Y.: Dental unit water: bacterial decontamination of old and new dental units by flushing water. In: *Int J Dent Hyg* 6 (2008), Feb, Nr. 1, S. 56–62
- [27] UZEL, A.; COGULU, D.; ONCAG, O.: Microbiological evaluation and antibiotic susceptibility of dental unit water systems in general dental practice. In: *Int J Dent Hyg* 6 (2008), Feb, Nr. 1, S. 43–47
- [28] HAHN, H.; KAUFMANN, S.; SCHULZ, T.; SUERBAUM, S. ; HAHN, H. (Hrsg.) ; KAUFMANN, S. (Hrsg.) ; SCHULZ, T. (Hrsg.) ; SUERBAUM, S. (Hrsg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 6. Aufl. Springer Medizin Verlag, 2009

- [29] VELASCO, E.; THULER, L. C.; MARTINS, C. A.; DIAS, L. M.; GONÇALVES, V. M.: Nosocomial infections in an oncology intensive care unit. In: *Am J Infect Control* 25 (1997), Dec, Nr. 6, S. 458–462
- [30] KAMPF, G.; WISCHNEWSKI, N.; SCHULGEN, G.; SCHUMACHER, M.; DASCHNER, F.: Prevalence and risk factors for nosocomial lower respiratory tract infections in German hospitals. In: *J Clin Epidemiol* 51 (1998), Jun, Nr. 6, S. 495–502
- [31] ERBAY, H.; YALCIN, A. N.; SERIN, S.; TURGUT, H.; TOMATIR, E.; CETIN, B.; ZENCIR, M.: Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish university hospital: a 2-year survey. In: *Intensive Care Med* 29 (2003), Sep, Nr. 9, S. 1482–1488
- [32] AGODI, A.; BARCHITTA, M.; CIPRESSO, R.; GIAQUINTA, L.; ROMEO, M. A.; DENARO, C.: *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. In: *Intensive Care Med* 33 (2007), Jul, Nr. 7, S. 1155–1161
- [33] FURUHASHI, M. UND MIYAMAE, T.: Prevention of bacterial contamination of water in dental units. In: *J Hosp Infect* 6 (1985), Mar, Nr. 1, S. 81–88
- [34] KELSTRUP, J.; FUNDER-NIELSEN, T. D.; THEILADE, J.: Microbial aggregate contamination of water lines in dental equipment and its control. In: *Acta Pathol Microbiol Scand B* 85 (1977), Jun, Nr. 3, S. 177–183
- [35] TALL, B. D.; WILLIAMS, H. N.; GEORGE, K. S.; GRAY, R. T.; WALCH, M.: Bacterial succession within a biofilm in water supply lines of dental air-water syringes. In: *Can J Microbiol* 41 (1995), Jul, Nr. 7, S. 647–654
- [36] SINGH, R.; STINE, O. C.; SMITH, D. L.; SPITZNAGEL, J. K.; LABIB, M. E.; WILLIAMS, H. N.: Microbial diversity of biofilms in dental unit water systems. In: *Appl Environ Microbiol* 69 (2003), Jun, Nr. 6, S. 3412–3420
- [37] ABEL, L. C.; MILLER, R. L.; MICIK, R. E.; RYGE, G.: Studies on dental aerobiology. IV. Bacterial contamination of water delivered by dental units. In: *J Dent Res* 50 (1971), Nr. 6, S. 1567–1569
- [38] ARVAND, M. UND HACK, A.: Microbial contamination of dental unit waterlines in dental practices in Hesse, Germany: A cross-sectional study. In: *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 3 (2013), Mar, Nr. 1, S. 49–52
- [39] DEMUTH, J. UND DUNKELBERG, H.: Bakterielle Kontamination und Dekontamination im Wassersystem von Sirona C1 Dentaleinheiten. In: *Dtsch-Zahnärztl-Z* 55 (2000), Nr. 2, S. 104–108

- [40] ATLAS, R. M.; WILLIAMS, J. F.; HUNTINGTON, M. K.: Legionella contamination of dental-unit waters. In: *Appl Environ Microbiol* 61 (1995), Apr, Nr. 4, S. 1208–1213
- [41] CHALLACOMBE, S. J. UND FERNANDES, L. L.: Detecting Legionella pneumophila in water systems: a comparison of various dental units. In: *J Am Dent Assoc* 126 (1995), May, Nr. 5, S. 603–608
- [42] PANKHURST, C. L.; PHILPOTT-HOWARD, J. N.; HEWITT, J. H.; CASEWELL, M. W.: The efficacy of chlorination and filtration in the control and eradication of Legionella from dental chair water systems. In: *J Hosp Infect* 16 (1990), Jul, Nr. 1, S. 9–18
- [43] BLUME, M. UND SCHMIDT, H.: Keimbesiedelung zahnärztlicher Behandlungseinheiten und bauartbedingte Unterschiede. In: *ZWR* 109 (2000), Nr. 4, S. 160–165
- [44] KATZ, T.: Keimbesiedelung von zahnärztlichen Behandlungseinheiten ohne und mit Desinfektionseinrichtung. In: *Die Quintessenz* 41 (1990), August, Nr. 8, S. 1345–1355
- [45] ZANETTI, F.; STAMPI, S.; DE LUCA, G.; FATEH-MOGHADAM, P.; ANTONIETTA, M.; SABATTINI, B.; CHECCHI, L.: Water characteristics associated with the occurrence of Legionella pneumophila in dental units. In: *Eur J Oral Sci* 108 (2000), Feb, Nr. 1, S. 22–28
- [46] OPPENHEIM, B. A.; SEFTON, A. M.; GILL, O. N.; TYLER, J. E.; O'MAHONY, M. C.; RICHARDS, J. M.; DENNIS, P. J.; HARRISON, T. G.: Widespread Legionella pneumophila contamination of dental stations in a dental school without apparent human infection. In: *Epidemiol Infect* 99 (1987), Aug, Nr. 1, S. 159–166
- [47] VERONESI, L.; CAPOBIANCO, E.; AFFANNI, P.; PIZZI, S.; VITALI, P.; TANZI, M. L.: Legionella contamination in the water system of hospital dental settings. In: *Acta Biomed* 78 (2007), Aug, Nr. 2, S. 117–122
- [48] SZYMANSKA, J.: Bacterial contamination of water in dental unit reservoirs. In: *Ann Agric Environ Med* 14 (2007), Nr. 1, S. 137–140
- [49] GÖKSAY, D.; COTUK, A.; ZEYBEK, Z.: Microbial contamination of dental unit waterlines in Istanbul, Turkey. In: *Environ Monit Assess* 147 (2008), Dec, Nr. 1-3, S. 265–269
- [50] SCHULZE-RÖBBECKE, R.; FELDMANN, C.; FISCHEDER, R.; JANNING, B.; EXNER, M.; WAHL, G.: Dental units: an environmental study of sources of potentially pathogenic mycobacteria. In: *Tuber Lung Dis* 76 (1995), Aug, Nr. 4, S. 318–323

- [51] BARBEN, J.; KUEHNI, C. E.; SCHMID, J.: Water quality in dental chair units. A random sample in the canton of St. Gallen. In: *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 119 (2009), Nr. 10, S. 976–985
- [52] HEIN, P.: Die mikrobiologische Besiedlung zahnmedizinischer Einheiten und Möglichkeiten ihrer Beeinflussung. In: *Hyg. + Med.* 10 (1985), S. 493–503
- [53] MARTIN, M. V.: The significance of the bacterial contamination of dental unit water systems. In: *Br Dent J* 163 (1987), Sep, Nr. 5, S. 152–154
- [54] STRUELENS, M. J.; ROST, F.; DEPLANO, A.; MAAS, A.; SCHWAM, V.; SERRUYS, E.; CREMER, M.: Pseudomonas aeruginosa and Enterobacteriaceae bacteremia after biliary endoscopy: an outbreak investigation using DNA macrorestriction analysis. In: *Am J Med* 95 (1993), Nov, Nr. 5, S. 489–498
- [55] HOLLYOAK, V.; ALLISON, D.; SUMMERS, J.: Pseudomonas aeruginosa wound infection associated with a nursing home’s whirlpool bath. In: *Commun Dis Rep CDR Rev* 5 (1995), Jun, Nr. 7, S. R100–R102
- [56] MENA, K. D. UND GERBA, C. P.: Risk assessment of Pseudomonas aeruginosa in water. In: *Rev Environ Contam Toxicol* 201 (2009), S. 71–115
- [57] MICHEL, R.: Freilebende Amöben als Wirte und Vehikel von Mikroorganismen. In: *Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.* 19 (1997), S. 11–20
- [58] ANAND, C. M.; SKINNER, A. R.; MALIC, A.; KURTZ, J. B.: Interaction of L. pneumophila and a free living amoeba (Acanthamoeba palestinensis). In: *J Hyg (Lond)* 91 (1983), Oct, Nr. 2, S. 167–178
- [59] LÜCK, C.: Legionella pneumophila. In: *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 54 (2011), S. 693 – 698
- [60] BARBEAU, J. UND BUHLER, T.: Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines. In: *Res Microbiol* 152 (2001), Oct, Nr. 8, S. 753–760
- [61] SZYMANSKA, J.: Risk of exposure to Legionella in dental practice. In: *Ann Agric Environ Med* 11 (2004), Nr. 1, S. 9–12
- [62] RICCI, M. L.; FONTANA, S.; PINCI, F.; FIUMANA, E.; PEDNA, M. F.; FAROLFI, P.; BUCCI SABATTINI, M. A.; SCATURRO, M.: Pneumonia associated with a dental unit waterline. In: *Lancet* 379 (2012), Feb, Nr. 9816, S. 684
- [63] DEPAOLA, L. G.; MANGAN, D.; MILLS, S. E.; COSTERTON, W.; BARBEAU, J.; SHEARER, B.; BARTLETT, J.: A review of the science regarding dental unit waterlines. In: *J Am Dent Assoc* 133 (2002), Sep, Nr. 9, S. 1199–206; quiz 1260

- [64] DUCHAINE, C.; FOREST, P.; MÉRIAUX, A.; BARBEAU, J.: High bioaerosols exposure in dental offices is poorly assessed by culture methods. In: *Paper presented at: 101st General Meeting of the American Society of Microbiology, May 20-24, 2001, Orlando, Fla., 2001*
- [65] DUTIL, S.; VEILLETTE, M.; MÉRIAUX, A.; LAZURE, L.; BARBEAU, J.; DUCHAINE, C.: Aerosolization of mycobacteria and legionellae during dental treatment: low exposure despite dental unit contamination. In: *Environ Microbiol* 9 (2007), Nov, Nr. 11, S. 2836–2843
- [66] REINTHALER, F. F.; MASCHER, F.; STÜNZNER, D.: [Legionella pneumophila: sero-epidemiologic studies of dentists and dental personnel in Austria]. In: *Zentralbl Bakteriolog Mikrobiol Hyg B* 185 (1987), Oct, Nr. 1-2, S. 164–170
- [67] REINTHALER, F. F.; MASCHER, F.; STÜNZNER, D.: Serological examinations for antibodies against Legionella species in dental personnel. In: *J Dent Res* 67 (1988), Jun, Nr. 6, S. 942–943
- [68] LÜCK, P. C.; LAU, B.; SEIDEL, S.; POSTL, U.: [Legionellae in dental units—a hygienic risk?]. In: *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl* 80 (1992), Nr. 6, S. 341–346
- [69] FOTOS, P. G.; WESTFALL, H. N.; SNYDER, I. S.; MILLER, R. W.; MUTCHLER, B. M.: Prevalence of Legionella-specific IgG and IgM antibody in a dental clinic population. In: *J Dent Res* 64 (1985), Dec, Nr. 12, S. 1382–1385
- [70] WILLIAMS, H. N.; JOHNSON, A.; KELLEY, J. I.; BAER, M. L.; KING, T. S.; MITCHELL, B.; HASLER, J. F.: Bacterial contamination of the water supply in newly installed dental units. In: *Quintessence Int* 26 (1995), May, Nr. 5, S. 331–337
- [71] FLETCHER, M. UND LOEB, G. I.: Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. In: *Appl Environ Microbiol* 37 (1979), Jan, Nr. 1, S. 67–72
- [72] FAZIO, S. A.; UHLINGER, D. J.; PARKER, J. H.; WHITE, D. C.: Estimations of uronic acids as quantitative measures of extracellular and cell wall polysaccharide polymers from environmental samples. In: *Appl Environ Microbiol* 43 (1982), May, Nr. 5, S. 1151–1159
- [73] PRATT, L. A. UND KOLTER, R.: Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. In: *Mol Microbiol* 30 (1998), Oct, Nr. 2, S. 285–293

- [74] O'TOOLE, G. A. UND KOLTER, R.: Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. In: *Mol Microbiol* 30 (1998), Oct, Nr. 2, S. 295–304
- [75] WALKER, J. T. UND MARSH, P. D.: Microbial biofilm formation in DUWS and their control using disinfectants. In: *J Dent* 35 (2007), Sep, Nr. 9, S. 721–730
- [76] UMWELTBUNDESAMT: Bericht des Bundesministeriums für Gesundheit und des Umweltbundesamtes an die Verbraucherinnen und Verbraucher über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser) in Deutschland (2011 - 2013) Berichtszeitraum: 1.Januar 2011 bis 31.Dezember 2013. In: *Umwelt & Gesundheit* 02 (2015). – <http://www.umweltbundesamt.de/publikationen/bericht-des-bundesministeriums-fuer-gesundheit-des-2> (zitiert am 02.08.2015)
- [77] EXNER, M.; KRAMER, A.; KISTEMANN, T.; GEBEL, J.; ENGELHART, S.: Wasser als Infektionsquelle in medizinischen Einrichtungen, Prävention und Kontrolle. In: *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 50 (2007), März, Nr. 3, S. 302–311
- [78] GRÄF, W. UND VOLLMUTH, G.: [Design-dependent transmission of bacteria by internal infection of dental turbines (author's transl)]. In: *Zentralbl Bakteriol Orig B* 165 (1977), Dec, Nr. 5-6, S. 444–457
- [79] RICE, A. R.; HAMILTON, M. A.; CAMPER, A. K.: Apparent Surface Associated Lag Time in Growth of Primary Biofilm Cells. In: *Microb Ecol* 40 (2000), Jul, Nr. 1, S. 8–15
- [80] COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M.: Microbial biofilms. In: *Annu Rev Microbiol* 49 (1995), S. 711–745
- [81] DONLAN, Rodney M.: Biofilms: Microbial Life on surfaces. In: *Emerg Infect Dis* 8 (2002), Sep, Nr. 9, S. 881–890
- [82] COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P.: Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. In: *Science* 284 (1999), May, Nr. 5418, S. 1318–1322
- [83] FLEMMING, H.-C.: Biofilme in Trinkwassersystemen - Teil 1: Übersicht. In: *Wasser Special* 139 (1998), Nr. 13, S. 65–72
- [84] NICKEL, J. C.; WRIGHT, J. B.; RUSESKA, I.; MARRIE, T. J.; WHITFIELD, C.; COSTERTON, J. W.: Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* colonizing a urinary catheter in vitro. In: *Eur J Clin Microbiol* 4 (1985), Apr, Nr. 2, S. 213–218

- [85] MOSKOWITZ, S. M.; FOSTER, J. M.; EMERSON, J.; BURNS, J. L.: Clinically feasible biofilm susceptibility assay for isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis. In: *J Clin Microbiol* 42 (2004), May, Nr. 5, S. 1915–1922
- [86] ANWAR, H. UND COSTERTON, J. W.: Enhanced activity of combination of tobramycin and piperacillin for eradication of sessile biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Antimicrob Agents Chemother* 34 (1990), Sep, Nr. 9, S. 1666–1671
- [87] COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; DEBEER, D.; CALDWELL, D.; KORBER, D.; JAMES, G.: Biofilms, the customized microniche. In: *J Bacteriol* 176 (1994), Apr, Nr. 8, S. 2137–2142
- [88] ROBERTS, A. P.; PRATTEN, J.; WILSON, M.; MULLANY, P.: Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. In: *FEMS Microbiol Lett* 177 (1999), Aug, Nr. 1, S. 63–66
- [89] BIERHENKE, R. UND SCHMAGE, P.: Zur Verbesserung der mikrobiologischen Wasserqualität in zahnärztlichen Behandlungseinheiten. In: *ZMK* 18 (2002), S. 550–560
- [90] COLEMAN, D. C.; O'DONNELL, M. J.; SHORE; A. C.; RUSSELL; R. J.: Biofilm problems in dental unit water systems and its practical control. In: *J Appl Microbiol* 106 (2009), May, Nr. 5, S. 1424–1437
- [91] SHEARER, B. G.: Biofilm and the dental office. In: *J Am Dent Assoc* 127 (1996), Feb, Nr. 2, S. 181–189
- [92] AMERICAN DENTAL ASSOCIATION: Statement on dental unit waterlines. In: *J Am Dent Assoc* 127 (1996), S. 185–186
- [93] KOHN, W. G.; COLLINS, A. S.; CLEVELAND, J. L.; HARTE, J. A.; EKLUND, K. J.; MALVITZ, D. M.; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC): Guidelines for infection control in dental health-care settings–2003. In: *MMWR Recomm Rep* 52 (2003), Dec, Nr. RR-17, S. 1–61
- [94] GESETZ ZUR VERHÜTUNG UND BEKÄMPFUNG VON INFEKTIONSKRANKHEITEN BEIM MENSCHEN (INFEKTIONSSCHUTZGESETZ - IfSG). – vom 20. Juli 2000 (BGB. I S. 1045), zuletzt geändert durch Artikel 2 Absatz 36 und Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154)
- [95] KOMMISSION FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTIONSPRÄVENTION AM ROBERT KOCH-INSTITUT. *Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderung an die Hygiene, Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2006; 49 (4) 375-394

- [96] ARBEITSGEMEINSCHAFT DER WISSENSCHAFTLICHEN MEDIZINISCHEN FACHGESELLSCHAFTEN. S2K-EMPFEHLUNG: *Hygienische Anforderungen an das Wasser in zahnärztlichen Behandlungseinheiten.* – Stand vom 18.09.2014, gültig bis 17.09.2019: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/075-002l_S2k_Wasser_Hygiene_Zahnarzt_Behandlung_2015-03.pdf (zitiert am 26.07.2015).
- [97] VERORDNUNG ÜBER DIE QUALITÄT VON WASSER FÜR DEN MENSCHLICHEN GEBRAUCH (TRINKWASSERVERORDNUNG - TRINKWV 2001). – in der Fassung der Bekanntmachung vom 2. August 2013 (BGBl. I S. 2977), geändert durch Artikel 4 Absatz 22 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154). http://www.gesetze-im-internet.de/trinkwv_2001/index.html (zitiert am 23.06.2015)
- [98] DIN EN 1717:2011-08. *Schutz des Trinkwassers vor Verunreinigungen in Trinkwasser-Installationen und allgemeiner Anforderungen an Sicherheitseinrichtungen zur Verhütung von Trinkwasserverunreinigungen durch Rückfließen.*
- [99] EXNER, M.; TUSCHEWITZKI, G. J.; SCHARNAGEL, J.: Influence of biofilms by chemical disinfectants and mechanical cleaning. In: *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B* 183 (1987), Apr, Nr. 5-6, S. 549–563
- [100] BORNEFF, J. UND BORNEFF, M.: *Hygiene Ein Leitfaden für Studenten und Ärzte.* 5. neubearbeitete und erweiterte Aufl. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1991
- [101] LIN, S.-M.; SVOBODA, K. K. H.; GILETTO, A.; SEIBERT, J.; PUTTAIAH, R.: Effects of hydrogen peroxide on dental unit biofilms and treatment water contamination. In: *Eur J Dent* 5 (2011), Jan, Nr. 1, S. 47–59
- [102] MEILLER, T. F.; KELLEY, J. I.; BAQUI, A. A.; DEPAOLA, L. G.: Laboratory evaluation of anti-biofilm agents for use in dental unit waterlines. In: *J Clin Dent* 12 (2001), Nr. 4, S. 97–103
- [103] AXT, G.: Technologie und Analyse der Entkeimungsmittel. In: *Schriften-Reihe, Institut für Wasser-, Boden-, Lufthygiene, Berlin-Dahlem* (1970)
- [104] UMWELTBUNDESAMT: *17. Änderungsmitteilung zur Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß § 11 Trinkwasserverordnung.* November 2012. – <http://www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/trinkwasser/trinkwasseraufbereitung-stoffliste.htm> (zitiert am 23.06.2015)
- [105] SIRONA DENTAL SYSTEMS GMBH: *Sirona M1 - weltweit erfolgreichste Behandlungseinheit mit über 35.000 verkauften Geräten in 13 Jahren.* – <http://www.sirona.com/de/unternehmen/geschichte/> (zitiert am 12.06.2015)

- [106] DIN EN 901:2007-06. *Produkte zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch - Natriumhypochlorit; Deutsche Fassung EN 901:2007*. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [107] ALFA, M. J. UND JACKSON, M.: A new hydrogen peroxide-based medical-device detergent with germicidal properties: comparison with enzymatic cleaners. In: *Am J Infect Control* 29 (2001), Jun, Nr. 3, S. 168–177
- [108] BORNEFF, M.: Hygiene-Probleme in der zahnärztlichen Praxis unter besonderer Berücksichtigung der Dentaleinheiten. In: *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 183 (1986), S. 130–152
- [109] SCHEID, R. C.; ROSEN, S.; BECK, F. M.: Reduction of CFUs in high-speed hand-piece water lines over time. In: *Clin Prev Dent* 12 (1990), Nr. 2, S. 9–12
- [110] MAYO, J. A.; OERTLING, K. M.; ANDRIEU, S. C.: Bacterial biofilm: a source of contamination in dental air-water syringes. In: *Clin Prev Dent* 12 (1990), Nr. 2, S. 13–20
- [111] WILLIAMS, H. N.; KELLEY, J.; FOLINEO, D.; WILLIAMS, G. C.; HAWLEY, C. L.; SIBISKI, J.: Assessing microbial contamination in clean water dental units and compliance with disinfection protocol. In: *J Am Dent Assoc* 125 (1994), Sep, Nr. 9, S. 1205–1211
- [112] PREVOST, A. P.; ROBERT, M.; CHARLAND, R.; BARBEAU, J.: Doctor, would you drink water from your dental unit? In: *N Y State Dent J* 61 (1995), Dec, Nr. 10, S. 22–28
- [113] MEILLER, T. F.; DEPAOLA, L. G.; KELLEY, J. I.; BAQUI, A. A.; TURNG, B. F.; FALKLER, W. A.: Dental unit waterlines: biofilms, disinfection and recurrence. In: *J Am Dent Assoc* 130 (1999), Jan, Nr. 1, S. 65–72
- [114] NOCE, L.; DI GIOVANNI, D.; PUTNINS, E. E.: An evaluation of sampling and laboratory procedures for determination of heterotrophic plate counts in dental unit waterlines. In: *J Can Dent Assoc* 66 (2000), May, Nr. 5, S. 262
- [115] KETTERING, J. D.; STEPHENS, J. A.; MUÑOZ-VIVEROS, C. A.; NAYLOR, W. P.: Reducing bacterial counts in dental unit waterlines: tap water versus distilled water. In: *J Contemp Dent Pract* 3 (2002), Aug, Nr. 3, S. 1–9
- [116] KOHNO, S.; KAWATA, T.; KAKU, M.; FUITA, T.; TSUTSUI, K.; OHTANI, J.; TENJO, K.; MOTOKAWA, M.; TOHMA, Y.; SHIGEKAWA, M.; KAMATA, H.; TANNE, K.: Bactericidal effects of acidic electrolyzed water on the dental unit waterline. In: *Jpn J Infect Dis* 57 (2004), Apr, Nr. 2, S. 52–54

- [117] BANSAL, R.; PUTTAIAH, R.; HARRIS, R.; REDDY, A.: Evaluation of two methods in controlling dental treatment water contamination. In: *J Contemp Dent Pract* 12 (2011), Nr. 2, S. 73–83
- [118] SMITH, A. J.; BAGG, J.; HOOD, J.: Use of chlorine dioxide to disinfect dental unit waterlines. In: *J Hosp Infect* 49 (2001), Dec, Nr. 4, S. 285–288
- [119] PORTEOUS, N. B. UND PARTIDA, M. N.: The effect of frequent clinical use of dental unit waterlines on contamination. In: *N Y State Dent J* 75 (2009), Apr, Nr. 3, S. 20–24
- [120] PORTEOUS, N. B.; COOLEY, R. L.; LAU, C. A.: The efficacy of a continuous-use stabilized chlorine dioxide dental unit waterline cleaner and the evaluation of two water sampling methods. In: *Gen Dent* 51 (2003), Nr. 5, S. 472–6; quiz 477
- [121] KISTEMANN, T.; VÖLKER, S.; VOGEL, S.; GEBEL, J.: Hygienisch-mikrobiologische Probleme wasserführender Bedienungselemente von Dentaleinheiten - Teil II: Fallstudie einer Dekontamination. In: *Hyg. + Med.* 36 (2011), Nr. 6, S. 241–244
- [122] HÜBNER, N.-O.; HANDRUP, S.; MEYER, G.; KRAMER, A.: Impact of the "Guidelines for infection prevention in dentistry" (2006) by the Commission of Hospital Hygiene and Infection Prevention at the Robert Koch-Institute (KRINKO) on hygiene management in dental practices - analysis of a survey from 2009. In: *GMS Krankenhhyg Interdiszip* 7 (2012), Nr. 1, S. Doc14
- [123] GEBEL, J.; LENZ, J.; LINKE, S.; EXNER, M.: Biofilme richtig "behandeln". Biofilmbedingte Hygienerisiken in Trinkwasserinstallationen - Untersuchungen zur Wirksamkeit einer mittels Membranzellenelektrolyse hergestellten Desinfektionslösung. In: *Krankenhaus Technik - Management* 36 (2009), Nr. 5, S. 17–20
- [124] EMMRICH, M. UND SIMONIS, A. *Wirksamkeitsüberprüfung des ClO₂- und des Anolyte-Wasserdesinfektionssystems in zahnärztlichen Behandlungseinheiten*. Forschungsbericht Januar 2008
- [125] WIRTHLIN, M. R. UND MARSHALL, G. W. JR.: Evaluation of ultrasonic scaling unit waterline contamination after use of chlorine dioxide mouthrinse lavage. In: *J Periodontol* 72 (2001), Mar, Nr. 3, S. 401–410
- [126] KIM, P. J.; CEDERBERG, R. A.; PUTTAIAH, R.: A pilot study of 2 methods for control of dental unit biofilms. In: *Quintessence Int* 31 (2000), Jan, Nr. 1, S. 41–48
- [127] KETTERING, J. D.; MUÑOZ-VIVEROS, C. A.; STEPHENS, J. A.; NAYLOR, W. P.; ZHANG, W.: Reducing bacterial counts in dental unit waterlines: distilled water vs. antimicrobial agents. In: *J Calif Dent Assoc* 30 (2002), Oct, Nr. 10, S. 735–741

- [128] KARPAY, R. I.; PLAMONDON, T. J.; MILLS, S. E.; DOVE, S. B.: Combining periodic and continuous sodium hypochlorite treatment to control biofilms in dental unit water systems. In: *J Am Dent Assoc* 130 (1999), Jul, Nr. 7, S. 957–965
- [129] BOIVIN-JAHNS, V.; RUIMY, R.; BIANCHI, A.; DAUMAS, S.; CHRISTEN, R.: Bacterial diversity in a deep-subsurface clay environment. In: *Appl Environ Microbiol* 62 (1996), Sep, Nr. 9, S. 3405–3412
- [130] BRISTELA, M.; SKOLKA, A.; SCHMID-SCHWAP, M.; PIEHSLINGER, E.; INDRA, A.; WEWALKA, G.; STAUFFER, F.: Testing for aerobic heterotrophic bacteria allows no prediction of contamination with potentially pathogenic bacteria in the output water of dental chair units. In: *GMS Krankenhhyg Interdiszip* 7 (2012), Nr. 1, S. Doc12
- [131] LECLERC, H. UND MOREAU, A.: Microbiological safety of natural mineral water. In: *FEMS Microbiol Rev* 26 (2002), Jun, Nr. 2, S. 207–222
- [132] ULTEE, A.; SOUVATZI, N.; MANIADI, K.; KÖNIG, H.: Identification of the culturable and nonculturable bacterial population in ground water of a municipal water supply in Germany. In: *J Appl Microbiol* 96 (2004), Nr. 3, S. 560–568
- [133] KRAMER, A.; ASSADIAN, O.; BACHFELD, D.; MEYER, G.: Purge- and intensive-purge decontamination of dental units contaminated with biofilm. In: *GMS Krankenhhyg Interdiszip* 7 (2012), Nr. 1, S. Doc11
- [134] PORTEOUS, N. B. UND COOLEY, R. L.: Reduction of bacterial levels in dental unit waterlines. In: *Quintessence Int* 35 (2004), Sep, Nr. 8, S. 630–634
- [135] WALKER, J. T.; BRADSHAW, D. J.; FULFORD, M. R.; MARSH, P. D.: Microbiological evaluation of a range of disinfectant products to control mixed-species biofilm contamination in a laboratory model of a dental unit water system. In: *Appl Environ Microbiol* 69 (2003), Jun, Nr. 6, S. 3327–3332
- [136] BIERHENKE, R.; SCHMAGE, P.; NERGIZ, I.; PLATZER, U.: Verhinderung der Keimbefiedlung des Kühlwassersystems in zahnärztlichen Behandlungseinheiten. In: *Dtsch-Zahnärztl-Z* 56 (2001), S. 118–121
- [137] JORGENSEN, M. G.; DETSCH, S. G.; WOLINSKY, L. E.: Disinfection and monitoring of dental unit waterlines. In: *Gen Dent* 47 (1999), Nr. 2, S. 152–156

Abbildungsverzeichnis

1.1	Abbildung a): Foto einer zahnärztlichen Behandlungseinheit (BEH), Abbildung b): schematische Darstellung einer BEH, AK: Anschlusskasten, DA: Desinfektionsanlage, AE: Arztelement	2
1.2	Leitungssysteme im Arztelement	8
1.3	Dissoziation von Chlor im Wasser (nach Axt [103])	12
1.4	Schematische Darstellung einer Rohrzellen-Elektrolyseanlage, bei der Anode und Kathode in einer Rohrzelle angeordnet sind [4]	13
1.5	Schematische Darstellung einer Membranzellen-Elektrolyse, bei der Anode und Kathode räumlich durch eine Membran getrennt sind [4]	14
2.1	Schematische Darstellung der acht Behandlungssäle mit der Nummerierung der BEH der Zahnklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin	19
2.2	Schematische Darstellung der Desinfektionsmittelzudosierung. AK: Anschlusskasten, DA: Desinfektionsanlage, AE: Arztelement	21
2.3	Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Probenahme	22
2.4	Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Probenverarbeitung	24
2.5	Darstellung der Kolonien und Mikrokolonien, grüne Pfeile: Kolonien, die der Koloniezahl zugeordnet wurden; rote Pfeile: Kolonien, die als Mikrokolonien MK3 gewertet wurden; schwarzer Ring: Bereich mit Mikrokolonien MK2; gelber Ring: Bereich mit Mikrokolonien MK1	25
3.1	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 44	34

3.2	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 45 .	35
3.3	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 46 .	36
3.4	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 28 .	39
3.5	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 29 .	40
3.6	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 30 .	41
3.7	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 25 .	43
3.8	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 26 .	44
3.9	Koloniezahlen [KBE/ml] bei den Inkubationstemperaturen von 36 °C (●) und 22 °C (○) in Abhängigkeit von der Zeit (Kalenderwoche/Jahr) für BEH 32 .	45
3.10	Boxplot-Darstellungen der nach Desinfektionsverfahren zusammengefassten Koloniezahlen [KBE/ml] aller Probeentnahmetage für jede Entnahmestelle bei 36 °C (n.s.: nicht signifikant)	50
3.11	Boxplot-Darstellungen der nach Desinfektionsverfahren zusammengefassten Koloniezahlen [KBE/ml] aller Probeentnahmetage für jede Entnahmestelle bei 22 °C (n.s.: nicht signifikant)	51
3.12	Koloniezahlverteilung der unterschiedlichen Desinfektionsmittelverfahren für alle Probeentnahmetage und für die Entnahmestellen KW, LWS und MGF zusammengefasst (n.s.: nicht signifikant)	52
3.13	Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Anolyte betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probenentnahmetage zusammengefasst)	55

3.14 Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Chlordioxid betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)	56
3.15 Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen bei den mit Dentosept PL betriebenen BEH für die jeweiligen Entnahmestellen bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)	57
3.16 Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Verteilung der Koloniezahlen für jedes Desinfektionsmittel bei 36 °C (a) und bei 22 °C (b) (die Entnahmestellen KW, LWS und MGF und allen Probeentnahmetagen zusammengefasst)	58
3.17 Mittlerer Anteil der Proben in Prozent (%), die hinsichtlich der Koloniezahl der TrinkwV entsprechen, für jedes Desinfektionsverfahren und jede Entnahmestelle	59
3.18 Nachweis der Mikrokolonien für die mit Anolyte betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)	62
3.19 Nachweis der Mikrokolonien für die mit Chlordioxid betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)	63
3.20 Nachweis der Mikrokolonien für die mit Dentosept PL betriebenen BEH (grün: keine MK, gelb: bis zu 50 MK/ml, orange: bis zu 1500 MK/ml, rot: über 1500 MK/ml)	64
3.21 Koloniezahlverteilung von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KBE/ml) für jede Entnahmestelle der mit Chlordioxid betriebenen BEH (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)	69
3.22 Koloniezahlverteilung von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KBE/ml) für jedes Desinfektionsmittel (alle Probeentnahmetage zusammengefasst)	70
3.23 Nachweis von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in Abhängigkeit von der Zeit (Kalen-derwoche/Jahr). Tage, an denen eine Sanierung mit einem höher konzentrier-ten Desinfektionsmittel durchgeführt wurden, sind mit einem „S“ markiert. .	71

3.24	Konzentrationen an freiem Cl_2 im TW der mit Anolyte (oben) und Chlordioxid (unten) betriebenen BEH in [mg/l] (links als einzelne Messwerte, rechts als Boxplots), die beiden unteren gepunkteten Linien begrenzen den von der UBA zugelassenen Konzentrationsbereich, die obere Linie begrenzt den durch eine Sondergenehmigung zugelassenen Konzentrationsbereich	73
4.1	Schematische Darstellung der Biofilmstrecke (BF), DA: Desinfektionsanlage.	87

Tabellenverzeichnis

1.1	Mikroorganismen, die im Wasser von BEH nachgewiesen wurden sowie durch diese möglicherweise ausgelöste Infektionen	4
1.2	Aufbereitungsstoffe	11
3.1	Übersicht der Probeentnahmetage der jeweiligen BEH und der zugeordneten Kalenderwoche im Jahr (KW/Jahr) sowie die Tage, an denen mit höher konzentriertem Desinfektionsmittel eine Sanierung der angegebenen BEH durchgeführt wurde.	31
3.2	Anzahl der Proben pro BEH, die den Vorgaben der KRINKO-Empfehlung, der TrinkwV und der ADA genügen (links) bzw. nicht genügen (rechts), zur Anzahl der untersuchten Proben (die endständigen Entnahmestellen (KW, LWS und MGF) für alle Probeentnahmetage zusammengefasst). Da die Bestimmung der Koloniezahl bei 22 °C nach KRINKO-Empfehlung nicht gefordert wird, sind diese Werte separat aufgeführt.	46
3.3	Zusammenfassende Darstellung (mittels mathematischer Beschreibung) der für jede Probe nachgewiesenen Mikrokolonien für jedes Desinfektionsmittel und deren Entnahmestellen	67
3.4	Weiterführende Diagnostik der auf dem Selektivnährboden Cetrimid gewachsenen Kolonien	68

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADA	American Dental Association
AE	Arztelement
AK	Anschlusskasten
BEH	zahnärztliche Behandlungseinheit
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca(ClO) ₂	Calciumhypochlorit
Ca(OH) ₂	Calciumhydroxid
Cl ₂	Chlor
ClO ₂	Chlordioxid
DA	Desinfektionsanlage
d. h.	das heißt
DIN	Deutsches Institut für Normung
DPD	N,N-Diethyl-p-phenylendiamin
E. coli	Escherichia coli
EN	Europäische Normen
et al.	et alii
ggf.	gegebenenfalls
°C	Grad Celsius
g/l	Gramm pro Liter
mg/l	Milligramm pro Liter
h	Stunde
HCl	Salzsäure
HClO	hypochlorige Säure
H ₂ O	Wasser
HWI	Harnwegsinfektion
Kap.	Kapitel
KBE/ml	Koloniebildende Einheit pro Milliliter
KOH	Kaliumhydroxid
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des Robert Koch-Institutes
KW	Kühlwasser
LWS	Luft-Wasser-Spritze
MGF	Mundglasfüller
MK1	winzige Mikrokolonien

MK2	sehr kleine Mikrokolonien
MK3	kleine Mikrokolonien
NaClO	Natriumhypochlorit
NaOH	Natriumhydroxid
o. g.	oben genannt
PVC	Polyvinylchlorid
s. g.	sogenannt
spp.	Subspezies
TrinkwV:	Trinkwasserverordnung
TSA-Platten	Trypton Soja Agar-Platten
TW	Trinkwasser
UBA	Umweltbundesamt
u. a.	unter anderem
VBNC	„viable but non-culturable“
Vol.-%	Volumenprozent
z. B.	zum Beispiel

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Franziska Grünewald, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel in den wasserführenden Leitungen von zahnärztlichen Behandlungseinheiten selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

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

Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Frau PD Dr.-Ing. Monika Emmrich für ihre Hinweise, Ratschläge und ihre geduldige Betreuung bei der Bearbeitung der Thematik.

Zudem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für die motivierenden Gespräche und die Möglichkeit des Erfahrungsaustausches mit anderen Doktoranden sowie Herrn Dr. Markus Roggensack.

Ein großer Dank gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern und meinem Bruder für ihre kontinuierliche Förderung und stetige Unterstützung.