

## 2 Material und Methoden

### 2.1 *Materialien*

#### 2.1.1 Turbocid

Beim Turbocid handelt es sich um ein Gerät zur chemischen Reinigung, Desinfektion und Schmierung von zahnärztlichen Hand- und Winkelstücken (s. Abb. 3-1). Technisch gesehen beruht die Konstruktion des Turbocid auf einem hydropneumatischen System, das durch einen integrierten Schaltkreis (Eprom) auf der Hauptplatine gesteuert wird. Die Hauptplatine wird durch einen eingebauten Transformator mit 12 V Wechselstrom versorgt und ist mit der Folientastatur verbunden, über die die Positionen aktiviert werden. Das Gerät besitzt drei Ansätze für Hand- oder Winkelstücke (ISO 3964) und zusätzlich einen Ansatz für eine zahnärztliche Turbine (ISO 9168). Voraussetzungen zum Betreiben des Gerätes ist eine Spannungsquelle von 220 V und ein Druckluftanschluss mit einer konstanten Druckluftversorgung von 5 - 5,5 bar. Um eine Korrosion der Platinen zu vermeiden, sollte die Druckluft trocken und ölfrei sein. Das Turbocid besitzt einen Elektromotor und benötigt etwa 5 l Druckluft pro Minute. Aufgrund des hohen Mengenverbrauchs an Druckluft ist der Anschluss an einen Kompressor vorteilhafter als das Betreiben mit einer Druckluftflasche. Sinkt der Luftdruck auf Werte unter 4 bar, so wird der Stromkreis und damit der Aufbereitungsvorgang unterbrochen. Es kann dadurch sicher verhindert werden, dass die Aufbereitung mit zu geringem Druck weiterläuft und so insuffizient aufbereitete Winkelstücke am Patienten eingesetzt werden.



A: Vorratsgefäß für Wasser

B: Vorratsgefäß für Desinfektionslösung Turbocidol

C: Vorratsgefäß für Pflegeöl

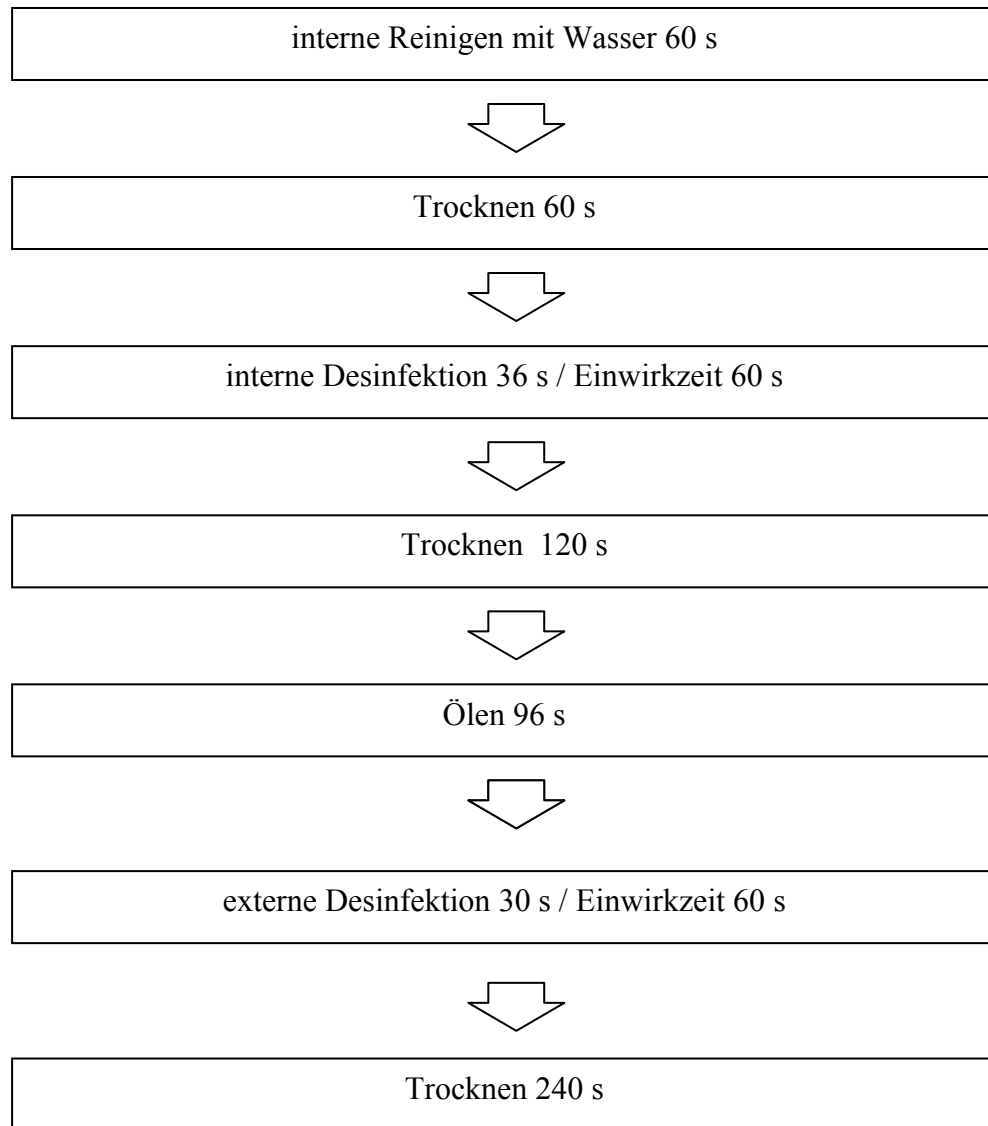
D: Ansatz für Winkelstück

E: Ansatz für Turbine

F: Folientastatur

**Abbildung 2-1: Turbocid**

Der Reinigungs- und Desinfektionsvorgang dauert laut Service-Handbuch insgesamt 762 Sekunden bzw. 12 Minuten und 42 Sekunden; diese gliedern sich in die in der Abbildung 3-2 dargestellten Abschnitte internes Reinigen mit Wasser, Trocknen mit Druckluft bei Raumtemperatur, interne Desinfektion, Einwirkzeit, Trocknen mit Druckluft bei Raumtemperatur, Ölen, externe Desinfektion, Einwirkzeit und Trocknen mit Druckluft bei Raumtemperatur.



**Abbildung 2-2: Ablauf des Aufbereitungsvorganges im Turbocid laut Herstellerangaben**

Um den Verbrauch an Wasser, Desinfektionslösung und Öl präzise überprüfen zu können, wurde das Gerät für die Versuche modifiziert. Normalerweise tropft beim Lösen der Vorratsgefäße vom Schlauchsystem aufgrund der Schwerkraft Flüssigkeit nach. Das Messergebnis würde dadurch verfälscht werden. Um das Problem zu lösen, müssten die Vorratsgefäße vor dem Trennen so gedreht werden, dass die Verbindung nach oben zeigt und keine Flüssigkeit nachtropfen kann. Da die handelsüblichen Vorratsgefäße allerdings keinen wasserdichten Schraubverschluss besitzen, können sie vor dem Lösen der Schlauchverbindung nicht ohne Flüssigkeitsverlust gedreht werden. Es wurden deshalb wasserdicht verschließbare, desinfizierbare Gefäße mit einer Öffnung an der Basis versehen. Es wurden dazu Duran Glas Labor-

flaschen 0,5 l mit DIN-Gewinde ISO 4796 Referenznummer 21891545 (Schott AG, Mainz) verwendet. Das Durchbohren erfolgte mit einem zahnärztlichen Diamanten grober Körnung. Das Loch wurde mit der gleichen Dichtringkombination wie die Originalgefäße verschlossen.

Die Dichtringkombination besteht aus:

einem Träger (Referenznummer 90.000.200),  
einem Filter (Referenznummer 90.000.195),  
einem Ring (Referenznummer 92.800.019),  
Dichtungen (Referenznummer 90.100.025),  
und einer Schnellkupplung, gerade (Referenznummer 91.101.008).

### ***Desinfektionsmittel***

Zur Desinfektion wurde das vom Hersteller empfohlene alkoholische Desinfektionsmittel mit dem Handelsnamen Turbocidol (Oro Clean Chemie AG, Pfäffikon) verwendet; 1 kg enthält:

Propylalkohol	300 g
Isopropylalkohol	450 g
Aqua dest.	243 g
Glyoxal	4 g
Korrosionsinhibitoren	2 g
Netzmittel	1 g

### ***Pflegeöl***

Die genaue Zusammensetzung des Pflegeöls mit dem Handelsnamen Micro-Mega-Pflegeöl TSU (TUNAP Industrie Chemie GmbH und Co. Produktions KG, Wolfratshausen) ist ein Firmengeheimnis; es wird deshalb nur die Rahmenrezeptur angegeben. Danach besteht 1 kg Pflegeöl aus:

Medizinisches Weißöl (Paraffin-Kohlenwasserstofföl) gemäß DAB 10	700 – 900 g
Isoparaffin-Lösungsmittel	100 – 200 g
Physiologisch unbedenkliche Wirkstoffe (Additive)	5 – 15 g
Esteröl	10 – 50 g

### 2.1.2 Winkelstücke

Für die Versuche wurden von der Firma KaVo 15 Winkelstücke 20 LN zur Verfügung gestellt (Abb. 3-3). Es handelt sich dabei um so genannte blaue Winkelstücke mit einer Übertragung von 1 : 1 und einer Umdrehungsgeschwindigkeit von maximal 45.000 U/min.



Abbildung 2-3: Verwendetes Winkelstück KaVo 20 LN

### 2.1.3 Weitere verwendete Geräte und Materialien

Zum Auftragen der Bakteriensuspensionen auf die Nährmedien wurde ein **Spiralometer** (Meintrup DWS Laborgeräte GmbH, Löhden) verwendet.

#### Waage

Der Verbrauch an Wasser und Desinfektionslösungen wurde mit einer Satorius Waage 1264 (Sartorius GmbH, Göttingen) bestimmt.

#### Reagenzgläser, Bechergläser

Es wurden handelsübliche gesäuberte und sterilisierte Reagenzgläser und Bechergläser verwendet.

#### Pipetten

Es wurden Kolbenhubpipetten (Eppendorf AG) in folgenden Pipettierbereichen verwendet:

- 0,5-10  $\mu\text{l}$ ,
- 100  $\mu\text{l}$  und
- 100 – 1000  $\mu\text{l}$ .

#### Schüttler

CertomatR U (B. Braun Melsungen AG; Melsungen)

### **Zentrifuge**

Cryofuge 8000 (Heraeus Christ; Karlsruhe)

### **Brutschrank**

Brutschrank Typ B 5060 (Heraeus Christ; Karlsruhe); es wird konstant eine Temperatur von  $36 \pm 1$  °C gehalten.

### **Koloniezählgerät**

Kolonien – Zähler Typ 3.080.002 (Schütt Labortechnik GmbH; Göttingen).

Das Koloniezählgerät besteht aus einer waagrechten, von unten beleuchteten Glasplatte, die mit einem Drucksensor verbunden ist. Eine mit Bakterien bewachsene Petri-Schale kann auf die Glasplatte gestellt werden. Durch die Beleuchtung von unten sind die koloniebildenden Einheiten (KBE) besser erkennbar und können mit einem Schreibstift auf dem Deckel markiert werden. Der Druck des Schreibstiftes beim Markiervorgang wird von dem Drucksensor registriert und die Anzahl der koloniebildenden Einheiten werden auf einer Digital-Anzeige dargestellt. Die Verwendung eines Koloniezählgerätes bietet den Vorteil der Arbeitserleichterung - das Mitzählen im Kopf entfällt – und zum anderen werden Fehler durch Doppelzählungen sicher vermieden. Bei Nährboden-Platten, die mit einer sehr hohen Anzahl von koloniebildenden Einheiten bewachsen sind, besteht die Möglichkeit, nur einen definierten Teil auszuzählen. In der dazugehörigen Arbeitsanleitung kann dann der entsprechende Umrechnungsfaktor nachgeschlagen und die Anzahl der KBE/ml berechnet werden.

## **2.1.4 Prüforganismus**

Als Prüforganismus wurde *Enterococcus faecium* (ATCC 6057) gewählt. *E. faecium* gehört zu den katalasenegativen grampositiven Kokken, die fakultativ anaerob bei Übernachtbebrütung auf Grundkulturmedien anwachsen [8]. Aufgrund seiner hohen Temperaturresistenz ist *E. faecium* auch als Prüforganismus für die thermische Desinfektion geeignet.

## **2.2 Nährmedien und Lösungen**

### **Trypton Soja Agar - TSA, Art.-Nr. CM 131 (Oxoid Biotechnik GmbH, Wesel)**

Bei TSA handelt es sich um einen Hemmstoff- und indikatorfreien, universellen Nährboden für eine breite Anwendung. Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der APHA, der USP XXII, der European Pharmacopeia II und dem Agarmedium B des DAB 10.

Typische Zusammensetzung; 1 l enthält:

Caseinpepton                      15,0 g

---

Sojamehlpepton	5,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Agar	15,0 g

Rest: Aqua dest.

pH-Wert:  $7,3 \pm 0,2$

Herstellung:

40 g Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar werden in 1 l Aqua dest. suspendiert und bis zum vollständigen Lösen erhitzt. Anschließend wird die Suspension für 15 Minuten bei einer Temperatur von 121 °C sterilisiert und danach im Wasserbad auf 50 °C abgekühlt, geschüttelt und in Platten gegossen.

### **Trypton Soja Boullion - TSB, Art.-Nr. CM 129 (Oxoid, Biotechnik GmbH, Wesel)**

1 l TSB enthält:

Caseinpepton	17,0 g
Sojamehlpepton	3,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Dikaliumhydrogenphosphat	2,3 g
Glukose	2,5 g

Rest: Aqua dest.

pH-Wert bei 25°C:  $7,3 \pm 0,2$

Herstellung:

30 g werden in 1 l Aqua dest. suspendiert und bis zum vollständigen Lösen erhitzt; es wird für 15 min eine Temperatur von 121 °C sterilisiert.

### **Kanamycin-Äsculin-Azid Agar - KÄAA, Art.-Nr. 5222 (Merck, Darmstadt)**

1 l Kanamycin-Äsculin-Azid Agar setzt sich zusammen aus:

Pepton aus Casein	20 g
Hefeextrakt	5 g
Natriumchlorid	5 g
Natriumcitrat	1 g
Natriumazid	0,15 g
Kanamycinsulfat	0,02 g
Äsculin	1 g
Ammonium Eisen III-Citrat	0,5 g

Agar-Agar 15 g

Rest: Aqua dest.

pH-Wert:  $7,1 \pm 0,2$

Zubereitung:

47,5 g des Pulvers werden in 1 l steriles Aqua dest. gegeben und 2 h bei 100 °C im Dampftopf gekocht. Im Anschluss wird die Flüssigkeit im Wasserbad bei 50 °C abgekühlt. Als Besonderheit des Kanamycin-Äsculin-Azid Agars ist zu nennen, dass der Agar sich bei Enterokokkenwachstum schwarz verfärbt.

### **Physiologische Kochsalzlösung**

Um osmotische Effekte während des Abschwemmens oder Zentrifugierens der Bakterien zu vermeiden, wurde mit 0,9% iger, steriler Kochsalzlösung gearbeitet. Des Weiteren wurde physiologische Kochsalzlösung zur Herstellung von Verdünnungsreihen verwendet.

### **Steriles Aqua dest.**

Bei allen Versuchen wurde mit sterilem Aqua dest. gearbeitet. Es wurde damit einer Veröffentlichung von LEIB et al Rechnung getragen, die nachwies, dass Leitungswasser und unsteriles Aqua dest. mit *Pseudomonas aeruginosa* oder atypischen Mykobakterien kontaminiert sein kann [124].

### **Enthemmerkombination**

Um beim Spülen die Wirkung des Desinfektionsmittel zu inaktivieren, wurde TSB mit folgenden Zusatzstoffen verwendet:

3% Tween 80

3% Saponin

0,1% Histidin

0,1% Cystein

## **2.3 Testanschmutzung**

Bei der Testanschmutzung handelt es sich um Eigenblut, das am Versuchstag jeweils frisch aus der Vena cephalica mit dem Venenpunktionsbesteck Venofix, Ref.-Nr. 4048083 (B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und einer sterilen 5 ml Einwegspritze, Ref.-Nr. 4606051V (B. Braun Melsungen AG, Melsungen) entnommen wurde.



Um ein vorzeitiges Einsetzen der Blutgerinnung – die negativen elektrischen Partialladungen im Lumen der Kanüle würden den Gerinnungsfaktor XII zu XIIa und damit das intrinsische Blutgerinnungssystem aktivieren – wurde die Spritze vor der Entnahme mit 0,5 ml Heparin-Natrium Braun I.E. 25.000/5 ml (B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gefüllt. 1 ml Injektionslösung enthält den arzneilich wirksamen Bestandteil Heparin-Natrium (Schweinedarmmucosa) 5.000 I.E. gemäß 4. WHO-Standard. Weitere Bestandteile sind das Konservierungsmittel Benzylalkohol sowie Natriumchlorid und Wasser für Injektionszwecke.

Kurz vor der Kontamination wird der blutgerinnungshemmende Effekt von Heparin durch den Antagonisten Protamin wieder aufgehoben. Es wurde dabei mit dem Präparat Protamin ICN 1.000 I.E./ml (Solco GmbH, Grenzach-Wyhlen) gearbeitet.

Zusammensetzung:

Protamin ICN 1.000 I.E./ml (Ampullen zu 5 ml) enthält in 1 ml eine Menge Protaminhydrochlorid, die 1.000 I.E. Heparin neutralisiert. Zusätzlich sind zwei antimikrobielle Konservierungsmittel enthalten; 0,8 mg Methyl-4-hydroxybenzoat und 0,1 mg Propyl-4-hydroxybenzoat. Weitere Bestandteile sind Natriumchlorid und Wasser für Injektionszwecke.

## **2.4 Methoden - Vorversuche**

### **2.4.1 Technische Überprüfung des Turbocids**

Die Reproduzierbarkeit der Dauer der einzelnen Reinigungs- und Desinfektionsphasen sowie des Verbrauchs an Reinigungs- und Desinfektionslösung ist eine Grundvoraussetzung für eine konstante Reinigung und Desinfektion [33,116]. Vor Beginn der Hauptversuche wurde deshalb die Dauer der einzelnen Reinigungs- und Desinfektionsphasen gemessen und der Verbrauch an Reinigungs- und Desinfektionslösung bestimmt. Es wurden dabei unterschiedliche Beladungszustände untersucht und der Verbrauch an Flüssigkeiten wurde mit unterschiedlichen Methoden bestimmt. Um zu gewährleisten, dass alle Schlauchsysteme mit Flüssigkeit gefüllt sind, wurden vor den Messungen – wie auch von GUGGENHEIM et al beschrieben [116] - zwei Zyklen im Leerlauf durchgeführt. Aufgrund der Ergebnisse von Vorversuch 1 wurde jedoch beschlossen, einen weiteren dritten Zyklus im Leerlauf voranzustellen. Allen Versuchen gingen somit drei Zyklen im Leerlauf voran. Zur Bestimmung des Volumenverbrauchs von Wasser- und Desinfektionslösung stehen beim Turbocid zwei Möglichkeiten zur Verfügung: Zum einen kann man versuchen, die verbrauchte Menge an Flüssigkeiten aufzufangen. Dabei besteht jedoch das Problem, dass eine Messung der während der äußeren Desinfektion versprühten Desinfektionsmittelmenge nicht möglich ist, da der durch

die je vier Düsen versprühte Desinfektionsnebel aufgrund des hohen Abgabedruck nicht oder nur unzureichend in den Auffangröhrchen kondensiert [116]. Zum anderen kann man den Verbrauch der Flüssigkeiten aus den Vorratsbehältern bestimmen. Das Messen des Verbrauchs aus den Vorratsbehältern hat den Vorteil, dass Fehler, die beim Auffangen von Wasser oder Desinfektionslösung entstehen können, vermieden werden.

Beim Vorversuch 1 war von den vier möglichen Ansätzen für Hand- und Winkelstücke nur der Ansatz 1 mit einem Winkelstück belegt. Der Volumenverbrauch wurde für den in Abbildung 3-2 handelsüblich programmierten Reinigungs- und Desinfektionsablauf durch Auswiegen der Vorratsgefäße vor und nach dem Versuch für die Flüssigkeiten Wasser, Turbocidol und TSU-Pflegeöl getrennt voneinander bestimmt. Zusätzlich wurden mit einem Gefäß die abfließenden Flüssigkeiten aufgefangen.

Im Vorversuch 2 wurden die Ansätze 1, 2 und 4 belegt. Der Ansatz 3, der für die Turbine vorgesehen ist, wurde nicht belegt. Der Volumenverbrauch wurde für den handelsüblich programmierten Reinigungs- und Desinfektionsablauf durch Auswiegen der Vorratsgefäße vor und nach dem Versuch für die Flüssigkeiten Wasser, Turbocidol und TSU-Pflegeöl getrennt voneinander bestimmt. Zusätzlich wurden mit einem Gefäß die abfließenden Flüssigkeiten aufgefangen.

Bei Vorversuch 3 waren alle vier Ansätze mit Übertragungsinstrumenten belegt. Ansatz 1, 2 und 4 mit je einem Winkelstück und Ansatz 3 mit einer für diesen Ansatz vorgesehenen Turbine. Der Volumenverbrauch wurde für den handelsüblich programmierten Reinigungs- und Desinfektionsablauf durch Auswiegen der Vorratsgefäße vor und nach dem Versuch für die Flüssigkeiten Wasser, Turbocidol und TSU-Pflegeöl getrennt voneinander bestimmt. Zusätzlich wurden mit einem Gefäß die abfließenden Flüssigkeiten aufgefangen.

Da bei den Vorversuchen 1 bis 3 auffiel, dass die Phase der äußeren Desinfektion 9 s kürzer war als im Service-Handbuch angegeben, wurde im Vorversuch 4 eine technische Überprüfung bei einem weiteren Turbocid durchgeführt. Dabei wurde an einem Turbocid mit der Gerätenummer 2462 die Dauer der einzelnen Reinigungs- und Desinfektionsphasen sechsmal hintereinander, bei der Situation alle vier Ansätze belegt, gemessen.

Bei Vorversuch 5 wurden vier Reagenzgläser unterhalb der vier Ansätze, an denen normalerweise Winkelstücke angebracht werden, befestigt. Damit konnte die Menge an abgegebenen Flüssigkeiten für die einzelnen Ansätze getrennt untersucht werden. Dabei wurden die Reagenzgläser in den Trocknungsphasen ausgetauscht, so dass die Abgabe von Wasser und die Abgabe von Turbocidol sowohl für die innere als auch für die äußere Desinfektion getrennt

bestimmt werden konnte. Mit dieser Methode führten auch GUGGENHEIM et al eine technische Überprüfung des Turbocids durch [116].

Um auszuschließen, dass längere Standzeiten zwischen den Versuchen, in denen das Gerät nicht in Betrieb ist, einen Einfluss auf die Aufbereitungsleistung haben, wurde vor den letzten beiden Hauptversuchen noch eine kurze technische Überprüfung durchgeführt. Der Versuchsaufbau entsprach dabei dem Vorversuch 3: es wurde dreimal die Abflussmenge beim Zustand „alle vier Ansätze belegt“, bestimmt und mit den aus dem Vorversuch 3 gewonnenen Ergebnissen verglichen.

#### **2.4.2 Einfluss von verwendeten Materialien auf den Prüforganismus *Enterococcus faecium***

Um herauszufinden, ob das zum Ölen der Winkelstücke verwendete Produkt TSU-Pflegeöl eine bakteriostatische oder bakterizide Wirkung auf das Wachstum und die Vermehrung von *E. faecium* besitzt, wurde ein so genannter Hemmhofstest durchgeführt: Auf mit *E. faecium* beimpfte TSA- Petri-Schalen wurden drei Tropfen TSU-Pflegeöl an unterschiedlichen Stellen aufgebracht. Nach einer Inkubationszeit von 36 h bei  $36 \pm 1$  °C wurde visuell beurteilt, ob sich um die TSU-Pflegeöl-Tropfen ein Hemmhof gebildet hat.

Der oben beschriebene Hemmhofstest wurde in gleicher Weise mit drei Tropfen Heparin, das zur Hemmung der Blutgerinnung verwendet wurde, durchgeführt. Mit diesem Versuch sollte überprüft werden, ob das enthaltene Konservierungsmittel Benzylalkohol einen bakteriostatischen oder bakteriziden Effekt auf den Prüforganismus *E. faecium* ausübt.

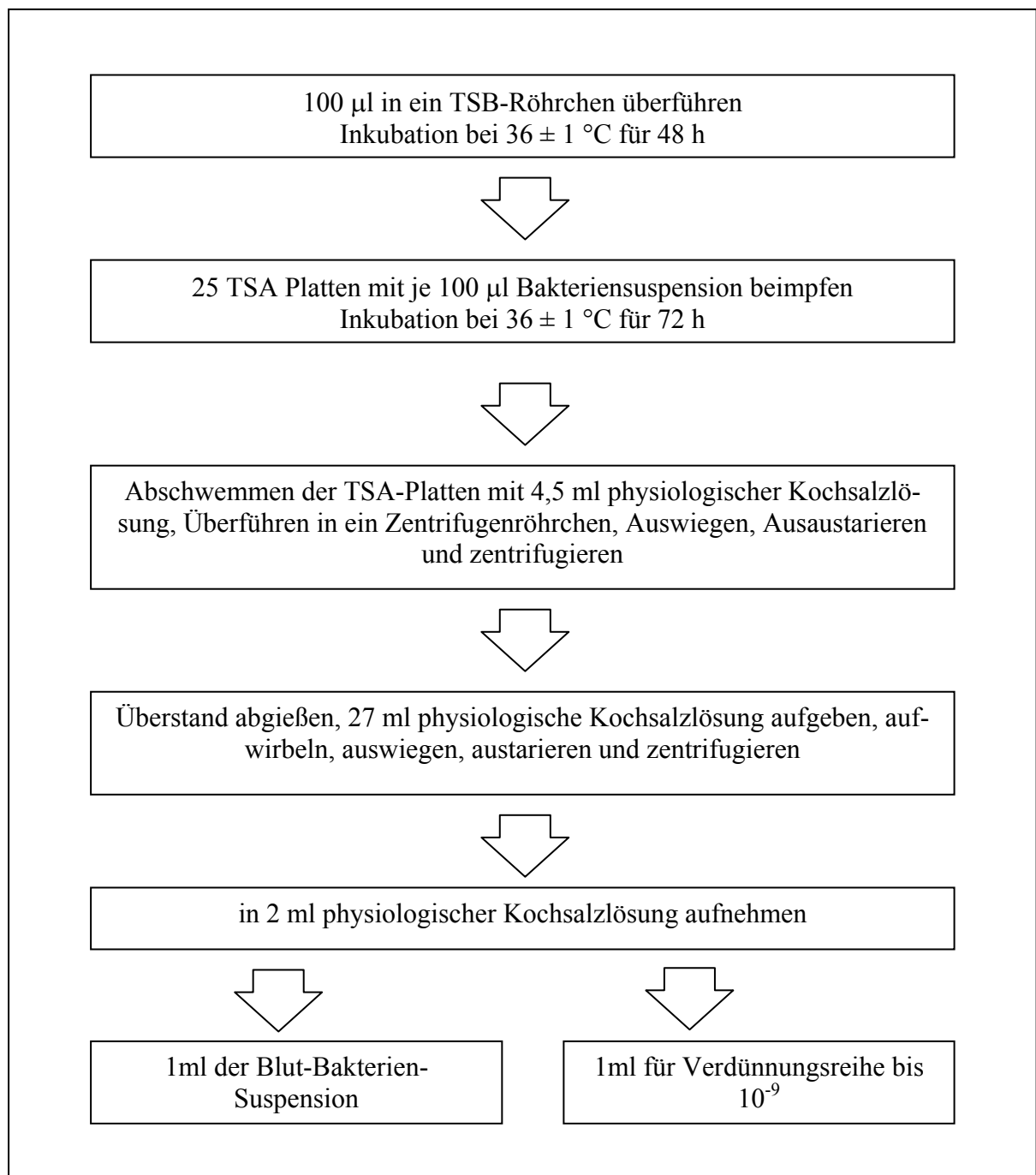
Dieser Versuch wurde in gleicher Weise auch mit dem zur Aufhebung des gerinnungshemmenden Effektes von Heparin verwendeten Protamin ICN 1000 I.E./ml durchgeführt. Dadurch soll überprüft werden, ob Protamin oder die enthaltenen antimikrobiellen Konservierungsmittel Methyl-4-hydroxybenzoat und Propyl-4-hydroxybenzoat einen bakteriostatischen oder bakteriziden Effekt auf den Prüforganismus *E. faecium* ausüben.

Um herauszufinden, ob nach der Zugabe von Protamin zum heparinisierten Blut genügend Zeit zur Kontamination der Luft- und Wasserkanäle zur Verfügung steht, wurde im Vorfeld die Zeit bis zum Einsetzen der Blutgerinnung gemessen und während den folgenden Versuchen beobachtet.

## 2.5 Methoden - Hauptversuche

### 2.5.1 Herstellung der Bakteriensuspension

Zur Herstellung der Bakteriensuspension wird ein Reagenzröhrchen gefüllt mit TSB mit dem Testorganismus *E. faecium* beimpft und bei  $36 \pm 1$  °C im Brutschrank inkubiert (s. Abb. 3-4). Nach 24 h werden jeweils 100 µl der zuvor beimpften Lösung in jeweils 2 Reagenzgläser mit TSB gegeben. Nach weiteren 48 h werden 25 TSA-Platten mit je 100 µl dieser Bakteriensuspension beimpft und bei  $36 \pm 1$  °C für 72 h im Brutschrank inkubiert. Die TSA-Platten werden anschließend mit ca. 4,5 ml physiologischer Kochsalzlösung pro Platte abgeschwemmt und in ein Zentrifugenröhrchen überführt. Die Zentrifugen-Röhrchen werden ausgewogen, eventuell austariert und bei 3.000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird abgegossen; das Sediment wird mit 27 ml (3 x 9 ml Röhrchen) physiologischer Kochsalzlösung aufgewirbelt. Nach erneutem Auswiegen und Austarieren wird für zehn Minuten bei 3.000 U/min zentrifugiert. Dieser Vorgang – auch als Waschung bezeichnet – wird noch einmal wiederholt. Anschließend wird der Überstand abgegossen. Das Sediment wird mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und resuspendiert. Mit 1 ml dieser Bakteriensuspension wird eine Verdünnungsreihe bis zur Verdünnungsstufe  $10^{-9}$  hergestellt; die Verdünnungsstufen  $10^{-9}$  –  $10^{-7}$  werden mit einem Spiralometer zur Doppelbestimmung auf KAAA-Platten aufgetragen. Die Platten werden für  $36 \pm 1$  °C für 36 h inkubiert; anschließend werden die koloniebildenden Einheiten ausgezählt und die Ausgangskonzentration berechnet.



**Abbildung 2-4: Herstellung der Bakteriensuspension**

### 2.5.2 Herstellung der Testanschmutzung und Prüfkörper

Zur Herstellung der Blut-Bakterien-Suspension wurde mit einer mit 0,5 ml Heparin gefüllten Spritze 2 ml frisches, venöses Humanblut entnommen und mit 1 ml der Bakteriensuspension gemischt. Um die blutgerinnungshemmende Wirkung des Heparins aufzuheben, wurden 2,5 ml Protamin beigegeben. Mit 1 ml des Blut-Bakterien-Gemisches wird eine Verdünnungsreihe bis zur Verdünnungsstufe  $10^{-3}$  hergestellt und zur Doppelbestimmung mit einem Spiralmeter auf KÄAA-Platten aufgetragen. Nach einer Inkubationszeit von 36 h bei  $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  werden die koloniebildenden Einheiten ausgezählt und die Konzentration berechnet.

### 2.5.3 Kontamination der Testobjekte



**Abbildung 2-5: Kontamination von Luft- und Wasserkanal mit Testanschmutzung mit Hilfe einer Endodontie-Kanüle**

Mit Hilfe einer Endodontie-Kanüle wurden je 0,1 ml Blut-Bakterien-Suspension direkt in Spray-Luft/Spray-Wasser Kanäle gegeben. Dazu wurde – wie in Abbildung 3-5 dargestellt – die Kanüle direkt in den entsprechenden Kanal eingeführt.

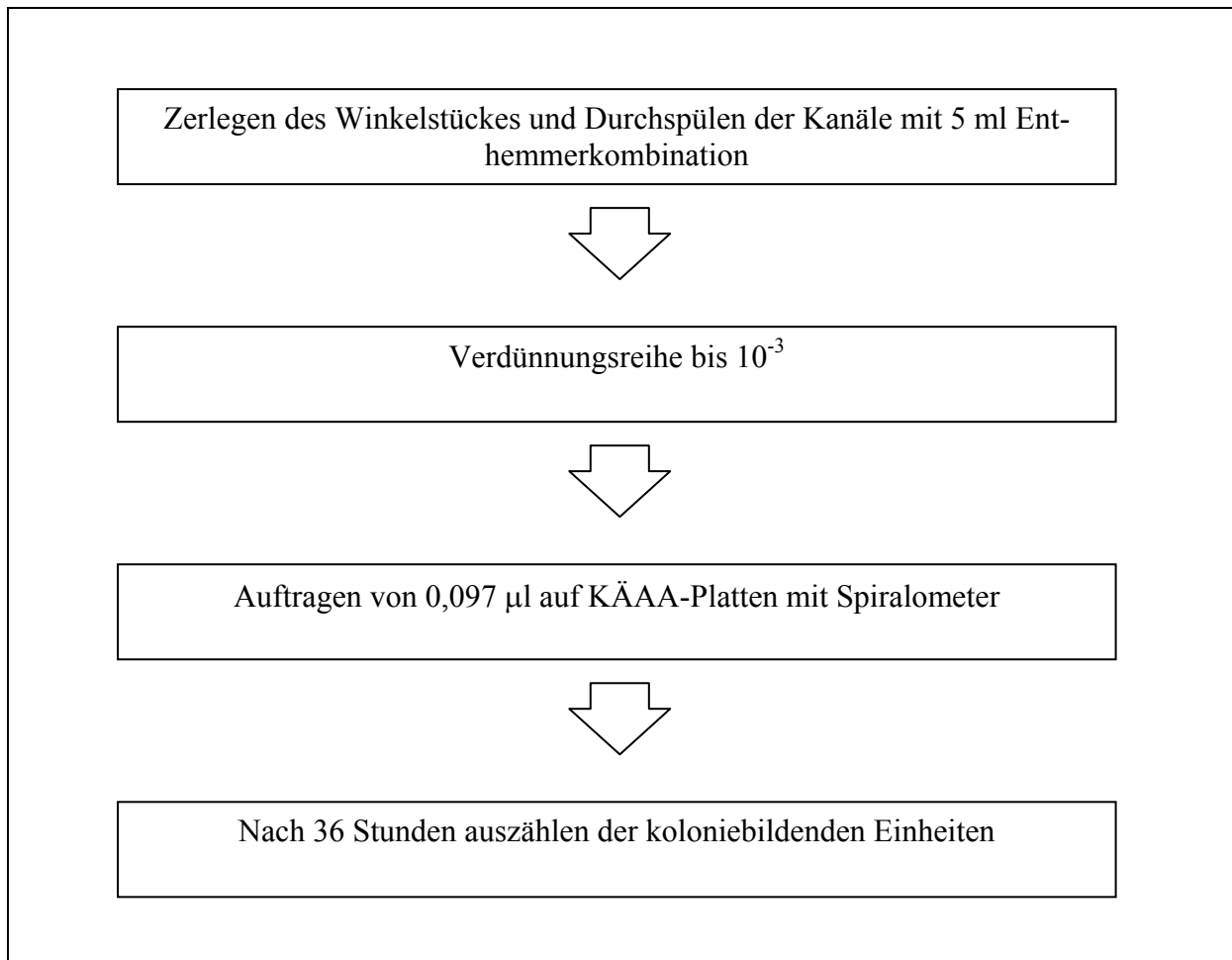
Die so behandelten Winkelstücke werden eine Stunde bei Raumtemperatur gelagert.

Die Aufbereitung erfolgt mit dem Turbocid. Der handelsübliche Aufbereitungsablauf im Turbocid ist in der Abbildung 3-2 im Abschnitt Materialien beschrieben. Dieser Ablauf wurde im Weiteren wie folgt verändert. Beim Hauptversuch 2 wurden die Winkelstücke zweimal in Folge dem handelsüblichen Ablauf ausgesetzt. Beim Hauptversuch 3 wurde nur die Reinigungsphase alleine untersucht, beim Hauptversuch 4 waren die Winkelstücke viermal in Folge nur dem Reinigungsablauf ausgesetzt und beim Hauptversuch 5 durchliefen die Winkelstücke einmal den Zyklus Reinigung und viermal den Desinfektionszyklus.

## **2.6 Hauptversuche**

### **2.6.1 Rückgewinnung des Testorganismus**

Zur Bestimmung der Rückgewinnungsrate wurden die Luft- und Wasserkanäle von 14 Winkelstücken mit einer Blut-Bakterien-Suspension kontaminiert. Nach einer Antrockenzeit von einer Stunde bei Raumtemperatur wurden die Winkelstücke – ohne vorherige Aufbereitung – zerlegt und jeder Luft- bzw. Wasserkanal mit je 5 ml Enthemmerkombination gespült und in einem sterilen Reagenzglas aufgefangen. Mit der gewonnenen Spüllösung wurde eine Verdünnungsreihe bis zur Verdünnungsstufe  $10^{-3}$  hergestellt und die Verdünnungsstufen wurden mit einem Spiralometer auf KÄAA aufgebracht. Nach einer Inkubationszeit von 36 Stunden im Brutschrank bei  $36 \pm 1$  °C wurden die koloniebildenden Einheiten gezählt und die Rückgewinnungsrate berechnet.



**Abbildung 2-6: Rückgewinnung und Bestimmung der Restkontamination**

Beim Hauptversuch 1 wurden die Luft- und Wasserkanäle von 15 Winkelstücken mit je 0,1 ml einer Blut-Bakterien-Suspension kontaminiert und nach einer Stunde Antrockenzeit bei Raumtemperatur dem oben beschriebenen Aufbereitungsvorgang einmal ausgesetzt; ein Winkelstück wurde zur Kontrolle nicht aufbereitet. Es wurden dazu die Winkelstücke an den für Winkelstücke vorgesehenen Aufsätzen 1, 2 und 4 im Turbocid befestigt und es waren alle Positionen aktiviert – auch die nicht belegte Position 3, die für Turbinen vorgesehen ist. Im Anschluss wurde die Restkontamination bestimmt.

Beim Hauptversuch 2 wurden die Luft- und Wasserkanäle von 15 Winkelstücken mit je 0,1 ml einer Blut-Bakterien-Suspension kontaminiert und nach einer Stunde Antrockenzeit bei Raumtemperatur zweimal in Folge hintereinander dem handelsüblichen Reinigungs- und Desinfektions- Programm ausgesetzt. Ein Winkelstück wurde zur Kontrolle nicht aufbereitet. Die Winkelstücke wurden an den für Winkelstücke vorgesehenen Aufsätzen 1, 2 und 4 im



Turbocid befestigt und es waren alle Positionen aktiviert. Im Anschluss erfolgte eine Bestimmung der Restkontamination.

Im Hauptversuch 3 wurde zur Untersuchung der Effektivität der Reinigung an 14 kontaminierten Winkelstücken die Restkontamination nach abgeschlossener Reinigung – aber ohne Desinfektion – beurteilt. Ein 15. Winkelstück wurde zwar auch kontaminiert, aber zur Kontrolle nicht aufbereitet. Es wurden die Winkelstücke an den für Winkelstücke vorgesehenen Aufsätzen 1, 2 und 4 im Turbocid befestigt und es waren alle Positionen aktiviert. Da nach dem Reinigungsvorgang die Kanäle 60 s mit Luft getrocknet werden, ist es möglich, in dieser Zeit den Aufbereitungsvorgang abubrechen, also bevor Desinfektionslösung in die Kanäle gelangt.

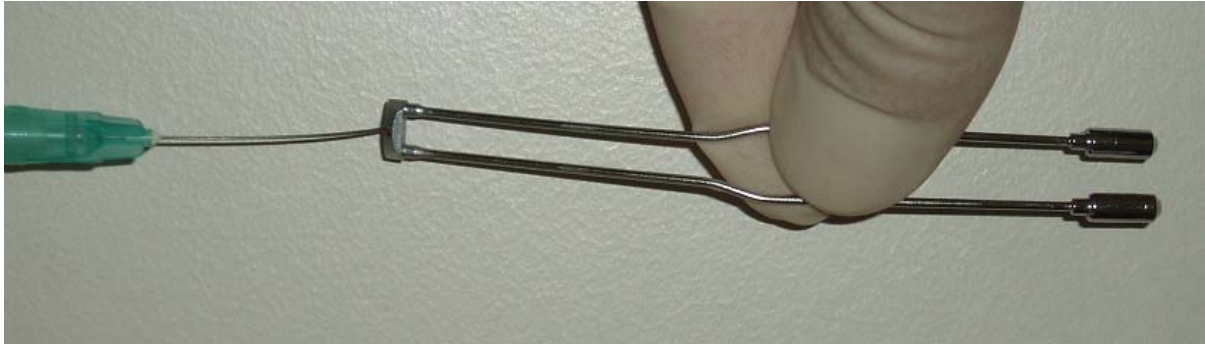
Im Hauptversuch 4 wurden 15 zuvor kontaminierte Winkelstücke viermal hintereinander dem Reinigungs-Vorgang ausgesetzt. Ein Winkelstück wurde zur Kontrolle nicht aufbereitet. Die Winkelstücke wurden an den für Winkelstücke vorgesehenen Aufsätzen 1, 2 und 4 im Turbocid befestigt und es waren alle Positionen aktiviert. Die Entnahme der Winkelstücke aus dem Turbocid erfolgte dabei nach der Phase „Trocknen 60 s“ (Abb 3-2).

Beim Hauptversuch 5 wurden 15 Winkelstücke wie oben dargestellt mit einer Blut-Bakterien-Suspension kontaminiert und einmal dem Reinigungsvorgang und viermal dem Desinfektionsvorgang ausgesetzt. Ein Winkelstück wurde zur Kontrolle nicht aufbereitet. Es wurden die Winkelstücke an den für Winkelstücke vorgesehenen Aufsätzen 1, 2 und 4 im Turbocid befestigt und es waren alle Positionen aktiviert. Die Entnahme der Winkelstücke aus dem Turbocid erfolgte dabei nach der letzten Phase „Trocknen 240 s“ (Abb 3-2). Im Anschluss erfolgte eine Bestimmung der Restkontamination.

### **2.6.2 Bestimmung der Restkontamination**

Die Winkelstücke werden zerlegt, die Luft- und Wasserkanäle werden entnommen und mit 5 ml Enthemmerkombination durchspült. Die Methode ist in Abbildung 3-7 dargestellt.

Mit dem Eluat werden Verdünnungsreihen bis  $10^{-3}$  hergestellt und zur Doppelbestimmung werden mit einem Spiralometer jeweils 0,097  $\mu$ l auf eine KÄAA-Platte aufgetragen. Die Platten werden bei  $36 \pm 1$  °C 36 Stunden inkubiert; anschließend werden die koloniebildenden Einheiten ausgezählt und die Konzentration berechnet. Platten mit weniger als 5 KBE wurden nicht gewertet.



**Abbildung 2-7: Rückgewinnung durch direktes Spülen der entnommenen Luft- und Wasserkanäle mit einer Endodontie-Kanüle**

### **2.6.3 Berechnung der Ergebnisse**

Die Berechnung des Reduktionsfaktors erfolgte mit der Formel:

$$RF = \log_{10} KBE_o - \log_{10} KBE_m$$

RF: Reduktionsfaktor in dekadischen Logarithmusstufen

$\log_{10} KBE_o$ : dekadischer Logarithmus der KBE ohne Aufbereitung

$\log_{10} KBE_m$ : dekadischer Logarithmus der KBE mit Aufbereitung

### **2.6.4 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Anwender-Programm SPSS for Windows. Die Abkürzung „SPSS“ bedeutet Statistical Package for Social Sciences. Das Programm wurde in den 60er Jahren ursprünglich für Großrechner entwickelt [125] und dient zur Bestimmung des Mittelwertes und der Standardabweichung; zusätzlich können statistische Testverfahren durchgeführt und die Ergebnisse graphisch dargestellt werden.

Beim Mittelwert unterscheidet man den arithmetischen und den geometrischen Mittelwert: Der arithmetische Mittelwert bezeichnet den Quotienten aus der Summe der Messwerte und ihrer Anzahl  $n$ . Allerdings ist der arithmetische Mittelwert nicht bei Potenzen geeignet; bei Potenzen wird deshalb der geometrische Mittelwert verwendet. Der geometrische Mittelwert wird berechnet, indem die  $n$ -te Wurzel aus dem Produkt aller  $n$  Messwerte gezogen wird. Voraussetzung dafür ist, dass jeder Einzelwert größer als Null ist. Der Median (Zentralwert) halbiert bei aufsteigender Sortierung der Messwerte die Messreihe; jeweils 50% der Messwerte liegen oberhalb und 50% der Messwerte liegen unterhalb des Medianes. Dieser ist somit das 50. Perzentil. Bei gerader Anzahl von Messwerten wird der Median als arithmetischer Mittelwert zwischen den beiden mittleren Werten bestimmt [20]. Stimmen Mittelwert und

Meridian überein, liegt eine symmetrische Verteilung der Messwerte vor; ein Nicht-Übereinstimmen von Mittelwert und Meridian spricht für eine schiefe Verteilung.

Die Standardabweichung ist ein Maß zur Beurteilung der Streuung von Messwerten. Sie berechnet sich aus den Differenzen der Einzelwerte zum Mittelwert. Je kleiner die Standardabweichung ist, desto genauer lässt sich der wahre Mittelwert der Grundgesamtheit feststellen.

Zur Signifikanzanalyse stehen verschiedene statistische Testverfahren in Abhängigkeit von der Verteilung der Messwerte zur Verfügung. Bei der Verteilung von Daten unterscheidet man zwischen einer Normalverteilung und einer Binominalverteilung.

Die Kriterien für eine Normalverteilung sind dabei

- eingipfelig
- symmetrisch
- nähert sich asymptotisch der x-Achse.

Um sicher zu gehen, dass die gewonnenen Ergebnisse nicht nur durch den Zufall erklärbar sind, gibt es verschiedene statistische Testverfahren; bei einer Normalverteilung der Werte eignet sich z. B. der t-Test für unverbundene Stichproben oder bei einer unbekanntem Verteilung der U-Test nach Mann-Whitney.

Da bei den in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnissen eine Normalverteilung vorliegt, wird der t-Test angewandt.

Die graphische Darstellung erfolgt mit Boxplot-Diagrammen. Es handelt sich dabei um eine in der Vertikalebene dargestellte Box. Die vertikale Ausdehnung der Box gibt Auskunft über den Interquartilabstand zwischen dem 25%- und 75%- Quartil. In diesem Intervall befinden sich 50% aller Werte. Je größer der Quartilabstand ist, desto größer ist die Streuung der Messwerte.