

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Abteilung für Kieferorthopädie, Orthodontie und Kinderzahnmedizin

DISSERTATION

**In-vivo-Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reiniger  
für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen – eine Pilotstudie**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Hywa Fathi  
aus Berlin

Datum der Promotion: 11.12.2015

Meinen Eltern und Babak in unendlicher Dankbarkeit für ihre bedingungslose  
Liebe und Unterstützung gewidmet.

# Inhaltsverzeichnis

1	Abstract.....	1
1.1	Zusammenfassung.....	1
1.2	Summary.....	2
2	Einleitung.....	4
3	Literaturübersicht.....	6
3.1	Reinigung.....	6
3.2	Herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen.....	7
3.3	Mikrobielle Besiedlung und Reinigung während der Behandlung mit herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen.....	9
3.4	Biofilm, Plaque und Zahnstein.....	14
3.5	Proteine.....	16
3.6	Proteinnachweismethoden.....	18
4	Aufgabenstellung.....	20
4.1	Hypothesen.....	21
5	Materialien.....	22
5.1	Untersuchte Materialien.....	22
5.2	Prüfkörperherstellung.....	24
5.3	Biofilmbildung auf den Prüfkörpern in vivo.....	27
6	Methode.....	30
6.1	Modifizierte OPA-Methode.....	30
6.1.1	Herstellung der OPA-Lösung.....	30
6.1.2	Nullpunktbestimmung.....	31
6.1.3	Kontrolle der OPA-Methode mit der Leucin-Standard-Messung.....	32
6.1.4	Proteinmengenbestimmung mit der modifizierten OPA-Methode.....	32
6.1.5	Elution der Verschmutzungen von Prüfkörperoberflächen.....	32

6.1.6	Kalibrierung der OPA-Methode.....	33
6.2	Vorversuche .....	33
6.2.1	Prüfung auf Interaktion zwischen den Prüfkörpern und der OPA-Methode .....	34
6.2.2	Halbierung der PMMA-Kunststoffplättchen .....	35
6.2.3	Ermittlung der Tragedauer .....	36
6.3	Hauptversuche .....	39
6.3.1	Ethikkommissionsvotum.....	39
6.3.2	Probanden .....	40
6.3.3	Trageweise der Tiefziehschienen .....	41
6.3.4	Durchführung der Hauptversuche .....	42
6.3.5	Randomisierung .....	44
6.3.6	Reinigungsprozess .....	46
6.3.7	Proteinmengen-Messung .....	47
6.4	Statistische Auswertung und grafische Darstellungen .....	48
7	Ergebnisse.....	50
7.1	Kalibrierung der OPA-Methode.....	50
7.2	Ergebnisse der Hauptversuche .....	51
7.2.1	Reinigungsprozent .....	52
7.2.2	Verbliebene Proteinmenge .....	55
7.3	Lokalisationsspezifische Proteinakkumulation .....	59
8	Diskussion .....	61
8.1	Diskussion der Aufgabenstellung.....	61
8.2	Diskussion der Materialien .....	61
8.2.1	Reiniger und ihre Wirkung.....	61
8.2.2	Prüfkörper.....	64
8.3	Diskussion der Methoden .....	65

8.3.1	Simulierte kieferorthopädische Apparatur .....	65
8.3.2	OPA-Methode .....	67
8.3.3	Diskussion der Reinigung .....	68
8.4	Diskussion der Ergebnisse.....	69
9	Schlussfolgerungen .....	72
10	Ausblick .....	73
11	Literaturverzeichnis .....	75
12	Anlage .....	86
13	Materialliste .....	87
13.1	Chemikalien für die OPA-Methode.....	90
13.2	Geräte/Instrumentarien für die OPA-Methode.....	91
14	Abkürzungen.....	94
15	Eidesstattliche Versicherung .....	95
16	Lebenslauf .....	96
17	Publikationsliste .....	98
18	Danksagung.....	100

# 1 Abstract

## 1.1 Zusammenfassung

**Einleitung:** Auf herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen beginnt in der Mundhöhle innerhalb von Minuten eine Bakterienbesiedlung.

Zunächst bildet sich ein Pellikel, das durch selektive Adsorption von Speichelproteinen an festen Oberflächen entsteht und sich im Weiteren zum etablierten Biofilm entwickelt. Dieser sollte im Rahmen der täglichen Mundhygienemaßnahmen entfernt werden, um Erkrankungen der oralen Hart- und Weichgewebe zu vermeiden. Hierfür gibt es jedoch keine einheitliche Empfehlung. Vielmehr werden für die häusliche Reinigung mechanische Maßnahmen, chemische Adjuvanzien, Ultraschall und/oder selbstreinigende Lösungen propagiert. Bislang ist jedoch ungeklärt, welche Methode am effektivsten ist.

Gegenstand der vorliegenden Pilotstudie ist die Bestimmung der Reinigungswirkung dreier kommerziell angebotener selbsttätiger Reinigungstabletten in Relation zu Wasser als Kontrollgruppe auf PMMA-Kunststoff.

**Materialien und Methoden:** 20 Probanden wurden in einer Cross-over-Studie untersucht. Die Teilnehmer sollten eine Tiefziehschiene für den Oberkiefer mit vier PMMA-Plättchen im Bereich des Gaumens vier Tage lang Tag und Nacht tragen. Anschließend wurden die Schienen wieder eingesammelt und für die Reinigungsversuche randomisiert zur Proteinbestimmung mithilfe der modifizierten ortho-Phthaldialdehyd (OPA)-Methode ausgewertet. Zwei Prüfkörper bildeten ein PMMA-Plättchen. Je Plättchen wurde ein Prüfkörper ungereinigt und der andere Prüfkörper desselben Plättchens nach Reinigung gemäß Herstellerangaben mit fittydent super<sup>®</sup>, NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup>, Kukis<sup>®</sup> oder Wasser als Kontrollmedium untersucht.

**Ergebnisse:** Alle untersuchten Reiniger entfernten signifikant mehr Biofilm (Protein) als Wasser (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test und Alpha-Adjustierung,  $p < 0,003$ ). Angabe in Reinigungsprozent (Differenz zwischen der Restproteinmenge auf den gereinigten und ungereinigten Prüfkörpern in Prozent) zwischen den untersuchten Reinigern und Wasser (Median: 56,5 %). fittydent super<sup>®</sup> (Median: 86,8 %) entfernte signifikant mehr Biofilm als Kukis<sup>®</sup> (Median: 79,8 %,  $p = 0,001$ ), hingegen bestand weder zwischen

fittydent super<sup>®</sup> und Ortho&Junior<sup>™</sup> (Median: 81,8 %, p=0,057) noch zwischen Ortho&Junior<sup>™</sup> und Kukis<sup>®</sup> (p=0,411) ein signifikanter Unterschied.

**Schlussfolgerungen:** Die modifizierte OPA-Methode hat sich als eine probate Methode zur Bestimmung der Reinigungseffizienz von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen erwiesen. Zum Reinigen kieferorthopädischer Geräte sind die untersuchten Reinigungstabletten effektiver als die alleinige Reinigung mit Wasser. Allerdings entfernten die Reiniger lediglich weiche Beläge, die sich innerhalb weniger Tage angesammelt hatten. Es bleibt zu klären, ob ein durch Zahnstein verunreinigtes kieferorthopädisches Gerät, gleichermaßen effektiv durch die untersuchten Produkte gereinigt wird.

## 1.2 Summary

**Introduction:** Bacterial colonization on removable orthodontic appliances occurs within minutes in the oral cavity. First, selective adsorption of salivary proteins on solid surfaces forms a pellicle and develops into an established biofilm. This must be removed regularly as part of daily oral hygiene measures to prevent diseases of the oral hard and soft tissues. However, there is no generalized recommendation for this practice.

To prevent oral diseases, mechanical cleaning, chemical adjuvants, ultrasound and/or self-cleaning solutions are used for domestic cleaning. However, it is unclear which method is most effective. The aim of this pilot study is to determine the cleaning effect of three commercially available effervescent tablets in comparison to water as control group on PMMA plastic.

**Materials and Methods:** 20 subjects participated in a cross-over study. Participants wore a vacuumformed splint made for their upper jaw with four built-in test specimens on the left and right of the palatal vault for four days, day and night. Afterwards, the splints were collected for protein determination in the laboratory using the modified ortho-phthaldialdehyde (OPA) method. One PMMA plate was formed by two specimens. One specimen was examined without cleaning, and the other specimen (other half of the same PMMA plate) was examined after cleaning with fittydent super<sup>®</sup>, NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> or Kukis<sup>®</sup> according to the manufacturers' instructions or water as control medium.

**Results:** The results demonstrated a significant difference (Wilcoxon signed-rank test and alpha adjustment,  $p < 0.003$ ) in cleaning percentage (difference between the amount of residual protein on cleaned and uncleaned specimens in percent) between the investigated cleaners and water (median: 56.5 %). fittydent super<sup>®</sup> (median: 86.8 %) removed significantly more biofilm than Kukis<sup>®</sup> (median: 79.8 %,  $p = 0.001$ ), but there was no significant difference observed between neither fittydent super<sup>®</sup> and Ortho&Junior<sup>™</sup> (median: 81.8 %,  $p = 0.057$ ) nor between Ortho&Junior<sup>™</sup> and Kukis<sup>®</sup> ( $p = 0.411$ ).

**Conclusions:** The modified OPA method applied here has proved to be an effective method to determine the cleaning efficacy on removable orthodontic appliances. The investigated cleaning tablets are significantly more effective than water to clean orthodontic appliances. However, the cleaners removed only soft plaque, which had accumulated within a few days. It remains to be clarified whether the examined products are equally effective in cleaning a contamination by calculus accumulation on orthodontic appliances.



## 2 Einleitung

Auch in der heutigen modernen Kieferorthopädie sind herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen ein fester Bestandteil der Therapie. Der weitgefächerte Indikationsbereich der herausnehmbaren kieferorthopädischen Geräte ermöglicht heute den Einsatz in allen Altersgruppen.

Hauptsächlich bei jungen Patienten im Wechselgebiss werden herausnehmbare kieferorthopädische Geräte zur Therapie von Zahn- und Kieferfehlstellungen unterschiedlicher Art eingesetzt<sup>97</sup>. Sowohl zur orthodontischen Behandlung<sup>31</sup> als auch zur Retention nach Abschluss einer kieferorthopädischen Therapie<sup>70, 116, 132</sup> werden herausnehmbare Retentionsgeräte in allen Altersklassen eingegliedert. Je nach eingesetztem Gerät ist zum Erreichen des geplanten Therapiezieles ein Mindestmaß an Tragezeit notwendig. Die von den Behandlern geforderte Mindesttragezeit lag in einer Befragungsstudie von Witt et al. im Durchschnitt bei 12,8 Stunden pro Tag für funktionskieferorthopädische Geräte und 13,9 Stunden für aktive Platten<sup>141</sup>.

Auch wenn die Zahnreinigung sowie die Reinigung herausnehmbarer Apparaturen im Vergleich zu festsitzenden Apparaturen wesentlich einfacher ist<sup>70</sup>, kommt der Reinigung dennoch ein hoher Stellenwert zu. Zum Reinigen der Apparaturen stehen zahlreiche Produkte und Methoden zur Verfügung. Sie reichen von chemischen Reinigungsagenzien, wie selbsttätigen Reinigungslösungen<sup>27, 140</sup>, verdünnter Essigessenz, Zitronensäure oder Natriumhypochlorit<sup>82</sup> bis hin zum Einsatz der mechanischen Reinigung mittels Zahnbürste in Kombination mit Zahnpasta, dem Einlegen der Geräte in Mundspüllösungen (Listerine<sup>®</sup>, CHX, NaOCl)<sup>13, 51, 113</sup> oder der Reinigung in einer Geschirrspülmaschine<sup>36</sup>. Laut einer Befragungsstudie von Eichenauer et al. empfehlen Kieferorthopäden in Deutschland am häufigsten die mechanische Reinigung mit einer Zahnbürste und deutlich seltener chemische Reinigungsmittel, wie z. B. die Reinigung mit Reinigungstabletten<sup>36</sup>.

Mehrere Studien zeigen, dass mit herausnehmbaren Apparaturen im Vergleich ohne kieferorthopädischer Apparatur eine vergrößerte Gefahr für orale Infektionen besteht<sup>3, 6, 65</sup>. Je länger die herausnehmbaren Geräte getragen werden und je schlechter die Mundhygiene der Patienten in Kombination mit einem niedrigen Speichel-pH-Wert ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit an einer Candida-Infektion zu erkranken<sup>6</sup>.

Bisher wurden die Reinigungswirkungen verschiedener Reiniger und Reinigungsmethoden<sup>29</sup> für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen anhand einer Keimzahlbestimmung oder mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht, vorwiegend nach einer künstlichen bakteriellen Kontamination *in vitro*<sup>113, 140</sup>. Als alternative Verfahren zur Überprüfung der Reinigungsleistung von medizinischen und zahnmedizinischen Instrumentarien bieten sich Proteinnachweismethoden an.

In puncto Materialeigenschaften sind sowohl die Erwartungen der Patienten als auch der Kieferorthopäden an die Geräte sehr groß. Es wird gefordert, dass die eingesetzten Materialien zur Herstellung der Geräte möglichst wenig plaqueretentiv sind und es weder durch die Reinigungsprozesse noch durch die Reiniger zu Materialveränderungen, wie zum Beispiel Materialermüdung, und damit zum Bruch der Apparatur oder Korrosion kommt.

Die Palette der Materialien zum Herstellen herausnehmbarer Geräte ist übersichtlich. Je nach Indikation werden Kunststoff-Materialien aus Polymethylmethacrylat (PMMA) und Methylmethacrylat (MMA), häufig auch in Kombination mit Metallen verwendet oder es werden Schienenmaterialien für Zahnpositioner aus thermoelastischem Acryl, Polyetherurethan, Ethylenvinyl-Acetat (EVA) oder Hochtemperatur-Silikone eingesetzt<sup>44, 54, 75, 85</sup>. Reinigungsempfehlungen für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen sollten die verschiedenen Materialeigenschaften sowie die unterschiedlichen Verarbeitungen der eingesetzten Materialien berücksichtigen.

## 3 Literaturübersicht

### 3.1 Reinigung

Weiß symbolisiert die Farbe der Reinheit. Das liegt daran, dass man bereits kleinste Verunreinigungen sehen kann<sup>9</sup>. Michels beschreibt Reinheit als die Abwesenheit unerwünschter Substanzen auf einer Oberfläche<sup>93</sup>. Das ist der Zustand, der nach einer Reinigung auftreten sollte. Reinigung wird laut einer Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI) als *„...ein Prozess zur Entfernung von Verunreinigungen (z. B. Staub, chemische Substanzen, Mikroorganismen, organische Substanzen) unter Verwendung von Wasser mit reinigungsverstärkenden Zusätzen (z. B. Detergenzien oder enzymatische Produkte) verstanden, ohne dass bestimmungsgemäß eine Abtötung/Inaktivierung von Mikroorganismen stattfindet bzw. beabsichtigt ist“*<sup>5</sup>. Analog zur RKI-Richtlinie ist die Reinigung auch in der Norm zur Validierung von Reinigungsgeräten DIN EN ISO 15883-1 für Medizinprodukte beschrieben<sup>30</sup>. Hier wird Reinigung als *„Entfernung von Verschmutzungen von einem Gegenstand in dem für seine weitere Behandlung und spätere vorgesehene Verwendung erforderlichen Umfang“* determiniert<sup>30</sup>. Entsprechend fordert die Norm eine Reduzierung der festgelegten Prüfanschmutzung.

Der RKI-Richtlinie zufolge weiß man, dass Reinigungsverfahren zu einer etwa 50 bis 80%igen Verminderung von Mikroorganismen auf den behandelten Flächen führen<sup>5, 24</sup>. Wie vorstehend bereits erwähnt, kommt es bei einer Reinigung gemäß RKI-Richtlinie nicht zur Abtötung von Bakterien. Die logische Konsequenz ist, dass das zum Reinigen verwendete Wasser mit infektionsrelevanten Erregern kontaminiert ist<sup>98</sup>. Deshalb müssen die Durchführung und das Management der Reinigungsverfahren so aufeinander abgestimmt sein, dass es nicht zu einer Vermehrung oder zu einem Verteilen fakultativ-pathogener oder pathogener Mikroorganismen auf den Medizinprodukten kommt<sup>5</sup>. Die Oberflächen von medizinischen Geräten sollten möglichst glatt, abwaschbar und nicht korrosionsanfällig sein, auch wenn man nicht immer diesen baulich-funktionellen Anforderungen bei der Reinigung gerecht werden kann<sup>8</sup>. Der Umfang einer Reinigungsmaßnahme ist abhängig von der Wahrscheinlichkeit des direkten Kontaktes, der möglichen Kontamination mit Krankheitserregern sowie vom Grad der klinisch relevanten Immunsuppression der

Patienten<sup>5, 8</sup>. Es ergeben sich daraus unterschiedliche Risikobereiche, die spezielle Anforderungen an die Reinigungsmaßnahmen voraussetzen<sup>5</sup>. Unter Beachtung der Angaben der Hersteller kann die Reinigung sowohl manuell als auch maschinell erfolgen, wobei aufgrund der geringeren Fehlerquote einer maschinellen Reinigung der Vorzug zu geben ist<sup>66</sup>. Wenn im Rahmen des Aufbereitungsprozesses nach der Reinigung eine Desinfektion mit nachfolgender Sterilisation erfolgen soll, dann sind für manuelle Reinigungen nicht Protein fixierende Reinigungsmittel geeignet. Die maschinelle Reinigung in einem Reinigungsgerät sollte bei Temperaturen durchgeführt werden, die zu keiner Proteinfixierung führen<sup>66</sup>. Dadurch wird gewährleistet, dass es zu keiner Fixierung von Rückständen wie zum Beispiel Blut, Sekret oder Geweberesten am Medizinprodukt kommt und diese somit nicht die Desinfektions- und Sterilisationsleistung beeinträchtigen. Der Aufbereitungsprozess für Medizinprodukte spielt zur Verhinderung einer Übertragung von pathogenen Keimen von Mensch zu Mensch eine zentrale Rolle. Weniger notwendig ist der vollständige Aufbereitungsprozess, samt Desinfektion und Sterilisation, wenn es zu dem intraindividuellen Einsatz von Medizinprodukten kommt, da in diesem Fall keine völlige Keimfreiheit bezweckt wird.

Der Fokus in dieser Studie ist ausschließlich auf die Reinigung von mit Plaque bewachsenen simulierten herausnehmbaren kieferorthopädischen Geräten zur Verhütung von oralen Erkrankungen gerichtet.

## 3.2 Herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen

Herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen werden schon seit langer Zeit verwendet<sup>4, 112, 127</sup>.

Die meisten herausnehmbaren kieferorthopädischen Geräte bestehen aus Polymethylmethacrylat (PMMA) und Methylmethacrylat (MMA) plus Drahtelementen und/oder Schrauben<sup>39, 123</sup>. In jüngerer Zeit haben jedoch in Druckformverfahren hergestellte Aligner erheblich an Bedeutung gewonnen<sup>71, 106</sup>.

Um den weitgefächerten Anforderungen von jung bis alt gerecht zu werden, steht für Behandlungen mit herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen ein weites Spektrum an Geräten zur Verfügung.

Grundsätzlich lassen sie sich in aktive und passive herausnehmbare Behandlungsapparaturen einteilen<sup>25</sup>. Mit den aktiven Geräten lassen sich bei Kindern und Jugendlichen Korrekturen skelettaler Dysgnathien, Zahnfehlstellungen oder Kombinationen aus beiden vornehmen<sup>62, 68</sup>. Solche Geräte umfassen aktive Drahtelemente, sowie Schrauben und Federn aus Edelstahl oder Titanlegierungen, mit denen sich Zähne bewegen und Kiefer umformen lassen<sup>62</sup>.

Bei der Verwendung von Metallen stellt die Korrosion mit braunen bis dunkelbraunen Verfärbungen eine Herausforderung dar<sup>44, 75</sup>. Unter den Edelstahllegierungen sind vor allem die Chrom-Nickel-Stähle korrosionslabil<sup>44</sup>. Schwachstellen sind verarbeitungsbedingte Mikroporositäten des Kunststoffes und Spalträume, die durch Spannungszustände im Material zwischen den einpolymerisierten Drahtabschnitten und dem Kunststoff entstehen<sup>44, 75</sup>. Begünstigt wird Korrosion durch bakterielle Plaqueakkumulation<sup>73</sup>. An Stellen, an denen sich Kokkenkolonien etabliert hatten, beobachteten Kappert et al. stärkere Korrosionserscheinungen<sup>73</sup>. Auch sinkende pH-Werte durch säurehaltige Getränke und auch der Einsatz von zum Teil aggressiven Reinigungslösungen außerhalb des Mundes begünstigen Korrosion<sup>75, 99</sup>.

Die bimaxillären funktionskieferorthopädischen Geräte bestehen vorwiegend aus Kunststoff und Halteelementen. Eine weitere Kategorie kieferorthopädischer Apparaturen sind die herausnehmbaren Retentionsgeräte, die das Ziel haben, das Behandlungsergebnis nach einer kieferorthopädischen oder orthodontischen Behandlung zu halten und Rezidive zu vermeiden<sup>70, 84</sup>. Die konstruktive Vielfalt herausnehmbarer Retentionsapparaturen ist beachtlich und reicht von Hawley-Geräten mit Halteelementen aus Metall bis zu Positionern aus den verschiedensten elastischen Materialien<sup>28, 54</sup>.

Materialtechnische Unterschiede sind das eine, Unterschiede in der Gestalt beziehungsweise in der Konstruktion der Geräte sind das andere. Während Plattenapparaturen teilweise den Gaumen bedecken und mit Stahl-Klammern an den Zähnen befestigt sind, bedecken die transparenten Schienen häufig nur zirkulär die Zahnkronen. Zahlreiche Autoren haben gezeigt, dass die Auswahl der Schienen-Materialien und des Gerätedesigns einen Einfluss auf die Größe und Richtung der Zahnbewegung oder Kieferumformung haben<sup>58, 59, 85</sup>.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei herausnehmbaren Geräten ist die Tragezeit. Für unterschiedliche herausnehmbare kieferorthopädische Geräte existieren verschiedene Tragezeitverordnungen, die bis 22 Stunden reichen können<sup>126</sup>.

In dieser Pilotstudie wurden zur Überprüfung der Reinigungseffizienz dreier kommerziell erhältlicher Reiniger ganztägig getragene simulierte herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen untersucht.

### **3.3 Mikrobielle Besiedlung und Reinigung während der Behandlung mit herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen**

Größter Vorteil aller herausnehmbaren Apparaturen gegenüber festsitzenden kieferorthopädischen Apparaturen ist ihre bessere Hygienefähigkeit. Durch die Möglichkeit des Entnehmens sind Durchführung und Kontrolle der Mundpflege einfacher und das Reinigen der kieferorthopädischen Apparatur und der Zähne ist bequemer und weniger eingeschränkt<sup>74</sup>. Demzufolge können so das Ausmaß der mikrobiellen Besiedlung und die Inzidenz oraler Erkrankungen niedrig gehalten werden<sup>10, 74, 96</sup>.

Von besonderem Interesse sind die Karies induzierenden und Parodontitis verursachenden Bakterien, als Hauptinitiatoren *Streptococcus mutans* und Laktobazillen sowie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, die gehäuft auf den Zahnoberflächen und im Speichel von mit festsitzenden Apparaturen behandelten Patienten vorkommen<sup>49, 121, 137</sup>.

Karkhanечи et al. konnten nachweisen, dass es während einer Behandlung mit herausnehmbaren Geräten zu einer geringeren Manifestation von Parodontopathien kommt als mit einer festsitzenden labialen Apparatur<sup>74</sup>. Diese Erkenntnisse sind vergleichbar mit denen von Miethke und Brauner, die den parodontalen Status von Patienten mit einer Invisalign®-Behandlung oder einer festsitzenden Lingualapparatur verglichen haben<sup>96</sup>. Besondere Aufmerksamkeit bezüglich des Mundhygienezustandes und der Auswahl der in Frage kommenden Apparatur ist Patienten mit einer Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalte oder Kindern mit geistiger oder körperlicher Behinderung zu schenken, die häufig eine unzureichende Mundhygiene aufweisen<sup>12, 91</sup>.

Obschon die Bakteriendichte bei den herausnehmbaren Apparaturen im Vergleich zur festen Apparatur niedriger ist, ist sie gegenüber Patienten ohne kieferorthopädische Apparatur deutlich erhöht<sup>10, 120</sup>.

Rego et al. stellten fest, dass die Prävalenz verschiedener Bakterien in der Mundhöhle abhängig ist von der eingesetzten Apparatur<sup>120</sup>. Während im Allgemeinen bei der Behandlung mit herausnehmbaren Apparaturen eine höhere Prävalenz von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* zu beobachten ist, findet sich eine höhere Prävalenz der Neisseriaceae an umklammerten Zähnen im Vergleich zu Zähnen ohne Klammern<sup>120</sup>.

Flores de Jacoby und Müller kamen wiederum zu dem Ergebnis, dass kein signifikanter Unterschied in der bakteriellen Besiedlung von Patienten mit und ohne Gerät besteht<sup>47, 48</sup>, so dass die Autoren kieferorthopädischen Geräten auch keinen negativen Einfluss auf das marginale Parodont beimessen. Allerdings bleibt in dieser Untersuchung unklar, welcher Reinigungszustand vorlag und welches Reinigungsverfahren für die getragenen kieferorthopädischen Apparate angewandt wurde.

Die postorthodontische Behandlung mit Retentionsschienen und deren Einfluss auf die orale Mikroflora wurden durch Türköz et al. untersucht<sup>137</sup>. Sie haben festgestellt, dass das Tragen der Schienen nach 60 Tagen eine Vermehrung der Mikroorganismen wie *Streptococcus mutans* und Laktobazillen auf den Zahnoberflächen begünstigt, wobei die Tragedauer der Retentionsschienen bei 22 Stunden lag.

Die meisten Untersuchungen beziehen sich auf die Überprüfung von bakteriellen Kontaminationen auf herausnehmbaren Geräten. Von partiellen und totalen Prothesen ist bekannt, dass sie bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem Candida-assoziierte Infektionen verursachen können. Bislang existieren jedoch nur wenige Studien, die die Pilzbesiedlung herausnehmbarer kieferorthopädischer Geräte untersucht haben<sup>6, 65</sup>.

Eine Übersichtsarbeit von Hibino et al. zum Effekt kieferorthopädischer Apparaturen auf *Candida* spp. in der Mundhöhle folgert, dass es durch das Tragen von Plattenapparaturen, vor allem bei gaumenbedeckenden Geräten bei immungeschwächten Patienten zu Candida-Infektionen kommen kann<sup>65</sup>.

Laut Arendorf und Addy ist die Besiedlung mit *Candida* spp. reversibel und auf die Dauer der Behandlung beschränkt<sup>6</sup>. Am häufigsten wurde bei kieferorthopädisch behandelten Patienten *Candida albicans* gefunden<sup>27, 65</sup>. Die größte Besiedlungsdichte wurde auf den oralen Flächen kieferorthopädischer Geräte gefunden, gefolgt von den Flächen, die den Gaumen bedecken<sup>6</sup>. Darüber hinaus scheint es eine direkte

Beziehung zwischen der Anwesenheit von *Candida* spp. auf herausnehmbaren Geräten und niedrigen Speichel-pH-Werten zu geben<sup>6, 65</sup>.

Die Literatur zeigt mehrheitlich, dass ein zusätzliches Gerät in der Mundhöhle, sei es eine gaumenbedeckende Plattenapparatur, die sich mit metallischen Halteelementen auf einzelnen Zähnen abstützt oder eine Zahn und Zahnfleisch bedeckende Schiene ohne Gaumenbedeckung, eine Veränderung der oralen Mikroflora herbeiführt<sup>10, 29, 80, 110, 135</sup>. Diese Veränderungen wiederum begünstigen, ohne adäquate Zahnpflege und Reinigung der Apparatur, die Entwicklung von kariösen Läsionen, Parodontopathien und *Candida*-Infektionen<sup>3, 14, 56</sup>.

Die nachfolgenden Textpassagen in diesem Kapitel 3.3 wurden bereits an anderer Stelle erörtert<sup>41</sup>.

Diedrich<sup>29</sup> konstatierte 1989, dass „die Hygiene herausnehmbarer kieferorthopädischer Geräte bislang wenig erforscht wurde“ und seither hat sich auf diesem Gebiet nicht viel verändert. Einige Autoren<sup>6, 65, 80</sup> ziehen Vergleiche zwischen kieferorthopädischen Plattenapparaturen und herausnehmbarem Zahnersatz, da sich deren künstliche Oberflächen materialtechnisch sowie hinsichtlich der mikrobiellen Kolonisation ähneln. Budtz-Jørgensen<sup>19</sup> sowie Paranhos et al.<sup>109</sup> nehmen eine Einteilung für kommerzielle Reinigungslösungen in alkalische Peroxide, alkalische Hypochlorite, Säuren, desinfizierende Agenzien und Enzyme vor<sup>19, 109</sup>. Plaque und Zahnstein werden durch alkalische Peroxide am effektivsten entfernt, wenn die zu reinigenden Apparaturen für mehrere Stunden oder über Nacht darin eingelegt werden<sup>19, 41</sup>. Eine Einwirkzeit von 15-30 Minuten führt dagegen zu keiner effektiven Entfernung von Plaque und Zahnstein<sup>11, 102</sup>.

Alkalische Hypochlorite wirken sowohl bakterizid als auch fungizid und können effektiv Verfärbungen entfernen<sup>19</sup>. Sie können zum Auflösen von Muzin und anderen organischen Substanzen eingesetzt werden, jedoch können sie keinen Zahnstein auflösen<sup>19</sup>. Nachteilig ist, dass sie eine Korrosion begünstigen können<sup>19</sup>.

Zitronensäurehaltige Reiniger wirken chemotherapeutisch<sup>40, 105</sup>. Sie sind in der Lage das Entstehen von Biofilmen zu verhindern, indem sie sie mit Kalziumionen maskieren und Kalziumionen-Brücken und die Biofilmmatrix zerstören<sup>40, 105</sup>.

Allerdings sind säurehaltige Reiniger nicht in der Lage vollständig Biofilme zu entfernen und einer Rekolonisierung nach 48 Stunden vorzubeugen<sup>40</sup>.

Außerdem entstehen bei einer längeren Anwendung von säurehaltigen Reinigern Korrosionserscheinungen an Drahtoberflächen aus Cr-Ni-Stählen<sup>44</sup>.



Engelhardt unterschied bei der Reinigung von Zahnersatz professionelle und persönliche Hygienemaßnahmen<sup>37</sup>. Andere Autoren differenzieren zwischen mechanischen und chemischen Methoden<sup>26, 109</sup>. Die mechanischen Methoden umfassen die Bürstenreinigung mit Wasser, Zahnpasta sowie eine Reinigung im Ultraschallbad ohne oder mit chemischen Zusätzen<sup>23, 109</sup>.

Chemische Methoden klassifiziert man bezüglich ihrer Zusammensetzung und ihres Wirkmechanismus zum Beispiel in Hypochlorite, Peroxide, Enzyme, Säuren und kommerzielle Reiniger für herausnehmbare Geräte<sup>109</sup>. Die kommerziellen Reiniger werden entweder in Form von Tabletten, Pulvern oder als Lösungen angeboten. Alle drei Formen können dank ihrer reinigungsaktiven Komponenten anhaftende Speisereste und mikrobielle Beläge von den herausnehmbaren kieferorthopädischen Geräten ablösen. Spangereiniger in Tablettenform haben zusätzlich den Vorteil, dass sie beim Auflösen in Wasser zu einer heftigen Gasentwicklung führen<sup>33, 117</sup> (Tabelle 1, S. 23).

Wenn Säuren wie Zitronensäure oder Apfelsäure mit Alkalien wie Natriumhydrogenkarbonat (Natron) reagieren, spaltet sich  $\text{CO}_2$  ab, das zu aufsteigenden Gasblasen führt und den sogenannten Sprudeleffekt von Reinigungstabletten hervorruft<sup>15, 138</sup> (Tabelle 1, S. 23). Das von Natriumperborat und Natriumperkarbonat abgespaltene  $\text{H}_2\text{O}_2$  spaltet wiederum Sauerstoff ab und bringt eine Desinfektion und Oxidation von Farbauflagerungen hervor<sup>15, 138</sup> (Tabelle 1, S. 23). Kaliummonopersulfate, Kaliumsulfate und Kaliumhydrogensulfate gehören ebenfalls zu den antimikrobiell wirkenden Substanzen und bilden zusammen das Carooat, ein Tripelsalz<sup>15, 138</sup>.

Füllstoffe (z. B. Natriumsulfat) werden den Reinigungstabletten beigemischt, um ihnen ausreichend Gewicht zu verleihen, damit sie bei der intensiven Gasentstehung am Gefäßboden verbleiben und somit der mechanische Abtrag von Speiseresten durch den Sprudeleffekt voll genutzt werden kann<sup>138</sup> (Tabelle 1, S. 23).

Der Zerfall von Peroxidverbindungen wie Natriumperborat und Kaliumpersulfat in wässriger Lösung setzt Sauerstoff frei und führt dazu, dass organische Verunreinigungen oxidiert werden und dadurch eine Desinfektion und Desodorierung erzielt werden<sup>114</sup> (Tabelle 1, S. 23). In alkalischem Milieu können fetthaltige Verunreinigungen verseift und emulgiert werden<sup>114</sup>. Waschaktive Substanzen wie Tenside verringern die Oberflächenspannung des Wassers und erhöhen die Benetzbarkeit<sup>114</sup> (Tabelle 1, S. 23).

Tenside sammeln sich in Grenzflächen an und reduzieren die Grenzflächenspannung<sup>38</sup> (Tabelle 1, S. 23). Durch das Bilden von Mizellen können sie unlösliche Substanzen lösen<sup>38</sup>. Tenside lassen sich nach Art und Ladung des hydrophilen Molekülanteils in vier Gruppen einteilen: anionische Tenside, kationische Tenside, nichtionische Tenside und amphotere Tenside<sup>38</sup>. Für die Reinigung von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen oder Prothesen werden vermehrt anionische Tenside eingesetzt<sup>38</sup>. Ihre funktionelle Gruppe enthält in der Regel eine Carboxylat-, Sulfat- oder Sulfonatgruppe<sup>38</sup>. Quartäre Ammoniumgruppen kennzeichnen kationische Tenside, während Polyetherketten nichtionische Tenside charakterisieren<sup>38</sup>. Abgesehen von der in der Praxis durchgeführten professionellen Reinigung mit einem Ultraschallgerät können alle anderen Methoden durch häusliche Anwendung vom Patienten selbst durchgeführt werden. Darunter stellt die Bürstenreinigung eine einfache, preisgünstige und effektive Methode zum Entfernen von Biofilmstrukturen dar, wie Studien mit Vollprothesen gezeigt haben<sup>26, 109</sup>.

Die Ergebnisse einer Befragungsstudie von Eichenauer et al. zeigen, dass die in Deutschland tätigen Kieferorthopäden für die Reinigung herausnehmbarer kieferorthopädischer Apparaturen am häufigsten (90 %) eine Kombination aus Zahnbürste und Zahnpasta empfehlen<sup>36</sup>. Aufgrund der Klammern, Schrauben, Mikroporositäten und Randspalten entstehen viele hygienekritische Areale, die einer Zahnbürste nicht zugänglich sind<sup>29</sup>. Zudem kann es sein, dass bei einer Bürstenreinigung mit Zahnpasten ungenügend gereinigt wird<sup>29</sup>, sofern die Patienten nur eingeschränkt geschickt sind.

Zum anderen soll die abrasive Wirkung der Zahnpasten zu Mikrorauhigkeit führen, deren Folge eine Erhöhung der Keimbesiedlung ist<sup>55, 92</sup>. Um diese Auswirkungen zu minimieren, ist die Verwendung von weniger abrasiven Zahnpasten mit einem RDA-Wert („radioactive dentin abrasion“) von < 250 hilfreich<sup>64</sup>. Hinzu kommt, dass die Abrasivität unter anderem auch abhängig ist vom Druck der Zahnbürste. Gonser et al. empfehlen den Verzicht auf Zahnpasta und die Verwendung von Wasser oder Reinigungsschaum<sup>55</sup>. Hingegen kann laut Diedrich eine weitreichende Plaquebeseitigung und somit eine optimale Reinigung nur durch die Anwendung von selbsttätigen Reinigungstabletten in Kombination mit Ultraschallanwendung erzielt werden<sup>29</sup>. Trotz dieser Feststellung empfehlen nur etwa 37 % der in Deutschland tätigen Fachzahnärzte für Kieferorthopädie eine Reinigung mit Reinigungstabletten oder

Reinigungspulver und 31 % empfehlen eine Reinigung in mit Wasser verdünnten Essig- oder Zitronenessenzen<sup>36</sup>.

### 3.4 Biofilm, Plaque und Zahnstein

Bei gutem Gesundheitszustand sind in unserer Mundhöhle über 400 unterschiedliche Bakterien-Arten angesiedelt. Die Keimzahl in der Mundhöhle beträgt  $10^8$ - $10^9$  KbE/ml Speichel und  $10^{10}$ - $10^{11}$  KbE/cm<sup>2</sup> Zahnoberfläche<sup>124</sup>. Zähne, Schleimhaut und Speisereste stellen eine feste Phase und Speichel eine flüssige Phase dar. Der Grenzbereich beider Phasen dient den Mikroorganismen zum Andocken<sup>124</sup>. Das mikrobielle Biotop ist unbedenklich, für unsere Mundhöhlen-Flora ist es sogar unentbehrlich. Bei geeigneten Voraussetzungen – mikrobiell verwertbare Nährstoffe, Feuchtigkeit und Grenzflächen – können sich Bakterien in kürzester Zeit zu Lebensgemeinschaften zusammenschließen und die Grundlage für die Entstehung von dentaler Plaque bilden.

Erstmals beobachtete der Holländer Antoni van Leeuwenhoek im 17. Jahrhundert, dass die dentale Plaquemasse aus mikroskopischen "Tierchen", den so genannten Bakterien besteht<sup>131</sup>. In der Mundhöhle stellt die dentale Plaque einen medizinisch wichtigen Biofilm dar<sup>90</sup>. Dieser Biofilm ist der wichtigste ätiologische Faktor für Karies, Gingivitis und Parodontitis, die die häufigsten Infektionskrankheiten der Menschen in der zivilisierten Welt darstellen<sup>119</sup>.

Innerhalb weniger Minuten nach einer Zahnreinigung kommt es auf den Zahnoberflächen zur Adsorption von Proteinen, Glykoproteinen, Kohlenhydraten sowie Lipiden<sup>60, 61</sup>. Es bildet sich ein erworbenes Schmelzoberhäutchen, auch Pellikel genannt<sup>89</sup>. Die chemische Zusammensetzung des Pellikels variiert in Abhängigkeit von der intraoralen Lokalisation und beeinflusst das Gefüge der sich anlagernden Mikroorganismen<sup>89</sup>. Durch spontane Adhäsion von Speichelproteinen entstehen in der Mundhöhle Pellikel mit einer Dicke von 80 nm bis zu 2 µm, abhängig von der Pellikelbildungszeit und der Lokalisation der Zahnflächen<sup>60</sup>.

Pellikel haben verschiedene Effekte. Neben remineralisierenden und protektiven Mechanismen, die die Zahnhartsubstanz gegenüber Säuren schützen, begünstigen sie durch Rezeptorproteine allerdings auch die bakterielle Adhäsion und somit die Ausbildung eines bakteriellen Biofilms<sup>61, 124</sup>.

Biofilme sind ubiquitär vorkommende, komplexe dreidimensionale Strukturen, die von einer selbst produzierten schleimartigen Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), hauptsächlich Polysaccharide, Proteine, Lipide und Nukleinsäuren, umhüllt werden<sup>45, 46</sup>. Darin eingebettet sind Mikroorganismen, wie zum Beispiel Bakterien, aber auch Pilze<sup>20</sup> und Algen<sup>122</sup> können sich darin befinden. Die extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) machen 50 bis 90 % des gesamten organischen Kohlenstoffs in Biofilmen aus<sup>32</sup>. Ihre schleimartige Matrix ermöglicht den Mikroorganismen, durch Adhäsion, Grenzflächen zweier verschiedener Phasen (fest, flüssig) zu besiedeln<sup>32</sup>.

Eine weitere Akkumulation von vorwiegend grampositiven fakultativ anaeroben Kokken (der Gattung Streptococcus) und Stäbchen (der Gattung Actinomyces) führt innerhalb von zwei Stunden nach einer Zahnreinigung zur Proliferation und Ausbildung von Mikrokolonien auf dem mit Pellicel überzogenen Schmelz<sup>81</sup>. Der daraus resultierende strukturierte Zahnbelag auf der Zahnoberfläche wird als dentale Plaque bezeichnet. Klinisch ist diese komplexe Bakterienaggregation erst ab einer bestimmten Menge als weiche, dicht verfilzte, weißlich-gelbe und zum Teil klebrige Masse sichtbar<sup>124</sup>. Die organische Matrix macht 20-40 % des gesamten Plaquevolumens aus und enthält als wesentlichen Bestandteil extrazelluläre Polysaccharide<sup>124</sup>. In der initialen Phase können sich die Bakterien sehr schnell vermehren, bereits nach ein bis drei Stunden haben sie sich verdoppelt<sup>89</sup>. Die in der Mundhöhle stattfindende Selbstreinigung der Zähne schafft es nicht, durch ständigen Speichelfluss, Zungen- und Wangenbewegung die Plaque zu eliminieren<sup>83</sup>. Ein Verzicht auf mechanische Reinigung oder inadäquate Mundhygiene lässt die Plaque weiter reifen, bis mineralisierte Plaque (Zahnstein) entsteht.

Zahnstein besteht aus intra- und extrazellulären Ablagerungen, wie zum Beispiel abgestorbene Bakterien, Proteine, Kohlenhydrate, Apatite und Brushit<sup>89</sup>, die durch eine Schicht nicht kalzifizierter Plaque bedeckt werden. Klinisch kann Zahnstein nach mehreren Wochen bis Monaten weißlich-gelb bis dunkelgelb in Erscheinung treten und kann nur durch professionelle mechanische Entfernung beseitigt werden<sup>124</sup>. Zahnstein kommt bei mehr als 80 % der Erwachsenen vor und zeigt eine Zunahme mit steigendem Alter<sup>89</sup>.

Zahlreiche Studien belegen, dass Biofilme nicht nur auf natürlichen dentalen Strukturen entstehen, sondern auch auf künstlichen zahnärztlichen Materialien, die in die Mundhöhle eingegliedert werden<sup>108, 110, 125, 142</sup>.

## 3.5 Proteine

Die chemischen Merkmale sowie das Vorkommen von Proteinen spielen für das Verständnis des Reinigungsprozesses eine große Rolle.

Die Bezeichnung „Protein“ stammt aus dem Jahre 1838<sup>72, 133</sup> und bedeutet aus dem Griechischen übersetzt: Erster.

Heute weiß man, dass Proteine zu den wichtigsten hochmolekularen Verbindungen einer Zelle gehören und das Fundament des Lebens bilden. Sie sind Biopolymere, die aus Aminosäuren zusammengesetzt und über Peptidbindungen, genauer gesagt über Säureamid-Bindungen, verknüpft sind<sup>129</sup>. Obwohl in den Organismen über 250 verschiedene Aminosäuren vorkommen, bestehen die Proteine von den Bakterien bis zum Menschen größtenteils aus nur einundzwanzig Aminosäuren. Allerdings ist die Zahl der Proteine bei einem Säugetier wesentlich größer als bei einem Bakterium<sup>1</sup>.

Von den einundzwanzig proteinogenen Aminosäuren liegen 20 als Standardaminosäuren vor, deren Abfolge über Gene kodiert ist. Die 21. Aminosäure ist das Selenozystein, das erst durch eine Recodierung des genetischen Materials in Proteine eingebaut wird. Acht der einundzwanzig Aminosäuren sind für den menschlichen Organismus essenziell und müssen mit der Nahrung aufgenommen werden. Im Gegensatz zu Säugetieren können Pflanzen und Mikroorganismen 20 der Aminosäuren selbst synthetisieren.

Das Grundgerüst ist bei allen proteinogenen Aminosäuren, mit Ausnahme von Prolin, identisch. Es besteht aus einem zentralen Kohlenstoffatom, einer Aminogruppe am zentralen Kohlenstoffatom, einer Carboxylgruppe und einem Wasserstoffatom. Die Aminosäuren unterscheiden sich nur in ihrer Seitenkette, dem Aminosäurerest R. Ab einer Kettenlänge von 100 Aminosäure-Resten werden die Makromoleküle als Proteine (Polypeptide) bezeichnet, deren Größe variieren und mehr als 4600 Aminosäuren umfassen kann.

Grundsätzlich wird die Anordnung der Proteine durch vier verschiedene Strukturmerkmale beschrieben. Als Primärstruktur wird die Sequenz der Aminosäuren innerhalb einer Kette bezeichnet<sup>115</sup>. Die Sekundärstruktur definiert die räumliche Anordnung einer Polypeptidkette, wobei hier zwischen der häufiger vorkommenden  $\alpha$ -Helix und der  $\beta$ -Faltblattstruktur differenziert wird<sup>115</sup>. Stabilisiert werden die Sekundärstrukturen durch Wasserstoffbrückenbindungen. Bei einer Verwindung der Sekundärstruktur spricht man von der Tertiärstruktur, die die dreidimensionale Struktur

des gesamten Proteins beschreibt<sup>115</sup>. An der Ausbildung und Stabilisierung der Tertiärstruktur sind Disulfidbrücken, Ionenbeziehungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Van-der-Waals-Kräfte sowie hydrophobe Wechselwirkungen beteiligt. Den Zusammenschluss mehrerer Tertiärstrukturen zu einer größeren Funktionseinheit, wie zum Beispiel zum Hämoglobin oder zu Enzymkomplexen, bezeichnet man als Quartärstruktur<sup>115</sup>.

Abhängig von Struktur, Größe und Vorkommen erfüllen die Proteine verschiedene Funktionen. Zu den wichtigsten Aufgaben zählen die Strukturbildung und -erhaltung, der Transport, Schutz und die Abwehr, Steuerung sowie die Regelung von Hormonen, Katalyse, Regulation der Muskelzellen und Speicherung<sup>77</sup>. Somit spielen Proteine nicht nur eine unentbehrliche Rolle für das menschliche Leben, sondern bilden ebenso die Grundlage für die chemische Zusammensetzung von Bakterien, Pilzen und Viren<sup>67</sup>. Viren bestehen sogar hauptsächlich aus Proteinen, obwohl sie selbst keine Proteinsynthese betreiben<sup>67</sup>.

Diese Mikroorganismen mit ihren unterschiedlichen Proteinbestandteilen sind Teil des physiologischen Mundhöhlenmilieus und somit primär apathogen<sup>67</sup>. Jedoch können zelluläre und humorale Immundefekte, altersabhängige Veränderungen der Mundhöhlenflora, eine schlechte Mundhygiene<sup>107</sup>, hormonelle und medikamentöse Veränderungen sowie Fehlernährung das Gleichgewicht der oralen Flora zugunsten pathogener Mikroorganismen verschieben<sup>89</sup> und somit das Entstehen einer oralen Candidiasis oder kariöser Prozesse fördern.

Proteine zeichnen sich durch unterschiedliche Löslichkeiten aus, die sowohl von der Anordnung der Aminosäuren als auch von der Oberflächenladung des Proteins abhängen. Um Proteine, die Teil eines Mikroorganismus sind, der einer Oberfläche anhaftet, detektieren zu können, müssen diese zunächst durch Elution vom festen Körper abgelöst werden. Dies geschieht zum Beispiel mithilfe eines anionischen Detergens SDS (Sodiumdodecylsulfat), das die dreidimensionale Struktur der Proteine zerstört und ihnen zusätzlich eine negative Ladung verleiht. Zwischen Proteingröße und Anzahl der an die Proteine gebundenen negativen Ladungen besteht ein Proportionalitätsverhältnis.

### 3.6 Proteinnachweismethoden

Die Proteinmenge auf einer verschmutzten Probe aus der Mundhöhle kann zur Ermittlung der Reinigungsleistung herangezogen werden, indem die Reduktion der Proteinmenge durch Reinigung bestimmt wird. Zahlreiche Proteinnachweismethoden stehen dafür zur Auswahl<sup>53</sup>, die sich hinsichtlich der Empfindlichkeit und Störanfälligkeit und des Aufwandes bei der Durchführung der Methode unterscheiden. Eine der einfachsten Methoden stellt die visuelle Inspektion dar, die als qualitative Analyse nur eingeschränkt eingesetzt werden kann. Zum Bestimmen der Reinigungsleistung dienen proteinanalytische Methoden, mit denen auch geringe Proteinmengen quantifizierbar sind. In der DIN EN ISO 15883 sind zur Prüfung der Reinigungsleistung standardisierte quantitativ, semi-quantitativ und qualitativ auswertbare Methoden festgelegt, zu denen unter anderem der Ninhydrin-Test, die Biuretmethode und die OPA-Methode zählen<sup>93</sup>.

Die qualitative Ninhydrin-Methode ist eine Färbemethode für den Nachweis von Aminosäuren und Proteinen<sup>42, 50</sup>. Sie ist eine relativ empfindliche und aufwendige Methode, mit der noch sehr geringe Proteinkonzentrationen bestimmt werden können. Ihre Nachweisgrenze wird in der Literatur mit 0,001 - 0,1 µg/ml angegeben<sup>103</sup>. Der Ninhydrin-Test findet häufig Verwendung zur chromatographischen oder elektrophoretischen Trennung. Dabei reagieren die Aminosäuren mit Ninhydrin, dem Hydrat einer Triketoverbindung<sup>50</sup>. Unter Wasserstoffabspaltung und nach Decarboxylierung entsteht eine purpurrote Verbindung, auch Ruhemanns Purpur genannt<sup>50</sup>. Sekundäre Aminosäuren wie Prolin oder Hydroxyprolin reagieren unter Entstehung eines gelben Farbkomplexes<sup>50, 103</sup>.

Diese Methode kann zum Bestimmen der Gesamt-Proteinmenge verwendet werden, sofern das Hydrolysat keine störenden Verbindungen wie Ammoniak, freie Aminosäuren, Amine, Nukleinsäuren, Kohlenhydrate oder Zysteine enthält<sup>50</sup>. Der Ninhydrin-Test ist zum Kontrollieren der Reinigung von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen ungeeignet, da die Geräte nicht nur mit Proteinen aus dem Mund verunreinigt sein können, sondern auch Kohlenhydratreste enthalten.

Die modifizierte Biuretmethode stellt eine halbquantitative Nachweismethode für Proteine dar, mit der Proteine kolorimetrisch nachgewiesen werden können<sup>42</sup>. Durch eine Modifikation entsteht eine gute Lagerstabilität der Reagenzien und Störeinflüsse sind dadurch beseitigt<sup>42</sup>. Verbindungen mit mindestens zwei Peptidbindungen reagieren in alkalischer Lösung mit zweiwertigen Kupferionen zu einer intensiven purpurroten

Farbe<sup>42</sup>. Die Intensität der Färbung ist proportional zur vorhandenen Proteinmenge. Wenn kein Protein vorhanden ist, verändert sich die Farbe der Bicinchoninsäure von blau zu apfelgrün<sup>30</sup>. Mithilfe dieser Methode können Proteinmengen von 1 bis 10 µg pro Milliliter nachgewiesen werden<sup>86</sup>.

Die modifizierte Ortho-Phthaldialdehyd-Methode, auch kurz OPA-Methode genannt, stellt unter den genannten Proteinnachweismethoden die gängigste und geeignetste Standardmethode dar<sup>52</sup>. Gründe dafür sind die vergleichsweise einfache Durchführung und die hohe Präzision, weshalb sie sich als ein anerkanntes Standardverfahren zur Überprüfung der Reinigungsleistung anhand der Bestimmung des proteinogenen Verunreinigungsgrades erwiesen hat<sup>52</sup>.

Als Messprinzip liegt der modifizierten OPA-Methode die quantitative Detektion von freien  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -Aminogruppen in Aminosäuren, Peptiden und Proteinen zugrunde<sup>95</sup>. Ortho-Phthaldialdehyd dient dabei als spezifisches Reagenz, das mit der zu erfassenden Aminogruppe in Gegenwart einer Thiolkomponente zu einem fluoreszierenden Endprodukt führt<sup>95</sup>. Dieses kann spektralphotometrisch bei 340 nm detektiert und durch Messung der Extinktion quantifiziert werden<sup>95</sup>. Extinktion bedeutet Auslöschung. Sie gibt somit den Grad der Abschwächung transmittierten Lichts durch ein Medium an<sup>95</sup>.

Die untere Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,003 und die obere Nachweisgrenze bei 1,000.

Durch den Ersatz des in der Originalmethode eingesetzten Thiolreagenzes Mercaptoethanol durch 2-Mercaptoethansulfonsäure als Natriumsalz wird das Extinktionsverhalten der Lösung wesentlich stabilisiert, weshalb heute fast ausschließlich die modifizierte OPA-Methode angewendet wird<sup>53, 94, 95, 111</sup>.



## 4 Aufgabenstellung

Nicht nur kieferorthopädische Behandlungen mit festsitzenden Apparaturen, sondern auch Therapien mit herausnehmbaren Geräten bergen Risiken und rufen unerwünschte Nebenwirkungen, wie zum Beispiel Demineralisationen<sup>87, 134</sup>, Karies<sup>10, 14, 135, 139</sup> und Parodontopathien<sup>134-136</sup> hervor. Obwohl eine erhöhte Keimbesiedlung während der Behandlung mit herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen vorliegt<sup>10</sup>, konnte bislang kein erhöhtes Kariesrisiko festgestellt werden<sup>14</sup>. Während der Behandlung mit einer herausnehmbaren Apparatur ist die Mundhygiene aufgrund einer Zunahme der Plaqueretentionsstellen (auf der Apparatur) erschwert, so dass die Reinigung häufig mit geeigneten Hilfsmitteln erweitert werden muss. Dabei spielt nicht nur die Mundhygiene eine wichtige Rolle, sondern auch die Hygiene und Sauberhaltung der herausnehmbaren Geräte.

Nach wie vor eignen sich zum Reinigen herausnehmbarer kieferorthopädischer Apparaturen, neben der mechanischen Reinigung mit einer Zahnbürste, chemische Reinigungsmittel. Auch wenn der Literatur zufolge innerhalb Deutschlands am häufigsten die mechanische Reinigung mit einer Zahnbürste empfohlen wird, schneiden die selbsttätigen Reinigungslösungen zum Säubern von Spangen aus hygienischer Sicht am besten ab<sup>29, 36</sup>. 2011 stellten Eichenauer et al. fest, dass 37,1 % Kieferorthopäden chemische Reiniger empfehlen, darunter am häufigsten die in der vorliegenden Studie getestete Reinigungstablette Kukis<sup>®</sup>. Bislang existieren wenige Daten zur Reinigungseffizienz von selbsttätigen Reinigungstabletten.

Im Rahmen der vorliegenden In-vivo-Pilotstudie sollte die Reinigungswirkung dreier im Handel angebotener Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen sowohl untereinander als auch in Relation zu Wasser vergleichend unter standardisierten Bedingungen untersucht werden. Auf Drähte oder Schrauben wurde verzichtet. Zur besseren Vergleichbarkeit unter den Reinigern wurden nur Reinigungstabletten untersucht, die allerdings laut Herstellerangaben unterschiedliche Einwirkzeiten hatten. fittydent super<sup>®</sup> sollte 30 Minuten einwirken und wies somit die längste Einwirkzeit auf, gefolgt von NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> mit einer Einwirkzeit von 15 Minuten und Kukis<sup>®</sup> von 10 Minuten.

## 4.1 Hypothesen

Haupthypothese:

Die Reinigungstabletten reinigen besser als die Kontrollgruppe Wasser.

Sekundärhypothesen:

1. Es gibt keinen Unterschied zwischen den Reinigern.
2. Die angewandte Methode kann als probates Verfahren zur Evaluation der Reinigungseffizienz von Prüfkörpern eingesetzt werden.

## 5 Materialien

### 5.1 Untersuchte Materialien

Es wurden drei kommerziell erhältliche selbsttätige Reinigungstabletten für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen in dieser Pilotstudie verglichen (Abbildung 1, S. 24).

Bei NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> handelt es sich um Reinigungstabletten des Herstellers bonyf AG (Vaduz, Liechtenstein). Im Weiteren wird dieses Produkt als Ortho&Junior<sup>™</sup> bezeichnet. Laut Herstellerangaben haben die Reinigungstabletten bei einer Einwirkzeit von 15 Minuten eine desinfizierende Wirkung auf herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen mit bakterizidem und fungizidem Effekt. Dieses Produkt ist zusammengesetzt aus: citric acid, sodium lauryl sulfate, lactose monohydrate, sodium bicarbonate, sodium chloride, potassium hydrogen monopersulfate, peppermint flavour, PVP (Tabelle 1).

Die Reinigungstabletten Kukis<sup>®</sup> des Herstellers Reckitt Benckiser (Deutschland GmbH) versprechen das Entfernen von Bakterien bei einer Einwirkzeit von 10 Minuten. Sie bestehen aus: sodium bicarbonate, sodium sulfate, citric acid, malic acid, potassium caroate, sodium carbonate, sodium carbonate peroxide, PEG 150, aroma, sulfamic acid, tetraacetythylenediamine, PEG 90, sodium dodecylbenzenesulfonate, sodium chloride, hexamethylenetetramine, cetylpyridinium chloride, CI 42090 (Tabelle 1).

Die Reinigungstabletten fittydent super<sup>®</sup> werden von ihrem Hersteller Fittydent International GmbH (Pinkafeld, Österreich) zur Bakterienbeseitigung propagiert. Mit einer Einwirkzeit von 30 Minuten erfordern sie die längste Einwirkzeit von den drei zu untersuchten Reinigungstabletten. Sie bestehen aus: sodium perborate, sodium bicarbonate, potassium monopersulphate, trisodium phosphate, PEG-240, sulfamic acid, PVP, TAED, silica, sodium methyl oleoyl taurate, cellulose-lactose, colour C.I. 42090, aroma (Tabelle 1).

Inhaltsstoffe	fittydent super <sup>®</sup>	Kukis <sup>®</sup>	Ortho& Junior <sup>™</sup>	Kategorie / Effekt
Natriumbicarbonat	✓	✓	✓	Brausemittel, Schleifmittel
Amidosulfonsäure	✓	✓		Entkalkungsmittel
Colour C.I. 42090	✓	✓		Brilliant Blue FCF: Lebensmittelfarbstoff
Aroma	✓	✓		Duftstoff
Tetraacetylenhydriamin (TAED)	✓	✓		Aktivator für Bleichmittel
Povidone	✓		✓	Bindemittel
Natriumperborat	✓			Aktiver Sauerstoff, Bleichen
Natriummethyleylelaurat	✓			Reinigungsmittel, Antistatikum
Kaliummonopersulfat	✓			Aktiver Sauerstoff, antimikrobiell
PEG-240	✓			Feuchthaltemittel
Trinatriumphosphat	✓			Emulgator
Cellulose-Lactose	✓			inaktive Füllstoffe
Antischaummittel	✓			Antifoaming agent
Zitronensäure		✓	✓	Auflösung von CO <sub>2</sub> , um den pH- Wert einzustellen
Natriumchlorid		✓	✓	Wasserenthärtung
Apfelsäure		✓		Auflösung von CO <sub>2</sub> , um den pH- Wert einzustellen
Natriumcarbonat		✓		Entkalkungsmittel
Natriumcarbonatperoxid		✓		Entkalkungsmittel, Bleichen
Natriumdodecylbenzolsulfonat		✓		Reinigungsmittel
Natriumsulfat		✓		Füllstoff
Kalium Caraoat		✓		Aktiver Sauerstoff, antimikrobiell
PEG 150		✓		Lösungsmittel
PEG 90		✓		Lösungsmittel
Hexamethylenetetramin		✓		Bindemittel
Cetylpyridiniumchlorid		✓		Antiseptisch, Plaqueinhibitor
Natriumlaurylsulfat			✓	Reinigungsmittel, Schmiermittel
Kaliumhydrogenmonopersulfat			✓	Aktiver Sauerstoff, antimikrobiell
Lactose-Monohydrat			✓	Feuchthaltemittel
Pfefferminzgeschmack			✓	Geschmacksstoff

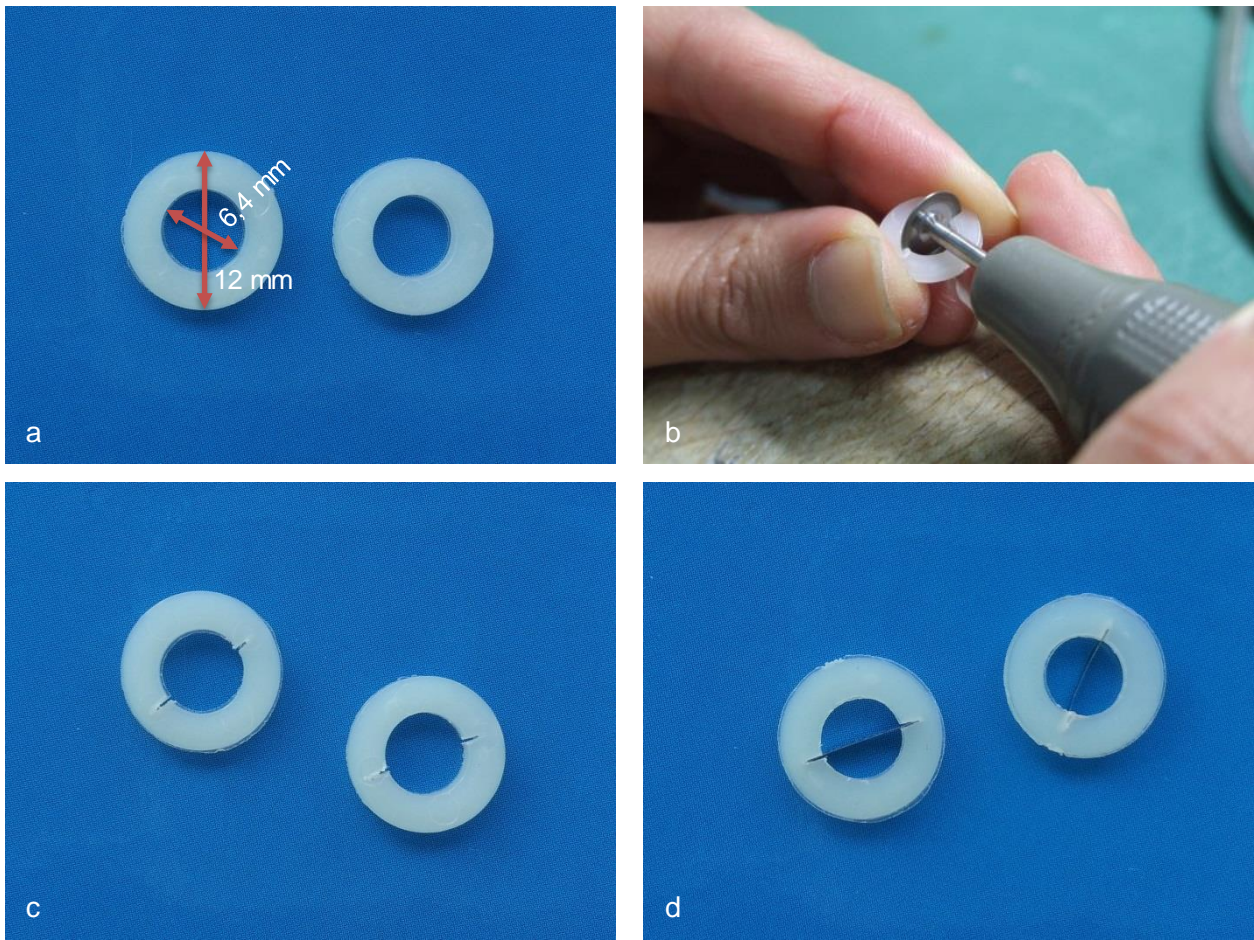
Tabelle 1: Übersicht der Inhaltsstoffe der untersuchten Reiniger und deren jeweilige Wirkung bzw. Kategorie.



Abbildung 1: Die drei im Rahmen der vorliegenden Studie untersuchten kommerziell erhältlichen selbsttätigen Reinigungstabletten. Von links: Kukis<sup>®</sup>, NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> und fittydent super<sup>®</sup>.

## 5.2 Prüfkörperherstellung

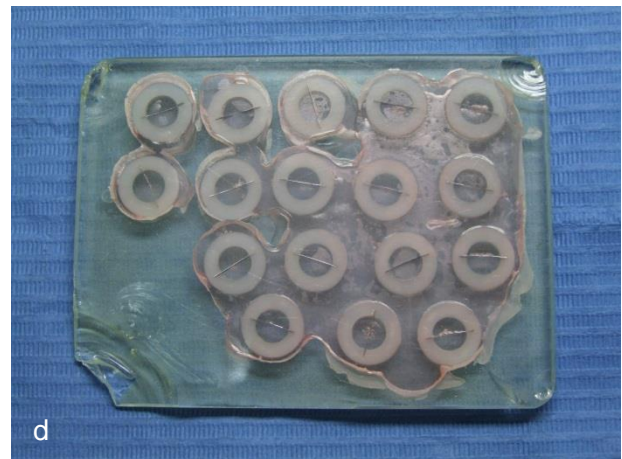
Die Abbildungen 2a bis d zeigen Ringe aus Polyamid mit 6,4 mm Innendurchmesser, 1,5 mm Dicke und 12 mm Außendurchmesser (Lux-Tools, Wermelskirchen/Deutschland), die zur Vorbereitung und Befestigung von PMMA-Kunststoff-Plättchen aus Orthocryl<sup>®</sup> (rosa-transparentes Monomer plus klares Polymethylmethacrylat-Pulver, Hersteller Dentaurum J.P. Winkelstroeter KG, Ispringen/Deutschland) dienen. Aus dem gleichen PMMA-Material werden die meisten herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen hergestellt<sup>39, 123</sup>. Die Innenfläche jeder Kunststoffhalterung ist leicht konisch. Jede Kunststoffhalterung wurde im Innenring mittig unter Verwendung einer Miniflex-Diamantscheibe (Ø 8 mm; Dicke 0,15 mm) mit zwei gegenüberliegenden Retentionsrillen zur mechanischen Verankerung eines passend geschnittenen Matrizenbandes versehen (Hawe Tofflemire Matrices, Hersteller KerrHawe SA in Bioggio/Schweiz) (Abbildungen 2b und c). Das Matrizenband diente als Sollbruchstelle zum späteren Halbieren der Kunststoffhalterung und wurde in Höhe (1,5 mm), Dicke (0,05 mm) und Länge (8 mm) dieser Kunststoffhalterung angepasst (Abbildungen 2d).



Abbildungen 2a-d: a) Ringe aus Polyamid (Lux-Tools, Wermelskirchen/Deutschland) mit einem Außendurchmesser von 12 mm und einem Innendurchmesser von 6,4 mm; b) Einschleifen von Retentionsrillen in die Kunststoffringe mithilfe einer Miniflex-Diamantscheibe; c) in die Kunststoffhalterung eingebrachte Retentionsrillen; d) zum Befüllen mit PMMA-Kunststoff vorbereitete Kunststoffhalterungen samt passend zugeschnittener und eingesetzter Matrizenbänder.

Für jeden Probanden wurden vier Kunststoffplättchen mit je zwei Prüfkörpern hergestellt. Dazu wurde zunächst das Orthocryl<sup>®</sup>-Polymerpulver mit der Orthocryl<sup>®</sup>-Monomerflüssigkeit nach der Anteigmethode zu einem gleichmäßigen homogenen Kunststoffgemisch durchmengt. Die Kunststoffhalterungen wurden zuerst mit der Monomerflüssigkeit benetzt (Abbildungen 3a) und anschließend mit dem vorbereiteten PMMA-Kunststoff gefüllt und zwischen zwei Glasplatten gedrückt (Abbildungen 3b und c). Auf diese Weise konnte überschüssiger Kunststoff seitlich herausquellen und es entstanden glatte Oberflächen. Wie in Abbildungen 3c dargestellt, fixierten Gummibänder die Glasplatten, während sie in einen Drucktopf gegeben wurden, um nach Herstellerangaben bei 2,2 bar und 40 °C Wassertemperatur für 30 Minuten im Drucktopf zu polymerisieren.

Nach der Polymerisation lagen die Plättchen mit Kunststoffrahmen und Kunststoffüberschüssen vor (Abbildungen 3d). Durch Herausbrechen und unter Zuhilfenahme eines Skalpells wurden die Überschüsse um und auf den Kunststoffringen entfernt. Anschließend wurden die Matrizen entfernt und die Prüfkörper zum Reduzieren des Restmonomergehaltes 24 Stunden in Wasser gelagert.



Abbildungen 3a-d: a) Benetzen der Kunststoffringe mit Monomerflüssigkeit; b) mit überschüssigem PMMA-Kunststoff gefüllte Kunststoffhalterungen; c) zwischen zwei Glasplatten mit Gummibändern fixierte PMMA-gefüllte Kunststoffringe; d) die nach Polymerisation im Drucktopf erhaltenen PMMA-Plättchen mit Kunststoffüberschuss.

Abbildung 4 zeigt die Bestandteile der PMMA-Prüfkörper.

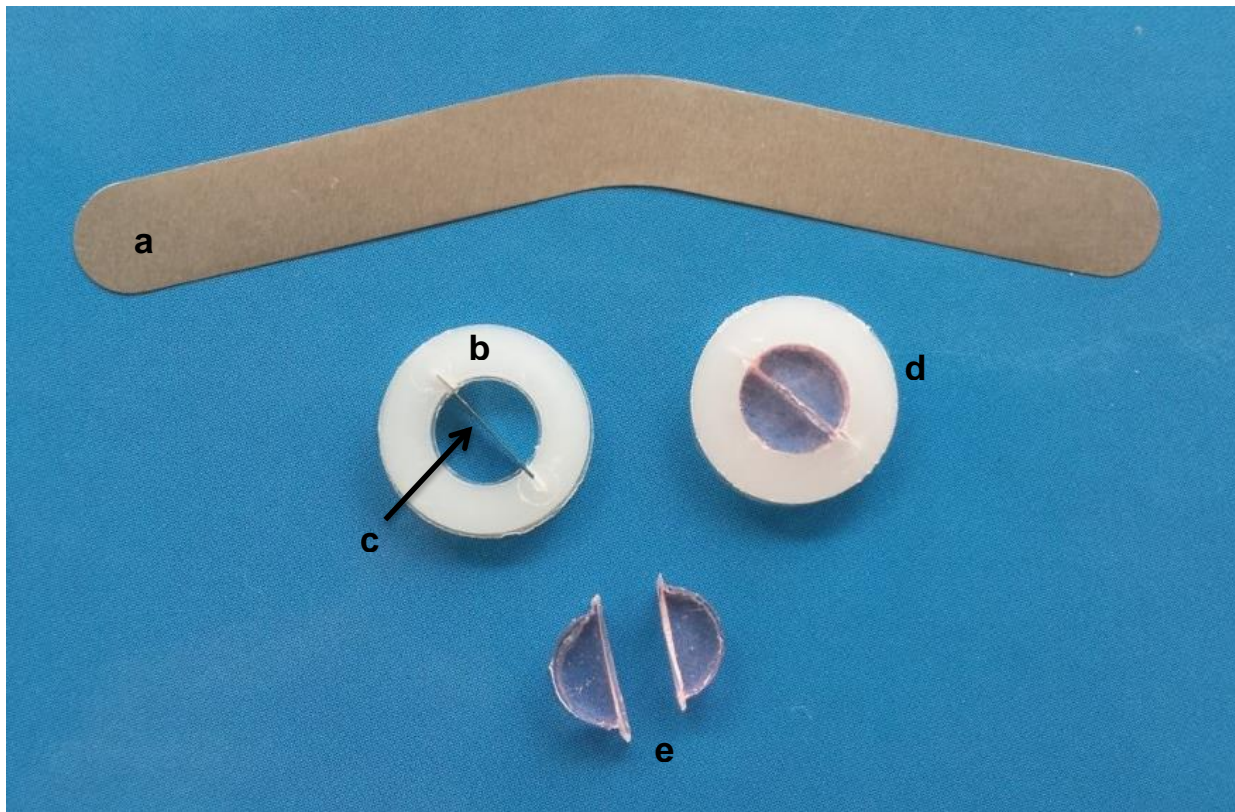
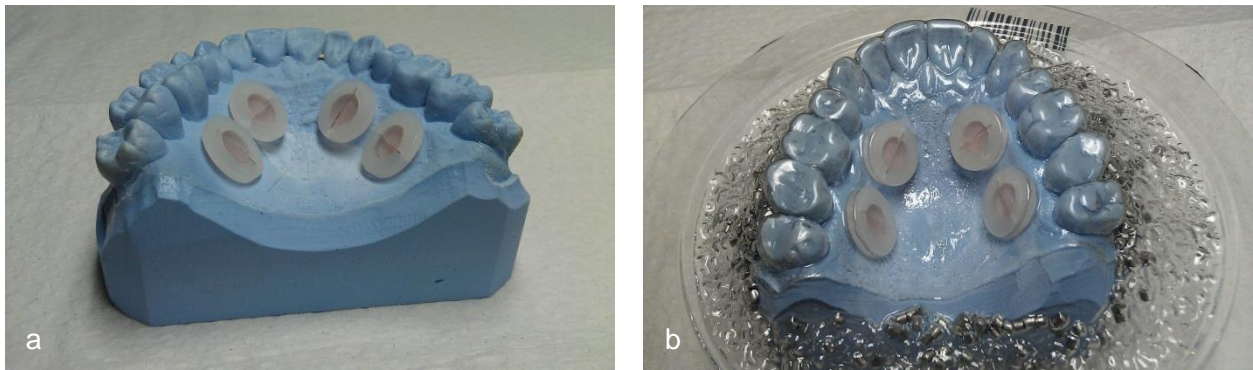


Abbildung 4: Materialien zur Herstellung der Kunststoffplättchen. a) Matrizenband (Hawe Tofflemire Matrices, Hersteller KerrHawe SA in Bioggio/Schweiz); b) Kunststoffringe aus Polyamid mit 6,4 mm Innendurchmesser; c) ein in Höhe, Breite und Länge passend zum Kunststoffring geschnittenes Matrizenband; d) PMMA-Plättchen mit zwei in die Kunststoffhalterung geformten Prüfkörpern; e) zwei rosafarbene Prüfkörper aus PMMA-Kunststoff für die Untersuchung der Reiniger.

### 5.3 Biofilmbildung auf den Prüfkörpern in vivo

Vom Oberkiefer freiwilliger Probanden wurde jeweils eine Alginatabformung genommen und ein Modell aus blauem Hartgips des Typs III hergestellt. Anschließend wurden die zuvor beschriebenen vorbereiteten Kunststoffplättchen auf das Oberkiefermodell im Bereich des Gaumens platziert. Sie wurden in einem Abstand von 2 mm bis 6 mm vom Gingivalsaum der 1. Molaren und Prämolaren symmetrisch positioniert (Abbildungen 5a). Unter die Kunststoffplättchen wurde Finobloc (DT&SHOP GmbH, Bad Bocklet/Deutschland), ein dauerplastisches transparentes Silikonmaterial, zum Ausblocken gelegt, so dass die Plättchen mit einem minimalen Abstand dem Modell auflagen und von der Tiefziehschiene gefasst werden konnten.





Abbildungen 5a und b: a) Gipsmodell mit vier symmetrisch positionierten Plättchen. Als Abstandhalter der Plättchen zum Modell diente Ausblocksilikon; b) unausgearbeitete tiefgezogene Schiene auf dem Arbeitsmodell.

Im Anschluss daran wurde eine thermoplastische, hartelastische und transparente Duran<sup>®</sup>-Folie (Scheu-Dental GmbH, Iserlohn/Deutschland) mit den Maßen 1,0 mm (Dicke) x 125 mm (Durchmesser) mithilfe eines Biostar<sup>®</sup> VI (Scheu-Dental GmbH, Iserlohn/Deutschland) Universal-Druckform-Gerätes über das Modell gezogen (Abbildungen 5b). Nach Abkühlen wurde die Schiene vom Modell abgezogen und ausgearbeitet. Die Tiefziehschiene umfasste die koronalen Anteile der Zähne. Aussparungen im Bereich des Gaumens bis nah an die Plättchen sollten den Tragekomfort der Probanden steigern. Jede Tiefziehschiene wurde im Bereich der Prüfkörper mithilfe einer Fräse mit Löchern versehen; zuvor wurden (vorübergehend) die Plättchen entnommen. Auf diese Weise standen die Prüfkörper mit der Mundhöhle in direktem Kontakt (Abbildung 6) und waren zudem auch von der Gaumenseite frei zugänglich. Aufgrund der leicht konischen Innenfläche der Polyamid-Ringe konnten die darin geformten rosafarbenen Prüfkörper nur gaumenwärts herausgedrückt werden. Folglich konnten die Prüfkörper nicht nach oral herausfallen. Die Schienen wurden im Mund der Probanden angepasst und okklusal adjustiert, um dorsale Belastungsvektoren zu vermeiden.

Eine abschließende Politur erfolgte, um vorhandene Kunststoffgrate oder scharfe Kanten zu beseitigen. In Abbildung 6 ist eine Tiefziehschiene mit 4 Plättchen dargestellt, die mit A, B, C und D beschriftet sind. Die Kennzeichnung diente der Reinigerzuordnung für die Reinigungsversuche.

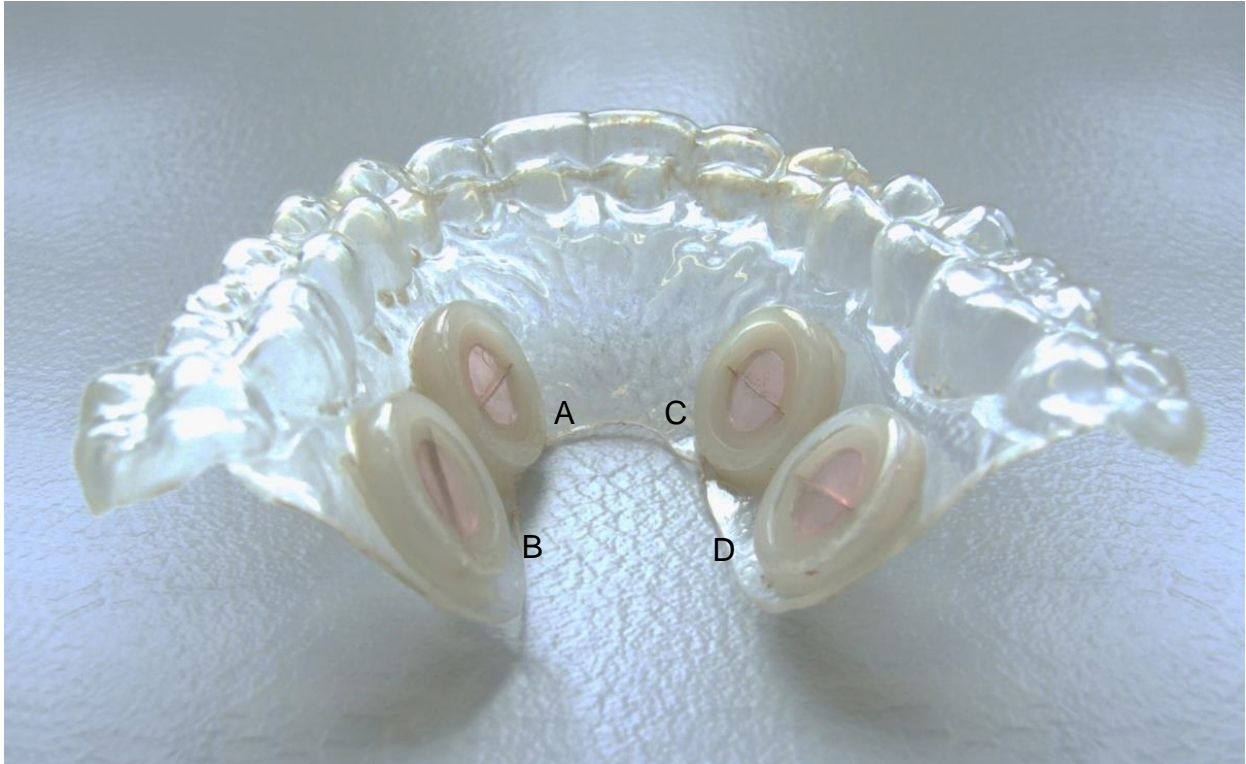


Abbildung 6: Tiefziehschiene für den Oberkiefer mit vier eingearbeiteten PMMA-Prüfkörpern, die mit A, B, C, D gekennzeichnet sind.

## 6 Methode

Im Folgenden wird die modifizierte OPA-Methode beschrieben, so wie sie in der technischen Hygiene der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin angewendet wird.

### 6.1 Modifizierte OPA-Methode

Laut Hellwege<sup>63</sup> kann man davon ausgehen, dass die aus dem Mund der Patienten stammende Prüfkörper-Verunreinigung überwiegend proteinhaltiger Natur war, demzufolge ist in dieser Pilotstudie eine Proteinanalyse zur Kontrolle der Reinigungsergebnisse angewendet worden.

Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz kann die Proteinkonzentration, das heißt der Gehalt an primären Aminogruppen, aus der gemessenen Extinktion **E** bestimmt werden. Es liegen zwei konstante Größen vor, nämlich die Schichtdicke der Quarzküvette *d*, die in dem hier gewählten Versuchsaufbau 1 cm beträgt, und der Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$ , der mit  $6,42 \text{ l/mmol} \times \text{cm}$  ebenfalls konstant ist<sup>95</sup>.

$$E = \varepsilon \times c \times d$$

**E = Extinktion**  
 **$\varepsilon$  = molarer Extinktionskoeffizient [ $\text{l/mmol} \times \text{cm}$ ]**  
**c = Konzentration der Probe [ $\text{mmol/l}$ ]**  
**d = Schichtdicke (Innendurchmesser der Küvette [ $\text{cm}$ ])**

Abbildung 7: Das Lambert-Beersche Gesetz mit der Extinktionsformel

#### 6.1.1 Herstellung der OPA-Lösung

Tabelle 2 gibt die Bestandteile der OPA-Lösung an, die vor dem Vermischen genau abgewogen werden müssen. Zunächst werden 0,04 g des schwer löslichen o-Phthalaldehyds mit 1 ml Methanol in einem Erlenmeyerkolben auf einem Magnetrührer vermengt (Lösung B). In einem 10 ml Erlenmeyerkolben werden als nächstes 0,116 g

der 2-Mercaptoethansulfonsäure Natriumsalz abgewogen (Substanz C). Lösung B wird nun mit einer Pasteurpipette zur Substanz C überführt (Lösung B+C). In einem Messkolben werden 1,005 g di-Natriumtetraborat abgewogen und zum Lösen zusammen mit 50 ml Aqua tridestillata auf einem Magnetrührer vermischt (Lösung D). Anschließend wird Lösung B+C vollständig mit einer Pasteurpipette in Lösung D überführt. Die so erhaltene Lösung E wird abschließend zum Herstellen der OPA-Lösung mit 1,25 ml einer 20%igen SDS-Lösung zugesetzt. Die OPA-Lösung muss täglich frisch angesetzt werden.

Die auf diese Weise gewonnene OPA-Lösung wurde in der vorliegenden Arbeit für die quantitative photometrische Proteinbestimmung verwendet. Für jede Prüfkörperhälften-Messung wurde in dieser Pilotstudie 1 ml der vorbereiteten OPA-Lösung eingesetzt.

<b>o-Phthaldialdehyd</b>	0,04 g
<b>2-Mercaptoethansulfonsäure Na-Salz</b>	0,116 g
<b>Methanol</b>	1 ml
<b>Di-Natriumtetraborat</b>	1,005 g
<b>Aqua tridestillata</b>	50 ml
<b>20%iges Sodiumdodecylsulfat</b>	1,25 ml

Tabelle 2: Mengenangaben der OPA-Lösungskomponenten

### 6.1.2 Nullpunktbestimmung

Vor jeder Messung im Zweistrahl-Photometer wurde eine Nullpunktbestimmung vorgenommen. Zu diesem Zweck wurden 2 Küvetten blasenfrei mit je 1 ml OPA-Lösung gefüllt und zur Einstellung des Nullpunktes bei 340 nm in die Küvettenfächer R (Reference) und S (Sample) des Spektralphotometers gestellt. Von den zwei Küvetten verblieb die Referenzprobe während der gesamten Messungen als Nullreferenzwert im Zweistrahl-Photometer, während die Küvette im Küvettenfach S (Sample) für jede Messung gewechselt und zusätzlich zur OPA-Lösung mit 200 µl eines Probenvolumens gemischt wurde.

### 6.1.3 Kontrolle der OPA-Methode mit der Leucin-Standard-Messung

Zur Überprüfung der verwendeten Chemikalien und der daraus angesetzten OPA-Lösung wurde zu Beginn und Ende jedes Untersuchungstages eine Vermessung eines Leucin-Standards vorgenommen.

Dazu wurde zunächst eine Leucin-Standardlösung aus 0,0655 g Leucin und 50 ml Aqua tridestillata in einem Messkolben angesetzt. Nach NullwertEinstellung des Photometers (Kapitel 6.1.2) wurde 1 ml der angesetzten OPA-Lösung in eine Küvette pipettiert und 10 µl der Leucin-Standardlösung hinzugegeben. Der Inhalt der Küvette wurde durch hin- und herbewegen gründlich gemischt und nach Inkubation für 2 Minuten die Extinktion bestimmt. Die Extinktion sollte  $0,641 \pm 0,02$  betragen<sup>88</sup>, anderenfalls muss die OPA-Lösung neu angesetzt werden. Die Messungen sind ungültig und müssen wiederholt werden, wenn der Leucin-Standard am Ende der Proben-Messungen nicht in dem oben genannten Messbereich liegt.

### 6.1.4 Proteinmengenbestimmung mit der modifizierten OPA-Methode

Für die Quantifizierung des Proteingehalts wurde mit der modifizierten OPA-Methode der Restproteingehalt auf den Prüfkörpern gemessen. Der Restproteingehalt wurde durch Elution der Verschmutzungen von den Prüfkörpern gewonnen (Kapitel 6.1.5). Die quantitative Proteinbestimmung in µg ergibt sich aus den Extinktionswerten nach Kalibrierung der modifizierten OPA-Methode (Kapitel 6.1.6 und 7.1).

### 6.1.5 Elution der Verschmutzungen von Prüfkörperoberflächen

Bevor der Proteingehalt quantifiziert werden konnte, war eine Eluatgewinnung der angesammelten Verschmutzungen beziehungsweise der Restverschmutzungen nach Reinigung von den Prüfkörperoberflächen notwendig.

Für diesen Zweck wurden 1000 ml einer 1%igen SDS-Lösung in einem Erlenmeyerkolben angesetzt. Zur Herstellung der 1%igen SDS-Lösung muss zunächst eine 20%ige SDS-Lösung vorbereitet werden, indem 10 g SDS in einem Erlenmeyerkolben abgewogen und mit 50 ml Aqua tridestillata auf einem Magnetrührer bei einer Temperatur von unter 40 °C gerührt werden, bis die Lösung klar wird. Die so

erhaltene Lösung von 50 ml 20%iger SDS-Lösung wird mit 950 ml Aqua tridestillata vermengt, sodass als Resultat 1000 ml einer 1%igen SDS-Lösung entstehen.

Zum Ablösen der Schmutzpartikel von einem Prüfkörper wird in der hier angewendeten modifizierten OPA-Methode zunächst 1 ml der angesetzten 1%igen SDS-Lösung in ein Reagenzglas pipettiert und anschließend der zu untersuchende Prüfkörper hinzugegeben. Daraus werden anschließend zweimal 100 µl der Eluatlösung entnommen.

### 6.1.6 Kalibrierung der OPA-Methode

Die Kalibrierung wurde nach den Kalibrierstandards der technischen Hygiene an der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin durchgeführt.

Zur Quantifizierung der unbekanntenen Proteinmengen in den zu untersuchenden Proben wurde ein äquivalentes Protein, das Rinderserumalbumin BSA (**B**ovine **S**erum **A**lbumin), in definierten Konzentrationen verwendet. Eine Kalibrierung wurde zweimal durchgeführt, einmal vor Beginn der ersten Hauptuntersuchung und einmal nach Beendigung der zwanzigsten Hauptuntersuchung.

Aus einer angesetzten Stammlösung mit 100 mg BSA in 100 ml Aqua tridestillata wurden Verdünnungs-Standards in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Diese unterschiedlichen BSA-Verdünnungen wurden photometrisch ausgewertet. Mithilfe der linearen Regressionsgleichung  $y = mx + b$  und der erhaltenen Extinktionswerte wurde eine Regressionsgrade erstellt. Die Extinktion der Proben wurde mit der Extinktion der BSA-Standards, die einer definierten Menge an Protein entsprachen, verglichen und ausgedrückt als: µg Protein in Bezug auf BSA.

## 6.2 Vorversuche

Die Pilotstudie erfolgte mit In-vivo-Versuchen und anschließender Auswertung in vitro. Eine In-vivo-Untersuchung wurde durchgeführt, um eine große Kombination von vielen verschiedenen Proteinen zu erhalten und dadurch realitätsnahe Ergebnisse zu erzielen. Zur Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reinigungstabletten war unter den genannten Versuchsbedingungen die Simulation einer herausnehmbaren

kieferorthopädischen Apparatur notwendig. Zu diesem Zweck ist eine spezielle herausnehmbare Apparatur für den Oberkiefer hergestellt worden (Kapitel 5.3).

Je 3 der 4 Prüfkörper pro Proband sollten verwendet werden, um die Reinigungswirkung der zu untersuchenden Reiniger zu bestimmen. Ein Prüfkörper sollte zur Bestimmung der Reinigungswirkung des Kontrollmediums Wasser dienen.

Im Folgenden wird beschrieben, wie im Rahmen der Vorversuche die Methode für diese Studie entwickelt und die Durchführbarkeit geprüft wurde.

### 6.2.1 Prüfung auf Interaktion zwischen den Prüfkörpern und der OPA-Methode

Es galt festzustellen, ob eine andere Quelle existiert, von der Proteine stammen können, außer aus dem Mund des Probanden. Anderweitige Proteinquellen würden eine Summation der Proteinmengen bedeuten und somit die Versuchsergebnisse verfälschen<sup>95</sup>. Möglicherweise existierende Proteinquellen sind sowohl die Prüfkörper selbst, die aus PMMA-Kunststoff bestehen, als auch die Halterungen, in denen die rosafarbenen PMMA-Prüfkörper befestigt waren. Eine weitere denkbare Proteinquelle könnten auch die im Wasser aufgelösten Reinigungstabletten sein. Um diese Verunreinigungsquellen im Vorfeld der Hauptversuche zu bestimmen, wurden Vorversuche durchgeführt.

#### **Versuchsdurchführung:**

Es wurden zwei Untersuchungsreihen mit jeweils fünf nicht geteilten und ungetragenen PMMA-Plättchen nach 24 Stunden Wasserlagerung durchgeführt. Dazu wurden einmal fünf Plättchen für zehn Minuten in jeweils einem Reagenzglas mit 500 µl einer 1%igen SDS-Lösung in einem schwenkbaren Gestell auf einer Tisch-Schüttelmaschine mit Magnetantrieb (Schüttelgeschwindigkeit: 40 min<sup>-1</sup>, Amplitude: 25 mm) geschüttelt. Die SDS-Lösung (Sodiumdodecylsulfat oder auch Natriumlaurylsulfat genannt) diene zum Herauslösen von Proteinen. Fünf weitere Plättchen wurden für zwanzig Minuten in einem Reagenzglas mit 500 µl einer 1%igen SDS-Lösung auf der Schüttelmaschine bewegt. Um die Extinktion zu bestimmen, wurde pro Eluat aus jedem Reagenzglas eine 200 µl Probe entnommen.

In einer zweiten Versuchsserie wurde jeweils eine Reinigungstablette Kukis<sup>®</sup>, Ortho&Junior<sup>™</sup> sowie fittydent super<sup>®</sup> in 150 ml 40 °C warmem Leitungswasser aufgelöst. Anschließend wurde zu jedem Reiniger ein ungetragenes Plättchen mit zwei

Prüfkörpern hinzugegeben, das zuvor bei Zimmertemperatur für 24 h in Aqua tridest. gelagert worden war. Die Plättchen wurden gemäß Herstellerangaben mit den verschiedenen Reinigern behandelt, anschließend mit Wasser abgespült und mit der modifizierten OPA-Methode untersucht. Dazu wurde jedes Plättchen mit einer sterilen Pinzette in ein Reagenzglas mit 500 µl einer 1%igen SDS-Lösung gegeben und zehn Minuten geschüttelt. Anschließend wurde daraus eine 200 µl Probe entnommen, die spektralphotometrisch zusammen mit 1 ml einer OPA-Lösung untersucht wurde.

### **Ergebnisse:**

Die Prüfung einer nachweisbaren Proteinquelle ausgehend von Prüfkörpern, die nicht im Mund waren, ergab, dass sowohl nach zehnminütiger als auch nach zwanzigminütiger Schüttelzeit in 500 µl 1%iger SDS-Lösung die Extinktionen bei null lagen. Gleichermaßen lagen die Extinktionen für alle drei Reiniger bei null.

Weder die Prüfkörper noch die verwendeten Reiniger selbst weisen demnach eine nachweisbare Proteinmenge auf. Somit besteht keine Gefahr einer Verfälschung der Versuchsergebnisse durch Proteine, die nicht aus der Mundhöhle der Probanden stammen.

### **6.2.2 Halbierung der PMMA-Kunststoffplättchen**

Die PMMA-Plättchen bestanden durch das Matrizenblech, das nach der Polymerisation entfernt wurde, aus zwei gleich großen Hälften, in die sie vor der Reinigung geteilt wurden.

Auf diese Weise konnte ein Prüfkörper (= eine Plättchenhälfte) eines Plättchens zur Bestimmung der Proteinmenge ohne Reinigungsprozess herangezogen werden. Der andere Prüfkörper desselben Plättchens wurde nach der Reinigung mit einem der Reiniger zur Proteinbestimmung verwendet. Die Ergebnisse vor und nach Reinigung im Vergleich der beiden Prüfkörper quantifizieren somit die Reinigungsleistung.

Die Proteinemengendifferenz quantifiziert den Reinigungseffekt jedoch nur dann korrekt, wenn die Proteinmenge vor dem Reinigen auf beiden Prüfkörpern gleich ist. Um dies zu prüfen, wurden in Vorversuchen zwei Schienen mit jeweils fünf eingearbeiteten Plättchen von zwei Probanden 48 Stunden lang getragen. Die Proteinbestimmung erfolgte mithilfe der modifizierten OPA-Methode (Kapitel 6.1).



**Ergebnisse:**

Die quantitativen Vergleiche der Proteinmengen auf den aus einem PMMA-Plättchen gewonnenen Prüfkörpern haben ergeben, dass die Proteinmengen auf zwei beieinander liegenden Prüfkörpern ähnlich, aber nicht gleich sind.

Der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test zeigte, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den gemessenen Extinktionen der zwei Prüfkörper eines Plättchens existiert ( $Z = -1,172, P = 0,241$ ).

**6.2.3 Ermittlung der Tragedauer**

Die spektralphotometrisch nachweisbaren Proteinmengen auf den ungereinigten und auf den mit einem Reiniger behandelten Prüfkörpern können in dieser Studie durch drei Variablen beeinflusst werden. Zum einen durch die Tragezeit der Schiene und die Ernährungsgewohnheiten sowie zum anderen durch die Lösungsmengen für die modifizierte OPA-Methode (1%ige SDS-Lösung und Probenvolumen).

Um festzustellen, wie lange die Plättchen mit den Prüfkörpern von den Probanden getragen werden mussten, um Proteinmengen zu gewinnen, die mit den gewählten Verdünnungen im Messbereich lagen, wurden Vorversuche mit einer Probandin durchgeführt.

**Versuchsdurchführung:**

Zur Ermittlung der optimalen Tragezeit wurden verschiedene Schienen von einer Probandin für vierzehn Tage, für zwei Tage, für einen Tag und für fünfzehn Minuten getragen. In jeder Schiene waren 5 ungeteilte PMMA-Plättchen eingearbeitet, die untersucht wurden, ohne mit einem Reiniger behandelt worden zu sein. Die Messwerte sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Nach 14-tägigem Tragen der Schiene lagen die gemessenen Extinktionen oberhalb der unteren Nachweisgrenze (Probenvolumen: 10  $\mu$ l), allerdings wurde das Tragen der verschmutzten Schiene unerträglich. Die Tragezeiten von einem Tag (Probenvolumen: 100  $\mu$ l) sowie von fünfzehn Minuten (Probenvolumen: 10  $\mu$ l) erwiesen sich als ungeeignet, da die Messwerte schwankend an der Grenze des unteren Nachweisbereichs lagen. Die Versuchsreihe mit der zweitägigen Tragedauer der Schiene ergab Messwerte, die deutlich oberhalb der unteren Nachweisgrenze lagen - bei akzeptablem Tragekomfort für die Probandin.

Tragedauer	Plättchen	Probenvolumen [µl]	Extinktion 1. Messung	Extinktion 2. Messung
14 Tage	A	10	0,038	0,031
	B	10	0,061	0,061
	C	10	0,077	0,070
	D	10	0,055	0,055
	E	10	0,057	0,047
2 Tage	A	100	0,253	0,130
	B		verloren gegangen	
	C	100	0,121	0,112
	D		verloren gegangen	
	E	100	0,089	0,071
1 Tag	A	100	0,064	0,070
	B	100	0,026	0,050
	C	100	0,036	0,031
	D		verloren gegangen	
	E		verloren gegangen	
15 Minuten	A	10	0,006	0,004
	B	10	0,008	0,017
	C	10	0,030	0,004
	D	10	0,009	0,031
	E	10	0,010	0,012

**Tabelle 3:** Darstellung der Extinktionsmesswerte für verschiedene Tragezeiten: Eine Probandin trug 4 verschiedene Schienen für 14 Tage, für 2 Tage, für 1 Tag und für 15 Minuten. Pro Plättchen wurden 2 Messungen vorgenommen. Während der zweitägigen Trageperiode sind die Plättchen B und D verloren gegangen. Plättchen D und E sind während eintägiger Tragezeit verloren gegangen.

Weitere Versuche wurden mit zweitägiger Tragedauer durchgeführt, um zu untersuchen, ob die Messwerte nach Reinigung mit einem Reiniger im Nachweisbereich der Methode lagen.

#### **Versuchsdurchführung:**

Dazu wurde für eine Probandin eine Schiene mit 4 Plättchen angefertigt. Jedes Plättchen bestand aus zwei PMMA-Prüfkörpern. Der eine Prüfkörper wurde vor Reinigung untersucht, der andere Prüfkörper desselben Plättchens nach Anwendung eines Reinigers.

#### **Ergebnisse:**

Tabelle 4 zeigt, dass die Messwerte nach zweitägigem Tragen (Probenvolumen: 100 µl) nach Reinigung bei null lagen, das heißt im nicht nachweisbaren Bereich unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003 und sich damit als ungeeignet erwiesen.

Dies führte zu einer Anpassung der modifizierten OPA-Methode an die Proteinmenge nach Reinigung.

Damit diese stets oberhalb der Nachweisgrenzen lag, wurden Anpassungen an der 1%igen SDS-Lösung, die zur Elution der Verunreinigungen verwendet wurde, sowie an dem Probenvolumen vorgenommen. Zusätzlich wurde die Tragedauer auf 4 Tage erhöht.

### Versuchsdurchführung:

Dazu wurde die für eine Probandin angefertigte Schiene mit 4 Plättchen, die jeweils aus zwei PMMA-Plättchenhälften (Prüfkörper 1 und 2) bestanden, nach viertägigem Tragen untersucht.

### Ergebnisse:

Tabelle 4 zeigt, dass nach viertägigem Tragen und Reduktion der SDS-Lösung von 1 ml auf 500 µl sowie Erhöhung des Probenvolumens auf 200 µl die Extinktionswerte im nachweisbaren Bereich lagen und somit für die weiteren Versuche akzeptabel erschienen.

Tragedauer	Plättchen	Proben-volumen [µl]	ohne Reinigung (Prüfkörper 1)		nach Reinigung (Prüfkörper 2)	
			Extinktion 1. Messung	Extinktion 2. Messung	Extinktion 1. Messung	Extinktion 2. Messung
2 Tage	A	100	0,013	0,007	< 0,003	< 0,003
	B	100	0,013	0,017	< 0,003	< 0,003
	C	100	0,009	0,007	< 0,003	< 0,003
	D	100	0,003	0,003	< 0,003	< 0,003
4 Tage	A	200	0,160	0,172	0,015	0,016
	B	200	0,212	0,212	0,020	0,019
	C	200	0,153	0,410	0,010	0,011
	D	200	verloren	verloren	0,020	0,021

**Tabelle 4:** Extinktionsmesswerte nach zweitägigem und viertägigem Tragen der Schiene durch dieselbe Probandin. Jeder Prüfkörper eines Plättchens wurde zweimal gemessen. Das Probenvolumen sowie die Menge der SDS-Lösungen wurden für den viertägigen Versuch verändert.

Weitere Versuche wurden mit vier verschiedenen Probanden durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit und Validierung des Verfahrens mit viertägiger Tragedauer und angepassten Lösungsmengen zu bestimmen.

Die in Abbildung 8 dargestellten Messwerte zeigen, dass die Proteinmengen sowohl auf den ungereinigten als auch auf den mit einem Reiniger behandelten Prüfkörpern größtenteils im nachweisbaren Bereich ( $> 0,003$ ) lagen (rot gestrichelte Linie markiert Nachweisgrenze).

Somit kann davon ausgegangen werden, dass nach viertägiger Tragedauer, einer Probenmenge von 200  $\mu\text{l}$  und einer SDS-Lösung von 500  $\mu\text{l}$ , die Proteinmengen auf den ungereinigten sowie auf den gereinigten Prüfkörpern im nachweisbaren Bereich liegen.

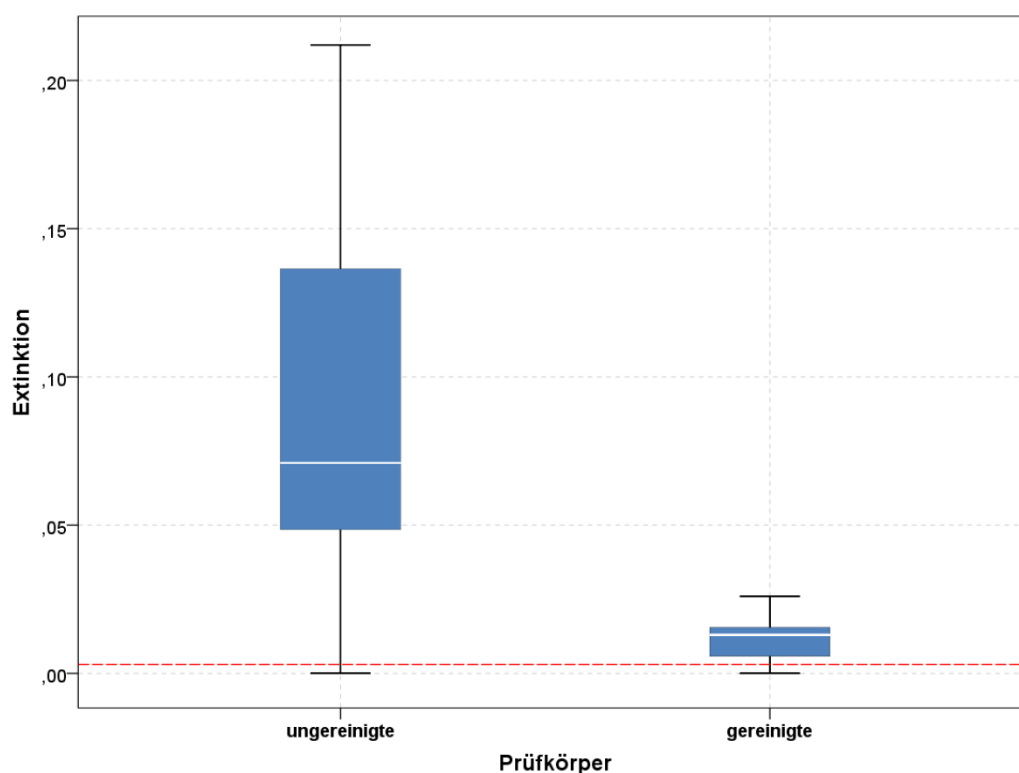


Abbildung 8: Boxplot-Darstellung der Messwerte der gereinigten und ungereinigten Prüfkörper von vier verschiedenen Probanden nach viertägigem Tragen ihrer Schienen. Die rot gestrichelte Linie stellt die untere Nachweisgrenze des Spektralphotometers bei 0,003 dar.

## 6.3 Hauptversuche

### 6.3.1 Ethikkommissionsvotum

Für diese Studie liegt eine Genehmigung der Ethikkommission der Charité vor (Anlage 12).

Alle Probanden unterzeichneten eine Einverständniserklärung, füllten einen Anamnesebogen aus und erhielten Informationsblätter zur Studie sowie Hinweisblätter zur Handhabung und zum Tragen der Schienen.

### 6.3.2 Probanden

In den Hauptversuchen dieser Pilotstudie wurden insgesamt 20 Schienen untersucht. Es haben 17 zufällig ausgewählte freiwillige Probanden teilgenommen, von denen 14 Probanden einmalig für vier Tage eine Schiene getragen haben. Drei Probanden nahmen zweimal teil und trugen somit zwei unterschiedliche Schienen zu unterschiedlichen Zeitpunkten, jeweils ebenfalls für vier Tage.

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über einen Aushang im CharitéCentrum 3 für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Mehrheitlich stellten sich Mitarbeiter der zahnmedizinischen Einrichtung als Probanden zur Verfügung. Die Probanden sollten nicht unter 18 Jahre alt sein, um eigenverantwortlich über ihre Teilnahme entscheiden zu können. Die Probanden waren zwischen 19 und 72 Jahre alt (MW: 39 Jahre). Die Geschlechtszugehörigkeit war nicht relevant, sie wurde dennoch erfasst: 60 % waren weiblich.

Eine biometrische Stichprobenumfangschätzung setzt Daten zur Streuung und Verteilung der zu erwartenden Messwerte voraus. Diese Daten lagen weder aus eigenen Arbeiten noch aus der Literatur vor. Daher handelt es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine Pilotstudie.

In Tabelle 5 sind die Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme der Probanden an dieser Pilotstudie aufgelistet.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proband(inn)en, die <math>\geq 18</math> Jahre alt sind</li> <li>• Bereiterklärung der Proband(inn)en, sich an die viertägige Tragedauer zu halten</li> <li>• Menschen mit gutem Gesundheitszustand</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jugendliche unter 18 Jahren</li> <li>• herausnehmbarer Zahnersatz oder kieferorthopädische Apparaturen im Oberkiefer</li> <li>• weniger als 12 Zähne im Oberkiefer, von denen weniger als vier Molaren und weniger als zwei Prämolaren sind</li> <li>• während der Tragedauer lokale Applikation von Fluoridgel, Fluoridlösung, Fluoridlack, Tooth Mousse<sup>®</sup> oder plaquehemmenden Spüllösungen mit Chlorhexidin oder Listerine<sup>®</sup></li> <li>• aktive Karies</li> <li>• aktive Parodontitis</li> <li>• geistig retardierte Menschen</li> <li>• Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel Hepatitis- und HIV-Infektion</li> <li>• Epilepsie</li> <li>• Immunsuppression</li> <li>• Einnahme von Antibiotika</li> <li>• Allergie gegen PMMA und oder MMA</li> <li>• starker Würgereiz</li> </ul>

Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme der Probanden an dieser Pilotstudie

### 6.3.3 Trageweise der Tiefziehschienen

Alle Probanden bekamen ihre angepasste Oberkiefer-Schiene zusammen mit einer Aufbewahrungsbox. Sie sollten die Schiene 4 Tage lang Tag und Nacht tragen, beim Essen, Trinken und bei den Zwischenmahlzeiten. Die Schiene durfte lediglich zum Zähneputzen herausgenommen werden und sollte währenddessen in der mitgegebenen Dose feucht aufbewahrt und nicht in ein Papiertuch eingewickelt werden. Der Proband bekam ein Hinweisblatt mit Trage- und Putzanweisungen, die vorsahen,

dass ein Abspülen der Schiene mit Wasser bei Verunreinigungen nur vorsichtig und ohne jegliches Anfassen der rosafarbenen Prüfkörper vorgenommen werden durfte, um einen Verlust der Prüfkörper zu vermeiden. Des Weiteren war während der Tragedauer die Anwendung von Fluoridgel, Fluoridlösung, Fluoridlack, Tooth Mousse® oder plaquehemmenden Spüllösungen mit Chlorhexidin oder Listerine® untersagt. Im Falle des Herausfallens eines Prüfkörpers aus der Schiene, sollte dieses vorsichtig in der mitgegebenen Dose aufbewahrt und die Studienzahnärztin unverzüglich informiert werden. Bei Verlust oder Fraktur der Schiene sollte die Studienzahnärztin unverzüglich kontaktiert werden. Über die Einnahme von Medikamenten musste die Studienzahnärztin informiert werden.

Nach 96 Stunden Tragezeit sollte die Schiene zur Abgabe in die Box gelegt werden, ohne sie in ein Papiertuch zu wickeln. Die Schienen wurden dann wieder eingesammelt und am Tag der Schienenentnahme oder spätestens 24 Stunden nach Schienenentnahme im Labor für technische Hygiene mithilfe der modifizierten OPA-Methode untersucht.

#### 6.3.4 Durchführung der Hauptversuche

Nach den in Kapitel 6.1.6 beschriebenen Vorversuchen hat sich das im Folgenden beschriebene Prozedere bewährt, das folglich im Rahmen der Hauptversuche angewendet wurde. Für die Evaluation der Reinigungseffizienz dreier kommerziell angebotener Spangereiniger in Relation zu einer Kontrollgruppe (Wasser) wurde, wie in Kapitel 5.2 und 5.3 beschrieben, eine Tiefziehschiene (Druckformfolie) mit vier Plättchen, bestehend aus jeweils zwei PMMA-Prüfkörpern, hergestellt. Nach viertägigem Tragen durch den Probanden wurden die mit Plaque bewachsenen Tiefziehschienen (Abbildung 9) im Labor für technische Hygiene an der Charité – Universitätsmedizin Berlin untersucht. Ein Prüfkörper jedes Plättchens wurde zur Bestimmung der Reinigungswirkung mit einem der drei zu untersuchenden Spangereiniger oder Wasser als Kontrollmedium gereinigt.



Abbildung 9: Schiene nach viertägigem Tragen. Jedes mit Plaque bewachsene PMMA-Plättchen wurde nach dem Tragen zum Reinigen in seine zwei Prüfkörper zerlegt.

Zur Bestimmung der Proteinmenge wurde die modifizierte OPA-Methode angewendet (Kapitel 6.1 und 6.2.3).

Die verschmutzten Prüfkörper wurden nacheinander vorsichtig mit jeweils einer in SDS-Lösung geschwenkten und anschließend sterilisierten Pinzette aus den Tiefziehschienen entnommen und gemäß der schematischen Darstellung in Abbildung 10 untersucht. Die Plättchen wurden entlang des Spaltes, den das Matrizenblech hinterlassen hatte, halbiert. Auf einer Hälfte ( $A_1$  in Abbildung 10) wurde die Proteinmenge ohne vorherige Reinigung bestimmt, um die initiale Verschmutzung zu quantifizieren. Die andere Hälfte ( $A_2$  in Abbildung 10) desselben Plättchens diente zur Messung der Proteinmenge nach Reinigung mit einem Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen. Die Quantifizierung der Reinigungsleistung wurde anhand einer linearen Gleichung aus der initialen Proteinmenge und der Proteinmenge nach Reinigung in Prozent errechnet (Formel 1).



Mit welchem Reiniger welcher Prüfkörper gesäubert werden sollte, wurde randomisiert festgelegt vorgenommen und wird in Kapitel 6.3.5 beschrieben.

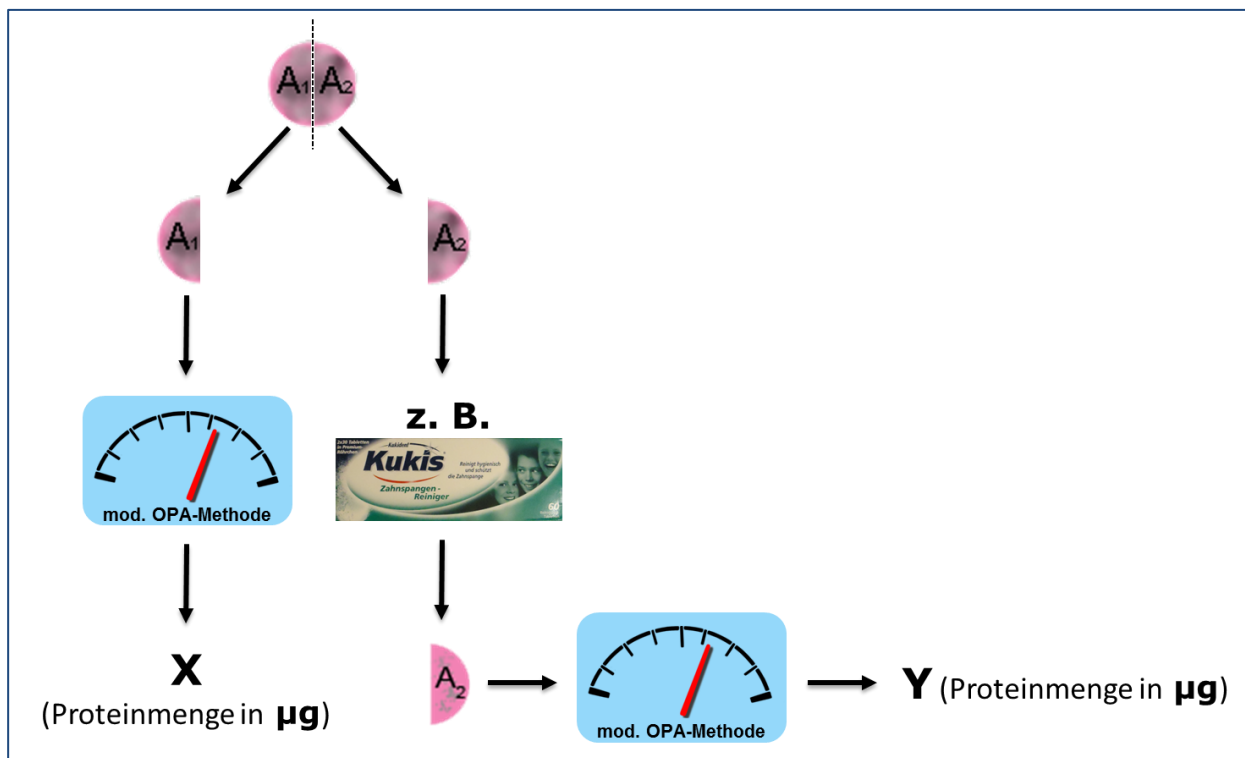


Abbildung 10: Messung der Reinigungseffizienz: Ein nach 4 Tagen mit Plaque bewachsenes Plättchen wurde in seine zwei Hälften ( $A_1$  und  $A_2$ ) geteilt.  $A_1$  diente zur Feststellung der initialen Proteinmenge  $X$  in  $\mu\text{g}$ . Auf  $A_2$  wurde nach Behandlung mit einem Reiniger, hier zum Beispiel mit Kukis<sup>®</sup>, ebenfalls die Proteinmenge  $Y$  in  $\mu\text{g}$  bestimmt. Für die Quantifizierung der Proteinmenge wurde die modifizierte Ortho-Phthaldialdehyd (mod. OPA)-Methode verwendet.

$$\text{Reinigungsprozent} = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

$X$  = initiale Proteinmenge in  $\mu\text{g}$

$Y$  = Proteinmenge nach Reinigung in  $\mu\text{g}$

Formel 1: Quantifizierung der Reinigungsleistung von Reinigern: Mithilfe der oben angegebenen Formel wurde die Proteinreduktion (Reinigung) in Prozent berechnet. Im Zähler wird die Proteinmenge nach Reinigung von der initialen Proteinmenge subtrahiert, anschließend durch die initiale Proteinmenge dividiert und mit 100 multipliziert.

### 6.3.5 Randomisierung

Die Reinigungsversuche wurden in einem vierfachen Cross-over-Versuch durchgeführt. Jeder Teilnehmer wurde vor Versuchsbeginn randomisiert einer Probandennummer von

1 bis 20 zugeordnet, wobei drei der Probanden zwei verschiedenen Probandennummern zugeordnet wurden. Die unsortierten Probandennummern befanden sich auf den Einwilligungserklärungen, die jeder der Probanden zum Ausfüllen zufällig zog. Damit war den Probanden automatisch eine Probandennummer zugeteilt, die auch gleichzeitig als Identifikationsnummer diente. Die Zuordnung von Identifikationsnummer und Probandennummer wurde in einem verschlossenen Umschlag beim Studienleiter, Prof. Dr. Paul-Georg Jost-Brinkmann, hinterlegt. Die persönlichen Daten der Probanden wurden mit dieser Nummer verschlüsselt. Bei der Abgabe der Tiefziehschiene nach vier Tagen zur Untersuchung durch die Prüfzahnärztin identifizierte sich der Proband mit seiner Probandennummer. Das Dokumentationsblatt für die untersuchten Messwerte im Labor wurde nur mit der Probandennummer gekennzeichnet. Nach demselben Prinzip ist auch Tabelle 6 mit den randomisierten Daten verschlüsselt. Diese legte fest, mit welchem Reiniger welcher Prüfkörper bei welchem Probanden gereinigt werden sollte. Somit rotierte die Untersuchungsreihenfolge der Reiniger für die Prüfkörper von Proband zu Proband. Die Prüfkörper-Reiniger-Zuordnung war zufällig festgelegt worden.

Nr.	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
Proband 1	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O
Proband 2	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super
Proband 3	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis
Proband 4	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior
Proband 5	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O
Proband 6	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super
Proband 7	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis
Proband 8	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior
Proband 9	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O
Proband 10	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super
Proband 11	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis
Proband 12	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior
Proband 13	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O
Proband 14	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super
Proband 15	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis
Proband 16	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior
Proband 17	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O
Proband 18	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis	-/-	fittydent super
Proband 19	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior	-/-	Kukis
Proband 20	-/-	Kukis	-/-	fittydent super	-/-	H <sub>2</sub> O	-/-	Ortho&Junior

Tabelle 6: Randomisierte Festlegung der Untersuchungskombinationen von Reiniger und Prüfkörper A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>, C<sub>2</sub> und D<sub>2</sub> (vgl. Abbildung 10) für alle 20 Probanden. Die Prüfkörper A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, C<sub>1</sub> und D<sub>1</sub> (vgl. Abbildung 10) wurden zur Quantifizierung der initialen Proteinmenge ungereinigt (-/-) untersucht.

### 6.3.6 Reinigungsprozess

Bei den hier untersuchten Reinigern für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen handelt es sich um handelsübliche, selbsttätige Reinigungstabletten und das Kontrollmedium Wasser. Die Reiniger Ortho&Junior™, Kukis® und fittydent super® haben laut Herstellerangaben unterschiedliche Einwirkzeiten bis zum Erzielen ihrer Reinigungswirkung. Wie in Abbildung 11 dargestellt, ist die Einwirkzeit für fittydent super® mit 30 Minuten am längsten, gefolgt von Ortho&Junior™ mit 15 Minuten und Kukis® mit 10 Minuten. Wasser als Kontrollmedium, hat entsprechend Kukis®, die kürzeste Einwirkzeit von 10 Minuten erhalten.

Für den Reinigungsprozess wurde ein Becher mit 150 ml warmem Leitungswasser (Wassertemperatur 40 °C) befüllt und eine Reinigungstablette hinzugegeben. Sofort wurde ein zu reinigender Prüfkörper in den Becher dazugegeben.

Zur Entnahme der Prüfkörper aus der Tiefziehschiene wurde jeweils eine zahnärztliche Pinzette verwendet, die zuvor in einer 1%igen SDS-Lösung geschwenkt und anschließend sterilisiert worden war. Dadurch sollte eine Kontamination der Prüfkörper mit Proteinen bei der Entnahme verhindert werden.

Nach Ablauf der Reinigungszeit wurde der Prüfkörper mit derselben Pinzette aus dem Reagenzglas genommen und den Gebrauchsanleitungen folgend unter fließendem Wasser abgespült. Zum Abspülen wurde Aqua bidestillata verwendet.

Anschließend wurde der gereinigte Prüfkörper zur Quantifizierung der Restverschmutzung mit 500 µl 1%iger SDS-Lösung (Kapitel 6.2.3) in ein Reagenzglas gegeben, das dann 10 Minuten auf einem Schüttler bewegt wurde, bevor der Inhalt gemäß Kapitel 6.3.7 weiter untersucht wurde.





<b>Reiniger</b>	Kukis®	fittydent super®	Ortho&Junior™	Wasser
<b>Einwirkzeit</b>	10 Min.	30 Min.	15 Min.	10 Min.
				

Abbildung 11: Die vier untersuchten Reiniger: drei selbsttätige Reinigungstabletten aufgelöst in jeweils einem Becher in 150 ml Leitungswasser und Leitungswasser als Kontrollmedium.

### 6.3.7 Proteinmengen-Messung

Als Proben standen die Eluate der gereinigten und ungereinigten Prüfkörper zur Verfügung. Vor jeder Messung im Photometer erfolgte eine Nullung des Photometers mit dem OPA-Reagenz (Kapitel 6.1.2).

Für die Probenmessung wurde aus dem in Kapitel 6.3.6 gewonnenen Eluat eine 200 µl Probe entnommen und in die Küvette im Küvettenfach S (Sample) pipettiert, in der sich bereits 1 ml der OPA-Lösung befand. Nach sofortigem Verschluss der Küvette mit

einem Falzdeckel wurde der Küvetteninhalt unter Vermeidung von Schaumbildung durchmischt und anschließend 2 Minuten lang in das Spektralphotometer gestellt. Nach Ablauf der 2 Minuten wurde die Extinktion abgelesen.

Um von jeder Probenlösung zwei Messwerte zu erhalten, wurde die Messung der Extinktion einer weiteren 200 µl Probe desselben Eluats vorgenommen und der Mittelwert gebildet.

Die Proteinmengen wurden mithilfe der Kalibriergeraden aus den gemessenen Extinktionen berechnet (Kapitel 6.1.6).

Die Angabe der Reinigungswirkung erfolgte dann als Reinigungsprozent und als die verbliebene Proteinmenge nach Reinigung.

## 6.4 Statistische Auswertung und grafische Darstellungen

Die statistischen Auswertungen und grafischen Darstellungen der Ergebnisse wurden mithilfe des Statistikprogramms IBM SPSS Statistics 21 durchgeführt.

Die Messdaten waren laut Kolmogoroff-Smirnoff-Test<sup>43</sup> und Shapiro-Wilk-Test<sup>43</sup> nicht normalverteilt. Daher wurden im Folgenden bei der Auswertung der Ergebnisse nichtparametrische Tests<sup>43</sup> eingesetzt.

Mit dem Friedman-Test<sup>43</sup> wurde geprüft, ob ein globaler Unterschied der Reinigungsprozent-Werte zwischen den verschiedenen Reinigern existiert. Der Friedman-Test ist ein nichtparametrischer statistischer Test zur Untersuchung des verteilungsunabhängigen Vergleichs mehrerer Stichproben von Messwerten<sup>43</sup>.

Anschließend wurde der Wilcoxon-Test<sup>43</sup> für Paardifferenzen zum Vergleich zweier verbundener Stichproben durchgeführt. Dieser Post-hoc-Test wird angewendet, falls für die zugrundeliegende Grundgesamtheit keine Normalverteilung angenommen werden kann<sup>43</sup>. In dieser Studie kam dieser Test zur Anwendung, um festzustellen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Reinigungsprozent-Werten zweier Reiniger bestand (paarweise Tests). Bei  $n$  Reinigern können  $k = \binom{n}{2}$  mögliche Reiniger-Paare getestet werden. Bei diesem multiplen Testproblem sind die Niveaus der einzelnen paarweisen Tests so zu wählen, dass der multiple Fehler unter Kontrolle gehalten wird. Dazu wurde eine  $\alpha$ -Adjustierung nach Bonferroni<sup>43</sup> durchgeführt:

$$\alpha_m = \frac{\alpha}{k}$$

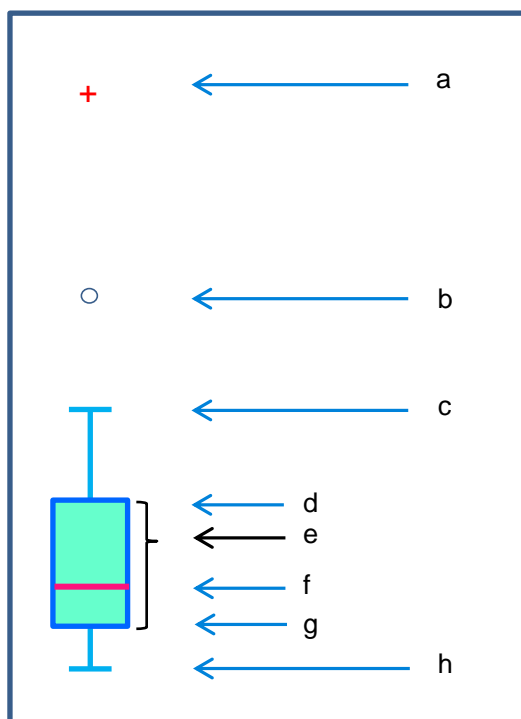
$$\Rightarrow \alpha_m = \frac{0,05}{6} = 0,0083$$

$\alpha_m$ : Signifikanzniveau der einzelnen paarweisen Tests

$\alpha$ : Signifikanzniveau der gesamten Tests

$k$ : Anzahl der paarweisen Tests

Die Messwerte werden im Weiteren als Box-Whisker-Plots, auch kurz Boxplot genannt, dargestellt (Abbildung 12).



- a **Extreme Ausreißer:** Werte, die mehr als der 3-fache Interquartilsabstand vom oberen oder unteren Quartil entfernt liegen.
- b **Ausreißer:** Werte, die mehr als der 1,5-fache bis 3-fache Interquartilsabstand vom oberen oder unteren Quartil entfernt liegen.
- c **Oberer Whisker-Wert:** größter Datenwert der Messwerte, der noch kein Ausreißer ist.
- d **Oberes Quartil:** 0,75-Quantil; 75 % der Messwerte sind kleiner oder gleich diesem Wert.
- e **Interquartilsabstand (Boxlänge):** Bereich vom oberen zum unteren Quartil, in dem sich 50 % der Werte befinden.
- f **Median:** 0,5-Quantil
- g **Unteres Quartil:** 0,25-Quantil; 25 % der Messwerte sind kleiner oder gleich diesem Wert.
- h **Unterer Whisker-Wert:** kleinster Datenwert der Messwerte, der noch kein Ausreißer ist.

Abbildung 12: Definition der hier verwendeten Boxplots.

Die kumulative Verteilungsfunktion wurde angewendet, um anzugeben, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, dass nach jeder Reinigung die Proteinreduktion in Prozent  $X$  einen Wert gleich oder kleiner eines bestimmten Wertes  $a$  annimmt  $(p(X \leq a))^{16}$ . Die Komplementärwahrscheinlichkeit wurde zusätzlich angewendet, um anzugeben, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, dass die Proteinreduktion einen größeren Wert als eines bestimmten Wertes  $a$  annimmt  $(p(X > a) = 1 - p(X \leq a))^{16}$ .

## 7 Ergebnisse

### 7.1 Kalibrierung der OPA-Methode

Die Messdaten für die Kalibrierung setzten sich aus den gesammelten Messwerten einmal zu Beginn der Hauptversuche sowie einmal nach Beendigung der Hauptversuche zusammen.

Dazu wurden, jeweils zu Beginn sowie nach Beendigung der Hauptversuche, aus der angesetzten BSA-Stammlösung (Bovine Serum Albumin) fünfzehn unterschiedliche Volumina der Basislösung (50 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl usw.) in verschiedene Messkolben pipettiert und auf 10 ml mit Aqua tridestillata aufgefüllt. Daraus wurden jeweils dreimal 200 µl entnommen, mit jeweils 1 ml OPA vermischt und im Spektralphotometer gemessen.

Anhand der definierten Konzentrationen des BSA-Proteins in jeder Küvette und aller gemessenen Extinktionen wurde eine Ausgleichsgerade mithilfe des Statistikprogramms IBM SPSS Statistics 21 berechnet. Die untenstehende Geradengleichung beschreibt das lineare Verhältnis der Proteinmenge ( $y$ ) zur gemessenen Extinktion ( $x$ ) und ermöglicht somit die Berechnung einer Proteinmenge aus einer gemessenen Extinktion.

$$y = 1112,254425 \times x + 6,217824$$

$y$ : BSA [ $\mu\text{g/ml}$ ]  
 $x$ : Extinktionsmesswerte

**Formel 2: Berechnung der Proteinmenge in den Proben mithilfe der BSA-Kalibriergerade.**

In Abbildung 13 sind die Extinktionsmesswerte auf der x-Achse und die definierten Mengen an BSA-Protein [ $\mu\text{g/ml}$ ] auf der y-Achse dargestellt. Mithilfe der erhaltenen Ausgleichsline wurde im Weiteren der Proteingehalt unbekannter Proben anhand der gemessenen Extinktionswerte errechnet.

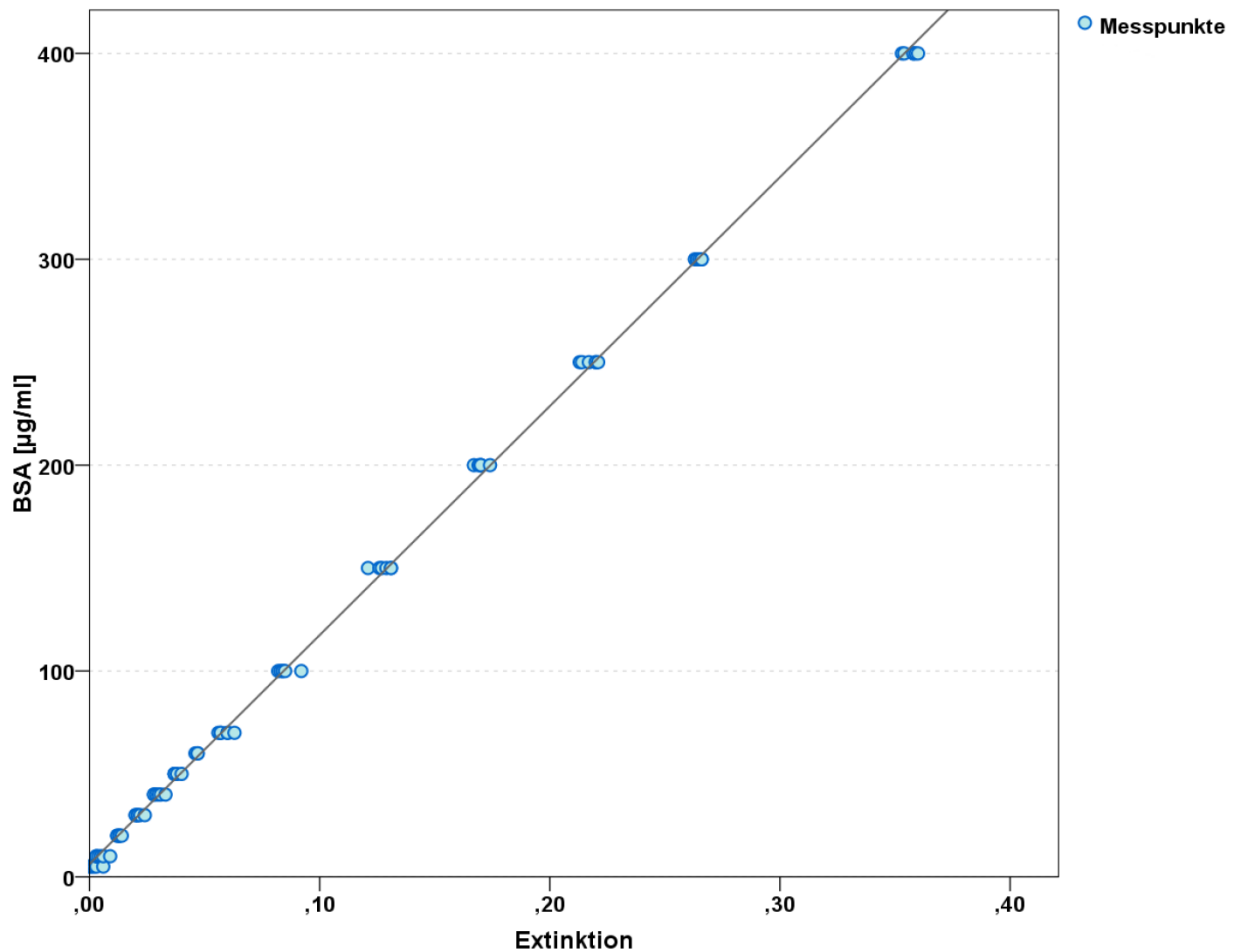


Abbildung 13: Die Ausgleichsgerade zwischen der gemessenen Extinktion und der definierten Menge an BSA-Protein.

## 7.2 Ergebnisse der Hauptversuche

Wie in Kapitel 6.3 beschrieben, wurden in den Hauptversuchen zur Feststellung der Reinigungseffizienz insgesamt 20 Schienen untersucht.

Die Schienen wurden für die Reinigungsversuche in einer vierfachen Cross-over-Studie mit Kalkulation der Drop-out-Rate ausgewertet.

Repräsentativ sind die Messwerte eines Probanden in Abbildung 14 dargestellt. Es wird deutlich, dass die ungereinigten Prüfkörper im Vergleich zu den gereinigten Prüfkörpern eine deutlich größere Menge an Proteinen in  $\mu\text{g}$  aufweisen. Der Maximalwert der ungereinigten Prüfkörper der 20 untersuchten Schienen reicht bis 252,7  $\mu\text{g}$  Protein und der Minimalwert liegt bei 70,2  $\mu\text{g}$  Protein. Der Maximalwert der gereinigten Prüfkörper liegt bei 76,9  $\mu\text{g}$  Protein und der Minimalwert bei 21,8  $\mu\text{g}$  Protein.



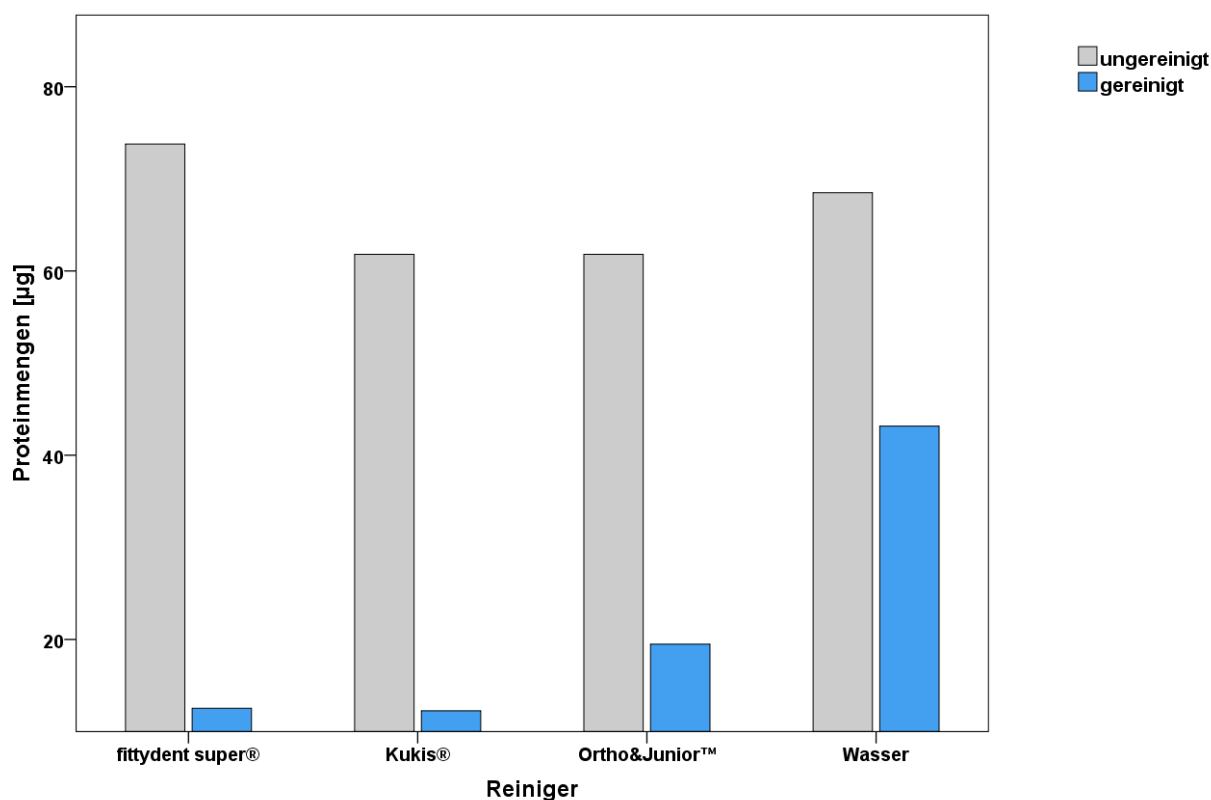


Abbildung 14: Säulendiagramm der Messwerte eines repräsentativen Probanden nach viertägigem Tragen. Auf der Ordinate sind die Mittelwerte der zweifach bestimmten Proteinmengen in µg angegeben und auf der Abszisse sind die 8 Prüfkörper differenziert.

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Proteinreduktion in Reinigungsprozent und der verbliebenen Proteinmengen nach Reinigung zur Beschreibung der Reinigungswirkung aufgeführt.

### 7.2.1 Reinigungsprozent

Die Ergebnisse der Reinigungswirkung in Prozent sind in Abbildung 15 dargestellt. Die Mediane für die Reiniger fittydent super® (Median: 86,8 %), Kukis® (Median: 79,8 %) und Ortho&Junior™ (Median: 81,8 %) liegen deutlich höher als der von Wasser (Median: 56,5 %). Betrachtet man die Mediane der Reiniger untereinander, wird deutlich, dass der Median für fittydent super® am höchsten und der für Kukis® am niedrigsten liegt. Es gab einen Ausreißer in der Messreihe für Kukis®.

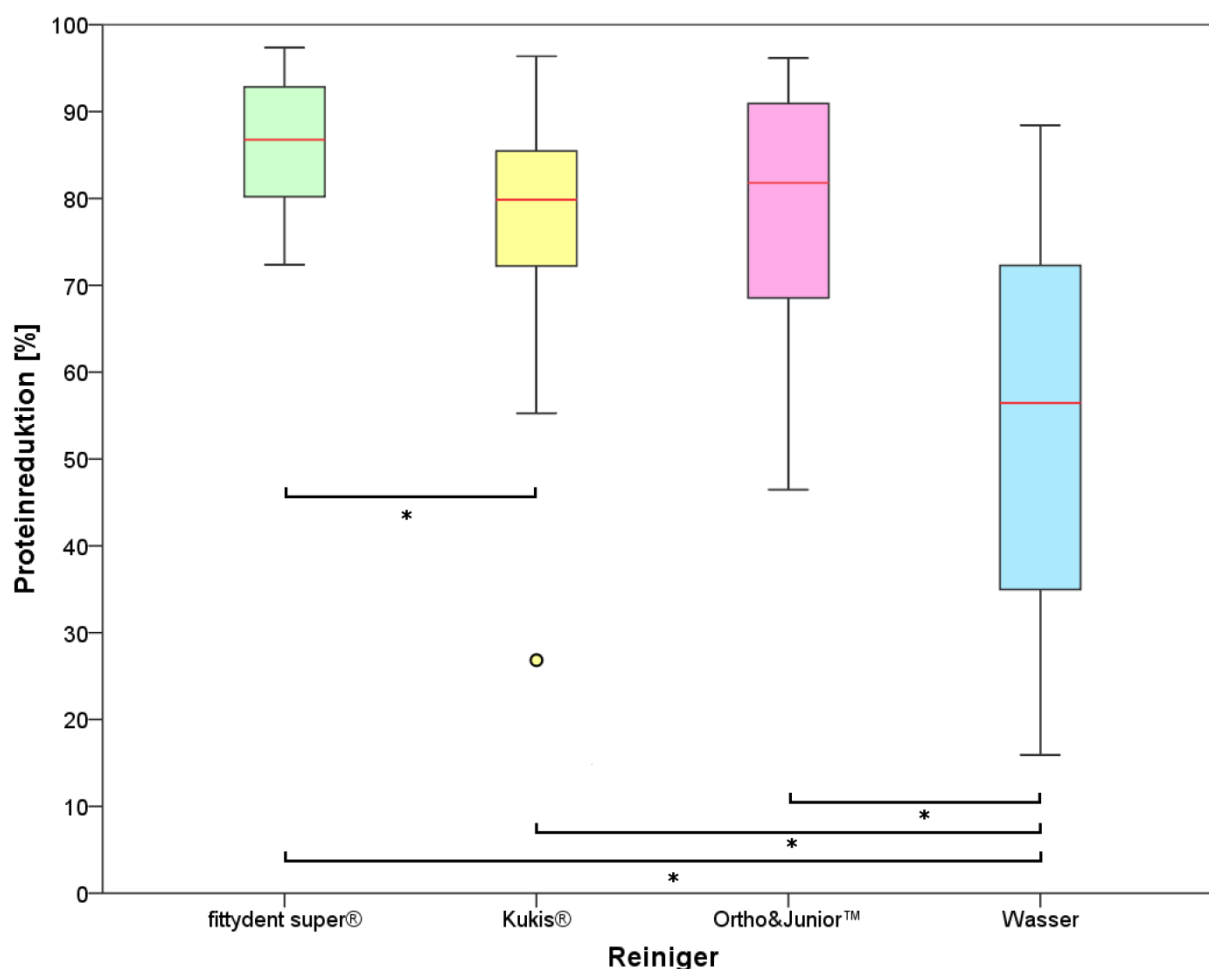


Abbildung 15: Boxplot-Diagramm mit Darstellung der Reinigungsprozente für die untersuchten Reiniger fittydent super®, Kukis®, Ortho&Junior™ sowie das Kontrollmedium Wasser. \*: signifikanter Unterschied,  $p < 0,0083$ .

Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse der zwei Tests zur Überprüfung der Normalverteilung. Die Verteilung der Werte für den Reiniger Kukis® weicht signifikant von einer Normalverteilung ab. Daher ist es in diesem Fall notwendig, nicht-parametrische Tests für den Vergleich der Ergebnisse zwischen den verschiedenen Reinigern zu verwenden.

Reiniger	Kolmogoroff-Smirnoff <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
fittydent super®	,117	20	,200	,949	20	,347
Kukis®	,178	20	,096	,864	20	,009
Ortho&Junior™	,137	20	,200	,935	20	,196
Wasser	,173	20	,120	,943	20	,273

\*. Dies ist die untere Grenze der echten Signifikanz.

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Tabelle 7: Ergebnisse des Kolmogoroff-Smirnoff- und des Shapiro-Wilk-Tests zur Prüfung auf Normalverteilung für die Reinigung in Prozent.

Um herauszufinden, ob ein globaler Unterschied bei der Reinigung in Prozent zwischen den verschiedenen Reinigern besteht, wurde der Friedman-Test durchgeführt (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ), der einen statistisch signifikanten Unterschied ergab:  $\chi^2(3) = 33,720$ ,  $p < 0,001$ .

Um zu ermitteln, wo die Unterschiede zwischen den Reinigern auftraten, wurde ein weiterer Test, der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, durchgeführt. Dazu wurden verschiedene Kombinationen abhängiger Gruppen anhand jeweils zweier gepaarter Stichproben geprüft. In Tabelle 8 sind zunächst die Reinigungsprozente der drei verschiedenen Reiniger paarweise mit der Reinigungswirkung [%] von Wasser verglichen worden und anschließend wurden die Reiniger paarweise untereinander verglichen. Zur  $\alpha$ -Adjustierung wurde die Bonferroni-Holm-Korrektur verwendet.

Reinigungsprozente	p-Wert	$\alpha$ -Adjustierung
Wasser vs. fittydent super <sup>®</sup>	< 0,001	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Wasser vs. Kukis <sup>®</sup>	0,003	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Wasser vs. Ortho&Junior <sup>™</sup>	< 0,001	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
fittydent super <sup>®</sup> vs. Kukis <sup>®</sup>	0,001	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Ortho&Junior <sup>™</sup> vs. Kukis <sup>®</sup>	0,411	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
fittydent super <sup>®</sup> vs. Ortho&Junior <sup>™</sup>	0,057	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$

**Tabelle 8:** Ergebnisse des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests sowie die Bonferroni-Holm-Korrektur zur  $\alpha$ -Adjustierung für die Reinigungswirkung in Prozent. Die in Rot dargestellten p-Werte sind nicht signifikant.

Die Verteilungsfunktion für die Reinigungswirkung in Prozent aller Reiniger ist in Abbildung 16 dargestellt. Die Verteilungsfunktion beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass die Reinigungsprozente einen Wert kleiner oder gleich  $\alpha$  annehmen. Die minimale von der RKI-Richtlinie geforderte Verschmutzungsreduktion von 50 % ist hier durch eine gestrichelte senkrechte Linie in Schwarz gekennzeichnet.

Ausschlaggebend ist die Kenntnis über die Größe der Wahrscheinlichkeit, dass die Reinigung mehr als 50 % der Proteinauflagerungen entfernt. Diese Wahrscheinlichkeit wurde mit der Komplementärwahrscheinlichkeit errechnet.

fittydent super® erfüllt zu 100 %, Kukis® zu 95 %, Ortho&Junior™ zu 95 % und Wasser zu 50 % die Reinigungsdefinition gemäß der RKI-Richtlinie<sup>5</sup>.

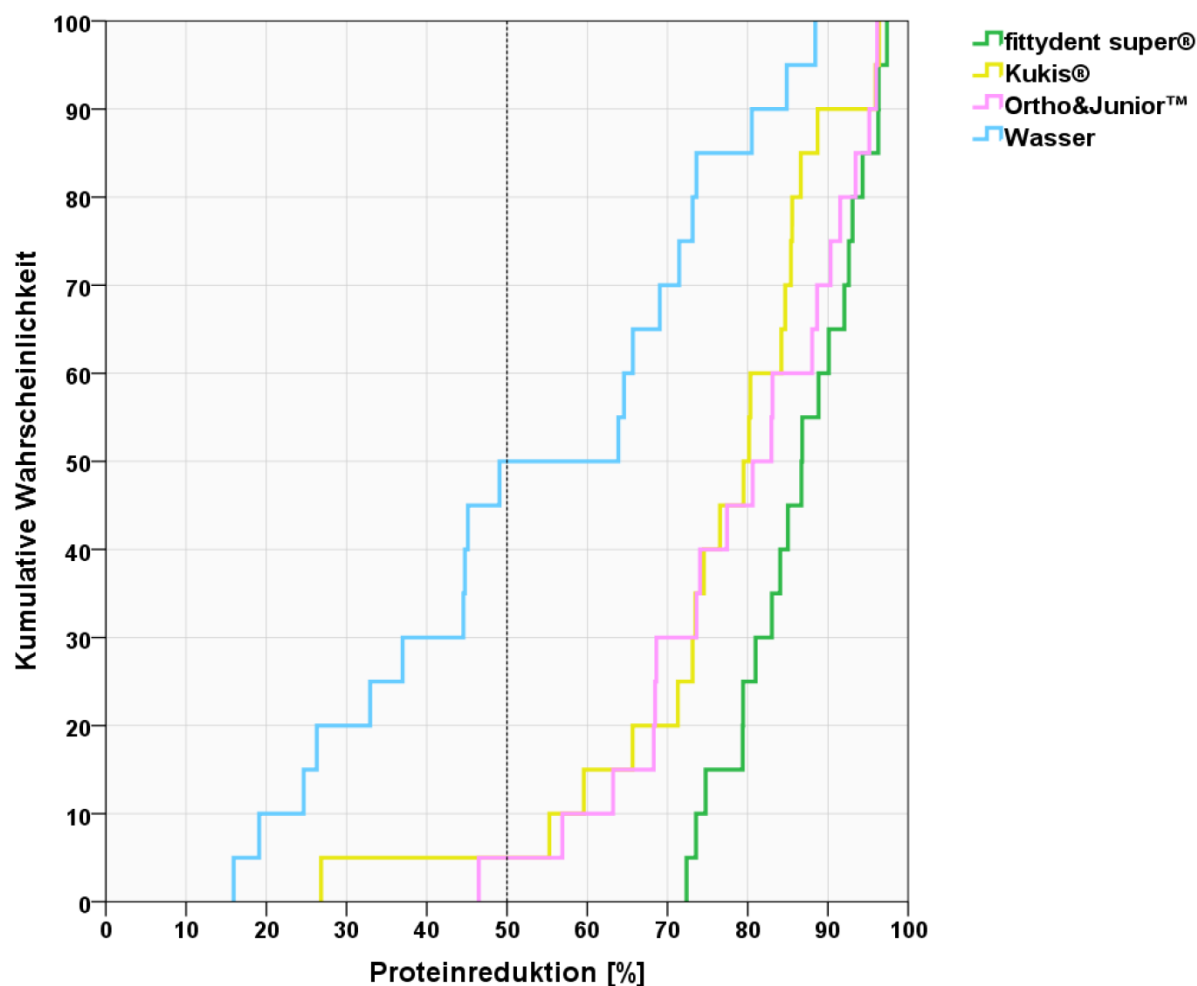


Abbildung 16: Kumulative Verteilungsfunktion für die Reinigungswirkung in Prozent der Reiniger und von Wasser.

## 7.2.2 Verbliebene Proteinmenge

Die Reinigungsleistung wurde neben der Verschmutzungsreduktion in Prozent auch als verbliebene Proteinmenge angegeben, das heißt unabhängig von der Proteinmenge am Anfang.

Abbildung 17 stellt die untersuchten Reiniger dem Kontrollmedium Wasser gegenüber; angegeben ist die verbliebene Proteinmenge in  $\mu\text{g}$ . Die Mediane für die Reiniger fittydent super<sup>®</sup> (Median: 11,4  $\mu\text{g}$ ), Kukis<sup>®</sup> (Median: 13,0  $\mu\text{g}$ ) und Ortho&Junior<sup>™</sup> (Median: 14,1  $\mu\text{g}$ ) liegen deutlich niedriger als der Median von Wasser (Median: 30,4  $\mu\text{g}$ ). Betrachtet man die Reiniger untereinander, wird deutlich, dass fittydent super<sup>®</sup> am wenigsten Proteine zurücklässt.

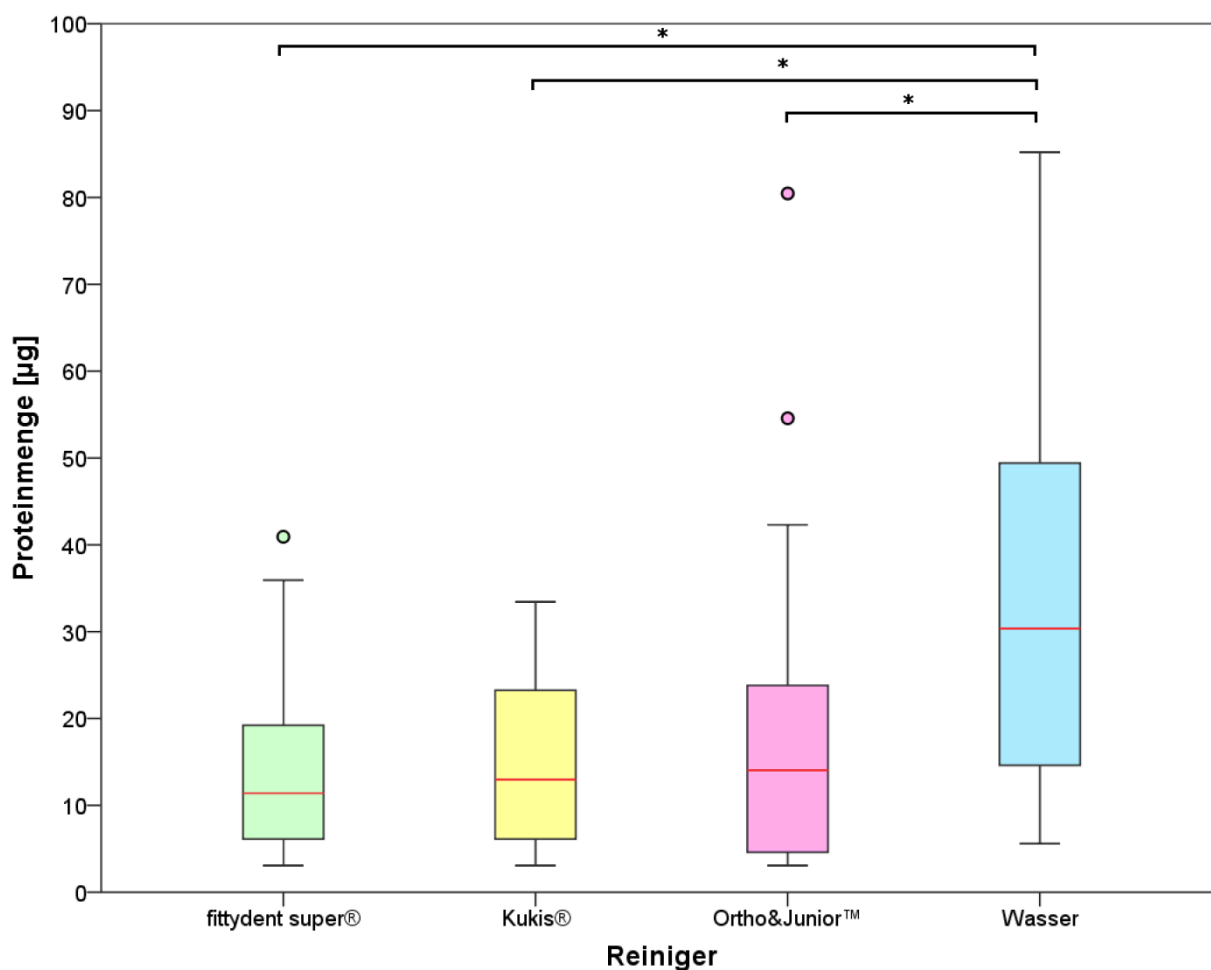


Abbildung 17: Boxplot-Darstellung der verbliebenen Proteinmengen in  $\mu\text{g}$  für die untersuchten Reiniger fittydent super<sup>®</sup>, Kukis<sup>®</sup>, Ortho&Junior<sup>™</sup> sowie das Kontrollmedium Wasser. Die Ausreißer sind mit farbigen Kreisen gekennzeichnet. \*: signifikanter Unterschied,  $p < 0,0083$ .

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse des Kolmogoroff-Smirnoff-Tests und des Shapiro-Wilk-Tests zur Überprüfung auf Normalverteilung. Die Verteilung der verbliebenen Proteinmengen wich für die Reiniger fittydent super<sup>®</sup> und Ortho&Junior<sup>™</sup> im Shapiro-Wilk-Test signifikant von einer Normalverteilung ab. Demzufolge wurden für den

Vergleich der Ergebnisse zwischen den verschiedenen Reinigern nicht-parametrische Tests angewendet.

	Reiniger	Kolmogoroff-Smirnoff <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
Verbliebene Proteinmenge	fittydent super <sup>®</sup>	,204	20	,029	,864	20	,009
	Kukis <sup>®</sup>	,131	20	,200	,922	20	,109
	Ortho&Junior <sup>™</sup>	,225	20	,009	,770	20	,000
	Wasser	,154	20	,200	,933	20	,173

\*. Dies ist die untere Grenze der echten Signifikanz.

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

**Tabelle 9: Ergebnisse des Kolmogoroff-Smirnoff- und des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung für die verbliebene Proteinmenge.**

Zur Feststellung eines globalen Unterschieds zwischen den verschiedenen Reinigern wurde der Friedman-Test durchgeführt (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ). Die Ergebnisse für alle 20 Schienen wiesen, abhängig vom verwendeten Reiniger, einen statistisch signifikanten Unterschied in der verbliebenen Proteinmenge auf:  $\chi^2(3) = 20,938, p < 0,001$ .

Um zu ermitteln, an welchen Stellen zwischen den Reinigern die Unterschiede auftraten, wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt. In Tabelle 10 sind zunächst die verbliebenen Proteinmengen der drei verschiedenen Reiniger paarweise mit der verbliebenen Proteinmenge nach 10 Minuten Lagerung in Wasser verglichen worden und anschließend wurden die Reiniger paarweise miteinander verglichen. Zur  $\alpha$ -Adjustierung wurde die Bonferroni-Holm-Korrektur verwendet.

Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen allen untersuchten Reinigern und Wasser. Die Resultate für die Reiniger untereinander zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Verbliebene Proteinmenge	p-Wert	$\alpha$ -Adjustierung
Wasser vs. fittydent super <sup>®</sup>	< 0,001	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Wasser vs. Kukis <sup>®</sup>	0,001	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Wasser vs. Ortho&Junior <sup>™</sup>	0,005	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
fittydent super <sup>®</sup> vs. Kukis <sup>®</sup>	0,679	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
fittydent super <sup>®</sup> vs. Ortho&Junior <sup>™</sup>	0,338	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$
Ortho&Junior <sup>™</sup> vs. Kukis <sup>®</sup>	0,811	$\alpha = \frac{0,05}{6} = 0,0083$

Tabelle 10: Ergebnisse des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests sowie der Bonferroni-Holm-Korrektur zur  $\alpha$ -Adjustierung für die verbliebenen Proteinmengen. Die in Rot dargestellten p-Werte sind nicht signifikant.

Die kumulative Verteilungsfunktion für die verbliebene Proteinmenge aller Reiniger ist in Abbildung 18 dargestellt. Die kumulative Verteilungsfunktion beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass die verbliebene Proteinmenge einen Wert kleiner oder gleich  $\alpha$  annimmt. Gemäß DIN EN ISO-Standard 158831-1 muss als Akzeptanzkriterium für die Reinigung der Extinktionswert < 0,020 ( $\cong$  28,404  $\mu$ g Protein) betragen. Dieser Wert ist in Abbildung 18 durch eine gestrichelte senkrechte Linie gekennzeichnet. fittydent super<sup>®</sup> erfüllt zu 85 %, Kukis<sup>®</sup> zu 90 %, Ortho&Junior<sup>™</sup> zu 85 % und Wasser zu 45 % die Reinigungsdefinition gemäß DIN EN ISO-Standard.

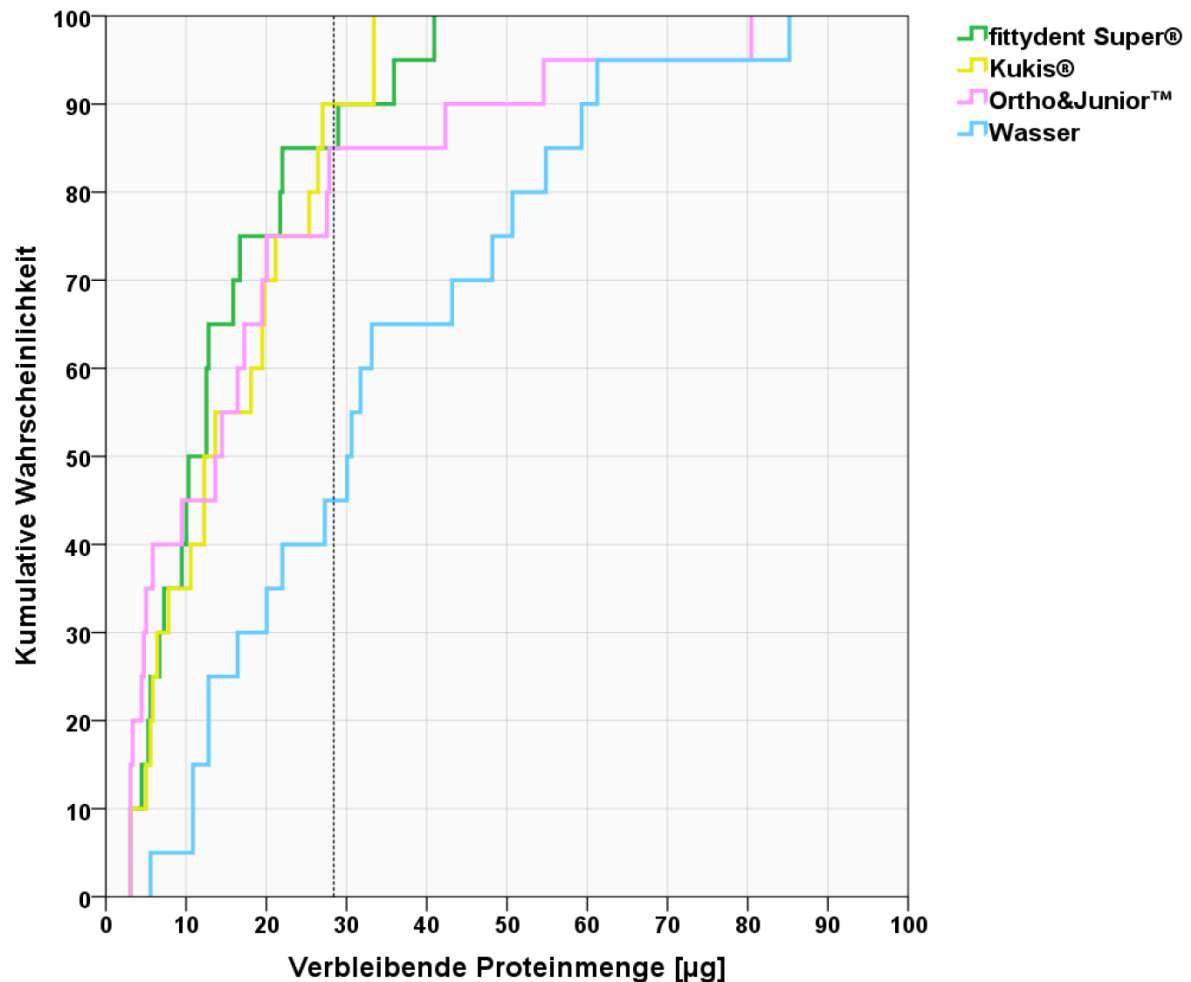


Abbildung 18: Kumulative Verteilungsfunktion für die verbliebene Proteinmenge aller Reiniger und Wasser.

### 7.3 Lokalisationsspezifische Proteinakkumulation

Die in den Hauptversuchen gesammelten Daten der ungereinigten Prüfkörper wurden darüber hinaus zur Überprüfung eines lokalisationsspezifischen Effektes auf die Proteinakkumulation genutzt.

Die Prüfkörper wurden in einer Schiene an vier verschiedenen Stellen im Bereich des Gaumens positioniert und, wie in Abbildung 6 zu sehen ist, mit A, B, C und D gekennzeichnet.

Der Kolmogoroff-Smirnoff- und Shapiro-Wilk-Test dienen zur Überprüfung, ob die Proteinmenge der unterschiedlich positionierten Prüfkörper ( $A_1$ ,  $B_1$ ,  $C_1$  und  $D_1$ ) normalverteilt ist. Die Ergebnisse in Tabelle 11 zeigen, dass die Proteinmengen auf den Prüfkörpern in Position  $A_1$ ,  $B_1$  und  $D_1$  signifikant von einer Normalverteilung abweichen. Der daher eingesetzte non-parametrische Friedman-Test macht deutlich, dass kein



statistisch signifikanter Unterschied in der Proteinmenge auf den unterschiedlich positionierten Prüfkörpern A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, C<sub>1</sub> und D<sub>1</sub> besteht:  $\chi^2(3) = 1,794$ ,  $p < 0,616$ .

Position	Kolmogoroff-Smirnoff <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz	
Proteinmenge	A <sub>1</sub>	,247	20	,002	,789	20	,001
	B <sub>1</sub>	,170	20	,131	,892	20	,029
	C <sub>1</sub>	,137	20	,200*	,924	20	,121
	D <sub>1</sub>	,169	20	,139	,895	20	,033

\*. Dies ist die Untergrenze der tatsächlichen Signifikanz.

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

**Tabelle 11: Ergebnisse des Kolmogoroff-Smirnoff- und des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung für die Proteinmengen bezogen auf die verschiedenen Positionen der Prüfkörper.**

## 8 Diskussion

### 8.1 Diskussion der Aufgabenstellung

In der vorliegenden Studie sollte die Reinigungswirkung dreier verschiedener kommerziell angebotener Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Geräte sowohl untereinander als auch in Relation zu Wasser vergleichend untersucht werden. Studien von Diedrich<sup>28</sup> und Lessa et al.<sup>79</sup> zeigten, dass Reinigungstabletten zum Reinigen herausnehmbarer kieferorthopädischer Apparaturen wirksam sind. Durch die Gasentwicklung reinigen sie auch Bereiche, die einer Schmutzentfernung mit einer Zahnbürste kaum zugänglich sind<sup>29</sup>. Gleichzeitig wurde beobachtet, dass sie nicht ganz unbedenklich sind. Bei der Lagerung der metallischen Anteile kieferorthopädischer Platten kam es in Abhängigkeit vom verwendeten Reinigertyp zu Korrosionserscheinungen<sup>75, 117</sup>.

Laut einer Umfrage<sup>36</sup> empfehlen 37 % der Kieferorthopäden in Deutschland chemische Reiniger. Allerdings ist unklar, welche der vielen auf dem Markt erhältlichen Reiniger eine ausreichende Reinigung erzielen.

Bisher existiert keine Studie, die in vivo die Reinigungseffizienz von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen mithilfe einer Proteinnachweismethode untersucht hat.

### 8.2 Diskussion der Materialien

#### 8.2.1 Reiniger und ihre Wirkung

Zur Untersuchung der Fragestellungen wurden drei unterschiedliche kommerziell erhältliche, selbsttätige Reiniger verwendet. Ein Kriterium für die Auswahl der Reiniger war die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Reiniger. Demzufolge wurden nur Reinigungstabletten eingesetzt, damit Unterschiede in der Wirkungsweise bedingt durch verschiedene Darreichungsformen (Tabletten, Pulver, Lösungen) ausgeschlossen werden. Ein weiteres Kriterium für die ausgewählten Reiniger war, dass sie in Deutschland verfügbar sind. Laut Eichenauer et al.<sup>36</sup> werden in Deutschland in den kieferorthopädischen Praxen am häufigsten unter den chemischen Reinigern die Reinigungstabletten Kukis<sup>®</sup> empfohlen. Um festzustellen, ob diese Empfehlung

hinsichtlich Reinigungsleistung gerechtfertigt ist, wurde der Reiniger Kukis<sup>®</sup> untersucht. Ein Vergleich erfolgte mit zwei Mitstreiter Produkten (Ortho&Junior<sup>™</sup> und fittydent super<sup>®</sup>), die nachweislich Plaque reduzieren und Kontaminationen entfernen<sup>78, 140</sup>.

Das Wirkprinzip der Reinigungstabletten beruht laut Dürr et al. unter anderem auf deren heftiger Gasentwicklung beim Auflösen<sup>33</sup>. Die aufsteigenden Gasblasen beziehungsweise der entstehende Sauerstoff begünstigen den mechanischen Abtrag von Speiseresten<sup>35</sup>. Brauner et al.<sup>17</sup> schrieben 1987: „Schnellreinigertabletten stellen im wesentlichen unter hohem Druck zu Tabletten verpreßte pulvrige Substanzmischungen dar, die unter dem Einfluß eines wäßrigen Mediums sowohl Sauerstoff in statu nascendi als auch Kohlendioxid entwickeln. Um den erwünschten Reinigungsprozeß zu unterstützen, enthalten die Zubereitungen meist noch folgende Substanzen: Phosphate und Komplexbildner zur Wasserenthärtung, Tenside zum Aufbau einer »Waschflotte« sowie Geruchskorrigenzien und Tablettierungshilfsmittel.“

Die auf dem Markt erhältlichen Reinigungstabletten sollen laut Herstellerangaben unterschiedlich lange einwirken<sup>41</sup>. Unter den verwendeten Reinigern weist Kukis<sup>®</sup> mit 10 Minuten die kürzeste Einwirkzeit auf, gefolgt von NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> (15 Minuten) und fittydent super<sup>®</sup> (30 Minuten)<sup>41</sup>. Wasser als Kontrollmedium erhielt wie Kukis<sup>®</sup> die kürzeste Einwirkzeit von 10 Minuten, weil Kukis<sup>®</sup> Sauberkeit in nur 10 Minuten verspricht<sup>41</sup>. Daran müssen sich Wasser und die anderen Reiniger messen lassen<sup>41</sup>. Für zukünftige Studien kann man zwei Kontrollmedien verwenden, damit man die Einwirkzeiten der Kontrollmedien sowohl nach der kürzesten als auch nach der längsten Einwirkzeit der Reiniger ausrichtet.

Die verschiedenen Einwirkzeiten der Reiniger und deren Effekte auf die Reinigungswirkung werden im Kapitel 8.4 (S. 69-70) diskutiert.

Die internationale Literatur zeigt, dass die hier überprüften Reiniger bereits durch andere Autoren, unter anderem auch für Bereiche der zahnärztlichen Prothetik, untersucht wurden. Mehrere Studien haben die Wirksamkeit von fittydent super<sup>®</sup> gegen eine Kolonisierung von Prothesenkunststoffen mit *Candida* spp. (*Candida albicans*) untersucht<sup>69, 79, 100</sup>. Eine Studie aus dem Jahr 1997, die sich auch mit fittydent super<sup>®</sup> beschäftigte, evaluierte allgemein die Entfernung von Kontaminationen auf Zahnersatz im Vergleich zu anderen Reinigern<sup>78</sup>.

Die Wirksamkeit von NitrAdine<sup>®</sup> wurde sowohl gegenüber *Candida albicans* auf herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen untersucht<sup>27</sup> als auch auf die

Plaquereduktion auf Totalprothesen<sup>128</sup> und herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen<sup>140</sup>.

Im Vergleich zu den Reinigern fittydent super<sup>®</sup> und NitrAdine<sup>®</sup> ist die Reinigungswirkung von Kukis<sup>®</sup> wenig untersucht worden<sup>17, 34, 114</sup>.

Bis heute existiert keine Studie, die die gleichen Reiniger wie in der vorliegenden Arbeit untersucht hat. Ein Vergleich der Reiniger zwischen verschiedenen Studien fällt schwer, da entweder in vivo<sup>27, 80</sup> oder in vitro untersucht wurde<sup>29, 140</sup> und die Auswertungsmethoden<sup>27, 29, 80, 140</sup>, Prüfkörper<sup>80, 140</sup> und Materialien<sup>80, 140</sup> sich unterscheiden. Zudem ist die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, dass die Reinigungseigenschaften der Reiniger im Laufe der Zeit durch Weiterentwicklungen verbessert wurden und somit der Vergleich der Reiniger in verschiedenen Zeitperioden kritisch zu betrachten ist.

In der Literatur besteht Einigkeit darüber, dass in die Mundhöhle eingebrachte künstliche Materialien für Prothesen<sup>2, 104</sup> oder kieferorthopädische Plattenapparaturen<sup>10</sup>, wie zum Beispiel Kunststoffe aus Polymethylmethacrylat, die Keimzahl erhöhen. Verschiedene Reinigungsmethoden<sup>29, 36</sup> und auch Reinigungsmittel<sup>33, 80</sup> können zur Reduzierung dieses Problems beitragen. Zahlreiche Studien belegen, dass chemische Reiniger, besonders selbsttätige Reinigungstabletten, zu einer Plaquereduzierung<sup>22, 140</sup> führen, einige Reiniger sogar eine antimikrobielle<sup>74, 22</sup> oder antimykotische<sup>27, 69, 100, 140</sup> Wirkung haben.

Neben ihrer Reinigungswirkung wurde beobachtet, dass chemische Reiniger nicht selten bleibende Schäden an metallischen Strukturen hinterlassen und somit als kritisch zu betrachten sind<sup>44, 75</sup>. Diesen Aspekt beleuchteten Rabe et al.<sup>117</sup>. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen haben gezeigt, dass bei Lagerung der metallischen Anteile kieferorthopädischer Platten in *„Abhängigkeit vom verwendeten Reinigertyp schon nach wenigen Reinigungszyklen unterschiedliche Gefüge- und Festigkeitsänderungen beobachtet werden.“*<sup>117</sup> Während Brauner et al.<sup>17</sup> feststellten, dass sich Kukident im Vergleich zu den anderen getesteten Reinigern als korrosiver erwies, kamen Pitner et al.<sup>114</sup> zu dem Ergebnis, dass passivierbare Legierungen (Nickel und 18/8 Stahl) von Kukis<sup>®</sup> Reinigungsbädern unter den üblichen Bedingungen nicht angegriffen werden. Dürr et al.<sup>33</sup> fanden, *„dass unter den genannten Versuchsbedingungen zwischen den verwendeten Reinigern und einer Vergleichslösung aus destilliertem Wasser hinsichtlich der gemessenen Belagreduktion kein auffälliger Unterschied besteht“*. Diedrich<sup>29</sup> hingegen konstatiert, *„dass die Bürstenreinigung allein ungeeignet ist, um eine wirksame Reinigung der hygienekritischen Areale einer Platte zu erzielen.“*

*Reinigungstabletten und Ultraschallanwendung hingegen führten zu einer vergleichsweise besseren Säuberung auch schwer zugänglicher, plaqueakkumulierender Bereiche“.*

Vor diesen Hintergründen scheinen die Einwirkzeit, die Anwendungsdauer, die Zusammensetzung der Reiniger sowie die Art der Metallegierung einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die Materialien zu haben. Beleuchten sollte man auch den Aspekt, wie sich die regelmäßige Anwendung von chemischen Reinigern auf andere in der Kieferorthopädie eingesetzte Materialien herausnehmbarer Apparaturen verhält. Nicht zuletzt spielt auch die Biokompatibilität der chemisch gereinigten Apparaturen, die wieder in den Mund eingesetzt werden, eine wichtige Rolle. Wie die Literatur zeigt, ist noch kein Wunderreinigungsmittel erfunden worden, das allen Anforderungen und Erwartungen gerecht wird.

### 8.2.2 Prüfkörper

Verschiedene Autoren haben für ihre In-vivo-Untersuchungen unterschiedliche Versuchsapparaturen verwendet. Bei Diedrich<sup>29</sup> dienten “echte“ kieferorthopädische Geräte, nämlich aktive Ober- und Unterkieferplatten aus Kaltpolymerisat, zur Überprüfung der verschiedenen Reinigungsverfahren. Dadurch konnte unter realitätsnahen Bedingungen eine Keimbesiedlung sowohl auf dem Plattenkörper als auch an den Metallteilen erfolgen. Lessa et al.<sup>80</sup> verwendeten für den Oberkiefer ihrer Probanden einen gaumenbedeckenden Plattenkörper aus Acryl-Kunststoff, jedoch ohne Metallanteile. In beiden Studien boten die großen Akkumulationsflächen für Plaque eine suffiziente und zuverlässige Untersuchungsgrundlage.

Abweichend davon wurden in einer In-vitro-Studie von Dürr et al.<sup>33</sup> Testplatten aus PMMA-Heißpolymerisat und Orthocryl-Kaltpolymerisat der Größe 50x20x3 mm<sup>3</sup> zur Bewertung verschiedener Reinigungspräparate hergestellt. Allerdings unterschied sich die Methode zur Bewertung der Reinigungseigenschaften von der hier angewendeten Methode.

Im Rahmen von Vorversuchen zur vorliegenden Pilotstudie haben sich runde PMMA-Plättchen mit einem Durchmesser von 6,4 mm und einer Dicke von 1,5 mm bewährt. Sicherlich wären auch größere PMMA-Plättchen denkbar und vielleicht sogar einfacher in der Handhabung für die Auswertung gewesen, jedoch wurden größere Plättchen im

Bereich des Gaumens nicht durch die Probanden toleriert. Kleinere Plättchen waren in Bezug auf die sich ansammelnde Plaquemenge unzureichend.

Die hier verwendeten Plättchen waren kleiner als die Prüfkörper anderer Studien<sup>29, 33, 80</sup>, boten aber dennoch ausreichend Anlagerungsfläche für Plaque.

Die Reinigungswirkung der hier eingesetzten Reiniger wurde auf Prüfkörpern aus Orthocryl<sup>®</sup> untersucht, einem Kaltpolymerisat, hergestellt nach der Anteigmethode.

Weitere Materialien, die vor allem in jüngerer Zeit für transparente Schienenapparaturen immer mehr zum Einsatz kommen, sind Polyurethane. Interessant ist herauszufinden, ob die untersuchten Reiniger einen Einfluss auf die Materialien für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen haben.

Die in dieser Pilotstudie eingesetzten Prüfkörper aus rosafarbenem PMMA-Kunststoff (Orthocryl<sup>®</sup>) wurden nicht poliert. Bei der Herstellung führten jedoch zwei Glasplatten, zwischen die die Prüfkörper manuell gepresst wurden, zu einer glatten, glänzend erscheinenden Oberfläche. Eine Materialrauigkeit von mehr als 0,2 µm bietet die Voraussetzung für eine Plaque Akkumulation<sup>82, 143</sup>. Die Materialrauigkeit wurde in dieser Studie nicht gemessen, da zum Vergleichen der Reiniger die Proteinreduktion in Prozent herangezogen wurde. Somit konnte ein Unterschied der akkumulierten Proteinmengen vor Reinigung zwischen den Prüfkörpern vernachlässigt werden.

Zudem können verarbeitungsbedingte Porositäten im Material eine adäquate Politur von Kunststoffoberflächen sowie deren tägliche Reinigung durch vermehrte mikrobielle Akkumulation erschweren<sup>130</sup>. Um möglichst einheitliche Prüfkörper herzustellen und verarbeitungsbedingte oder politurbedingte Einflussfaktoren zu reduzieren, wurden die Prüfkörper zwischen Glasplatten polymerisiert. Die eingesetzten Gummibänder dienten zum Fixieren der Glasplatten. Sie waren nicht standardisiert und übten aufgrund ihrer Elastizität keine gleichmäßige Kraft auf die gesamten Prüfkörperflächen aus. Für zukünftige Studien wäre daher das Verwenden einer gleichmäßigen Kraft (z. B. ein konstantes Gewicht) zum Andrücken der Glasplatten empfehlenswert.

## 8.3 Diskussion der Methoden

### 8.3.1 Simulierte kieferorthopädische Apparatur

Für diese Untersuchung wurde ein vierfaches Cross-over-Studiendesign entworfen, das interindividuelle und intraindividuelle Unterschiede der Probanden ausgleichen sollte.

Lessa et al. haben 2007 in einer In-vivo-Evaluationsstudie zur bakteriellen Kontamination und Desinfektion von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen zwei unterschiedliche Reiniger und Wasser als Kontrollmedium an zwanzig Patienten untersucht, die in drei Versuchsgruppen eingeteilt worden waren<sup>80</sup>. Jeder Teilnehmer wurde aufgefordert, drei verschiedene kieferorthopädische Plattenapparaturen für jeweils eine Woche zu tragen. Jede Apparatur eines Teilnehmers wurde entweder mit einem der zwei Reiniger oder Wasser gereinigt. Gleichwohl Lessa et al. durch ihre Cross-over-Studie interindividuelle Unterschiede der Probanden ausgeschaltet haben, ist unklar, ob Verhaltensweisen wie zum Beispiel Essgewohnheiten, Mundhygienestatus und Reinigungsintervalle der Probanden in den unterschiedlichen Versuchszeiträumen einen Einfluss auf die Verunreinigungsmenge oder Verunreinigungsqualität der Prüfkörper hatten. Um auch dieses potenzielle Problem zu umgehen, wurde in der vorliegenden Pilotstudie wie in Kapitel 5.3 beschrieben, für jeden Probanden eine Apparatur gebaut, in die vier Prüfkörper eingearbeitet waren. Je ein Prüfkörper wurde verwendet, um die Reinigungseffizienz eines Reinigers bzw. des Kontrollmediums Wasser zu evaluieren. Somit konnte ein Proband zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen eine Apparatur mit vier Prüfkörpern tragen, so dass nicht nur interindividuelle Unterschiede der Probanden eliminiert wurden, sondern auch intraindividuelle Unterschiede. Darüber hinaus konnte durch dieses Studiendesign der gesamte Untersuchungszeitraum stark reduziert werden, da die Probanden lediglich für einen einmaligen 4-tägigen Testlauf in Anspruch genommen wurden.

In der Studie von Lessa et al.<sup>80</sup> erstreckte sich die Versuchsdauer für die Probanden über drei Wochen. Dagegen untersuchte Diedrich<sup>29</sup> in einem In-vivo-Versuch mit einem ähnlichen Cross-over-Studiendesign drei Reinigungsverfahren mithilfe von zehn Patienten in einem Zeitraum von drei Monaten.

Die Auswahl der Reiniger, mit denen ein Prüfkörper gereinigt werden sollte, unterlag von Proband zu Proband einem zufälligen Wechsel, um so lokalisationspezifische Einflüsse auf die Proteinakkumulation zu vermeiden (Tabelle 6).

Auschill et al.<sup>7</sup> konnten belegen, dass die Plaquedicke am Gaumen signifikant geringer ist als an den bukkalen Stellen im Oberkiefer und Unterkiefer. Das unterschiedliche Plaquewachstum könnte damit erklärt werden, dass die palatinalen Versuchsflächen entfernter von der Mikroflora der Zähne und näher an der Mukosaoberfläche liegen<sup>7</sup>. Addy et al.<sup>3</sup> stellten fest, dass die palatinalen Plaquemengen bei Trägern von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen signifikant höher waren als bei

Probanden, die keine Apparatur getragen haben. Hibino et al.<sup>65</sup> kamen in Bezug auf die *Candida* spp. Prävalenz zu dem Ergebnis, dass die Flächen am Gaumen signifikant höhere *Candida* spp. Werte zeigten als andere intraorale Flächen, wobei die höchste Prävalenz im posterioren und anterioren Gaumenbereich vorlag. Da die verschiedenen Studien gegensätzliche Ergebnisse über die akkumulierte Proteinmenge am Gaumen liefern, sollte eine Randomisierung in der vorliegenden Studie potenzielle Einflüsse einer ortsspezifischen mikrobiellen Besiedlung reduzieren. Die in Kapitel 7.3 vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass kein statistisch signifikanter Unterschied der Proteinmengen auf den Prüfkörpern in den Positionen A, B, C und D vorhanden war.

### 8.3.2 OPA-Methode

Bereits binnen weniger Tage kann bei ausbleibender Zahnpflege Plaque auf der Zahnoberfläche entstehen<sup>18</sup>. 100 mg Feuchtgewicht einer Plaque enthalten  $10^{11}$  Bakterien<sup>18, 101</sup>. Die an der Entstehung von Biofilmen, Plaque und Zahnstein beteiligten Bakterien bestehen im Wesentlichen aus Proteinen<sup>18, 63, 101</sup>. Sowohl die zytoplasmatische Membran als auch die Zellwand der Bakterien setzt sich aus Proteinen zusammen<sup>18, 63, 101</sup>. Neben den Mikroorganismen befinden sich noch weitere proteinogene Bestandteile in der Mundhöhlenflora, z. B. Speichelproteine und mit der Nahrung aufgenommene Proteine, die sich in der vorliegenden Studie auf den Prüfkörpern binnen vier Tagen gesammelt haben.

In der Pilotstudie wurde die modifizierte OPA-Methode zur Proteinbestimmung eingesetzt, die als Standardmethode zur Ermittlung der Reinigungswirkung dient<sup>52, 94</sup>. Laut der Norm für Reinigungs- und Desinfektionsgeräte DIN EN ISO 15883<sup>30</sup> sind zwei weitere Prüfmethode anerkannt, mit denen ebenfalls eine Überprüfung auf Proteinrückstände möglich ist, die jedoch für diese Studie nicht in Frage kamen.

Die Ninhydrin-Methode liefert als qualitative Proteinnachweismethode keine quantitativen Ergebnisse<sup>30</sup>. Als Wischtest zur Ja-/Nein-Prüfung für Proteine muss die Abstrichfläche mindestens  $5 \text{ cm}^2$  und höchstens  $50 \text{ cm}^2$  groß sein<sup>30</sup>. Da die hier verwendeten Prüfkörper eine Größe von  $89,02 \text{ mm}^2$  aufwiesen, war die Ninhydrin-Methode keine Alternative.

Ähnlich verhält es sich mit der halbquantitativen Biuretmethode, bei der mithilfe eines Tupferverfahrens Proteinrückstände auf Medizinprodukten ermittelt werden<sup>30</sup>. Hier sollte



die Flächengröße etwa 10 cm<sup>2</sup> betragen<sup>30</sup>, so dass auch diese Methode als Prüfverfahren ausschied.

Unter den erwähnten Methoden erwies sich die modifizierte OPA-Methode als einzige für diese Pilotstudie geeignete quantitative Proteinbestimmungsmethode<sup>52, 94</sup>.

Sie kann für die Quantifizierung der Proteine in den Eluaten, sprich zur Ermittlung des Restproteingehalts auf Prüfkörpern, eingesetzt werden. Sie zeichnet sich aus durch ihre extrem hohe Empfindlichkeit<sup>42</sup>. Allerdings ist eine Laboreinrichtung erforderlich und der Untersucher muss mit photometrischen Messmethoden vertraut sein<sup>42, 95</sup>. Obwohl viele Autoren<sup>76, 88, 118</sup> die modifizierte OPA-Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung präferieren, stellt sie nicht die perfekte Methode dar. Ein Fingerabdruck auf dem Küvettendeckel oder jegliche Trübungen im SDS-Eluat können das Ergebnis verfälschen<sup>30, 42</sup>. Auch Kunststoffmaterialien (PMMA) können durch Freisetzung von Weichmachern, die unter Umständen bei der Probengewinnung in Lösung gehen, die OPA-Reaktion beeinträchtigen<sup>30, 95</sup>. Im Rahmen der Vorversuche konnte dies ausgeschlossen werden, denn keines der eingesetzten Materialien zur Prüfkörperherstellung verfälschte das Ergebnis (vgl. Abschnitt 6.2.1). Des Weiteren ist es erforderlich, das OPA-Reagenz täglich frisch herzustellen und besonders darauf zu achten, dass das in die Küvetten pipettierte Probenvolumen je OPA-Ansatz zum Vermessen immer exakt gleich ist, gut durchmischt ist, und saubere sowie trockene Quarzküvetten verwendet werden<sup>42</sup>. Zur Reduzierung der Fehlerquote wäre die Verwendung von Einmalküvetten möglich gewesen<sup>88</sup>.

Die modifizierte OPA-Methode hat sich für diese Pilotstudie als eine sehr präzise und hochempfindliche Methode bewährt, die aber sehr zeitintensiv ist.

### 8.3.3 Diskussion der Reinigung

Wie beschrieben, ist die Reinigung laut einer Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI) definiert, als *“ein Prozess zur Entfernung von Verunreinigungen unter Verwendung von Wasser mit reinigungsverstärkenden Zusätzen [...], ohne dass bestimmungsgemäß eine Abtötung/Inaktivierung von Mikroorganismen stattfindet bzw. beabsichtigt ist“*<sup>5, 8</sup>.

Daschner et al. haben festgestellt, dass Reinigungsverfahren zu einer ca. 50 - 80%igen Verminderung von Mikroorganismen auf den behandelten Flächen führen<sup>5, 24</sup>. Laut DIN EN ISO-Standard 158831-1 wird Reinigung definiert als *„Entfernung von*

*Verschmutzungen von einem Gegenstand in dem für seine weitere Behandlung und spätere vorgesehene Verwendung erforderlichen Umfang*“. Die von Daschner et al. in der RKI-Richtlinie festgehaltene Forderung bezieht sich auf den Prozess der Reinigung, unter Berücksichtigung des Ausgangszustands und den prozentualen Anteil der Verschmutzung, der entfernt wurde. Allerdings bedeutet eine hohe Prozentzahl an Reinigung nicht explizit, dass die zu reinigende Oberfläche nach dem Reinigungsprozess rückstandsfrei sauber ist und weiter verwendet werden kann.

Hingegen berücksichtigt der DIN EN ISO-Standard nicht den initialen Zustand der zu reinigenden Oberfläche, sondern bezieht dessen Zustand nach dem Reinigungsprozess ein. Da der Ausgangszustand im DIN EN ISO-Standard keine Berücksichtigung findet, ist nicht einwandfrei und einheitlich über die Leistung der Reinigungsmethode zu urteilen.

Gleichwohl das Reinigungsziel eine Reduktion von Biofilm und Plaque ist, damit das Risiko oraler Erkrankungen sinkt, ist die Frage, wie viel von den verbleibenden Biofilmen auf den herausnehmbaren kieferorthopädischen Geräten überhaupt verbleiben kann, um einen Reiniger akzeptabel erscheinen zu lassen?

Darüber hinaus ist zu überprüfen, ob die Reiniger auch harte Beläge wie Zahnstein entfernen. Ebersbach und Berger empfehlen Reiniger bei neuen herausnehmbaren Geräten von Anfang an zu verwenden und dies in regelmäßigen Intervallen zu wiederholen. Auf diese Art und Weise verhindert man das Anlagern von weichen Belägen und Plaque und somit auch die Bildung von Zahnstein<sup>34</sup>.

## 8.4 Diskussion der Ergebnisse

Die eingangs aufgestellte Haupthypothese, dass die untersuchten Reinigungstabletten besser reinigen als Wasser, konnte mithilfe der modifizierten OPA-Methode nachgewiesen werden. Die nach 4-tägigem Tragen angesammelte proteinhaltige Verschmutzung wurde von allen Reinigern signifikant mehr entfernt als von Wasser. Es war zu erwarten, dass Reinigungstabletten besser reinigen als Wasser, da bereits andere Autoren zu diesem Ergebnis gekommen sind<sup>80, 113</sup>. Jedoch konnte durch das Widerlegen der Haupthypothese zusätzlich die Zuverlässigkeit und das Funktionieren der Methode bestätigt werden.

Die Sekundärhypothese, dass es keinen Unterschied zwischen den Reinigern gibt, konnte widerlegt werden. Die untersuchten Reiniger unterscheiden sich in ihrer Reinigungsleistung. fittydent super<sup>®</sup> entfernte signifikant mehr Biofilm als Kukis<sup>®</sup>, hingegen bestand weder zwischen fittydent super<sup>®</sup> und NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> noch zwischen NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> und Kukis<sup>®</sup> ein signifikanter Unterschied. In Deutschland werden in den kieferorthopädischen Praxen am häufigsten unter den chemischen Reinigern die Reinigungstabletten Kukis<sup>®</sup> empfohlen<sup>36</sup>, obwohl dieser Reiniger in der vorliegenden Studie nicht die beste Reinigungsleistung erzielte.

Die Reiniger wurden in dieser Studie gemäß Herstellerangaben angewendet, somit variierten die Einwirkzeiten der Reiniger untereinander. Vor diesem Hintergrund stellen sich die Fragen, wie viel Einfluss die unterschiedlichen Inhaltsstoffe der Reiniger auf die Proteinentfernung in Prozent haben und ob die verschiedenen Einwirkzeiten auch einen Effekt auf die Reinigungswirkung hatten. Den Ergebnissen zufolge scheint eine solche Korrelation vorhanden zu sein. Dies wird deutlich beim Vergleich des Reinigers fittydent super<sup>®</sup> mit der längsten Einwirkzeit (30 Minuten), dessen Reinigungsprozente sehr hoch und dicht verteilt waren und Wasser mit der kürzesten Einwirkzeit (10 Minuten), dessen Reinigungsprozente sehr große Streuungen aufwiesen. Dagegen ist die Verteilung der Reinigungsprozente von Ortho&Junior<sup>™</sup> (Einwirkzeit 15 Minuten) und Kukis<sup>®</sup> (Einwirkzeit 10 Minuten) in etwa ähnlich, wobei Ortho&Junior<sup>™</sup> mit der längeren Einwirkzeit eine nach links verschobene Verteilung aufwies und somit ein vergleichsweise großer Teil der Reinigungsprozente im höheren Bereich lag. Andererseits schnitt Kukis<sup>®</sup> besser ab als Wasser, obwohl beide 10 Minuten einwirkten. Nichtsdestotrotz kann angenommen werden, dass die Einwirkzeit ein die Ergebnisse beeinflussender Faktor ist<sup>69, 100</sup>.

Andere Autoren evaluierten die Effizienz des Reinigers fittydent super<sup>®</sup> gegenüber *Candida* spp. unter Prüfung verschiedener Einwirkzeiten. Nalbant et al.<sup>100</sup> ließen den Reiniger fittydent super<sup>®</sup> über Nacht einwirken und kamen zu dem Ergebnis, dass in vitro eine gewisse präventive Wirkung auf die Kolonisierung von *Candida* spp. besteht. Işeri et al.<sup>69</sup> untersuchten verschiedene Reiniger, einschließlich fittydent super<sup>®</sup>, in drei Gruppen mit unterschiedlichen Einwirkzeiten (15, 30 und 60 Minuten). Die Mittelwerte und Standardabweichungen der *Candida albicans* Adhärenz nach dem Reinigungsverfahren verdeutlichten, dass beim Reiniger fittydent super<sup>®</sup> lediglich geringe Differenzen zwischen 15 Minuten und 30 Minuten Einwirkzeit bestanden, jedoch zwischen 30 und 60 Minuten große Unterschiede vorhanden waren (Reduktion

der *Candida albicans* Adhärenz auf etwa die Hälfte). Kumar et al.<sup>79</sup> tauchten Prothesenkunststoff-Prüfkörper aus Acryl für 8 Stunden bei Raumtemperatur in verschiedene Reiniger und folgerten, dass die kommerziellen Reiniger effektiver sind als Haushaltsreiniger (Essig).

Die kumulative Verteilungsfunktion für die Reinigungsprozente der Reiniger und Wasser ist in Abbildung 16 dargestellt. Es ist erkennbar, dass bei den 20 Probanden dieser Studie fittydent super<sup>®</sup> zu 100 %, Kukis<sup>®</sup> zu 95 %, Ortho&Junior<sup>™</sup> zu 95 % und Wasser zu 50 % die RKI-Richtlinien<sup>5</sup> für die Reinigung erfüllt haben. Hier stellt sich die Frage, ob es überhaupt klinisch relevant ist, wenn keine 100%ige Reinigung erzielt wird, obgleich Reiniger existieren, die immer die Reinigungskriterien erfüllen und somit zuverlässiger reinigen, ungeachtet der längeren Reinigungszeit?

In Kapitel 7.2.2 wurde die Reinigungseffizienz der Reiniger basierend auf den verbliebenen Proteinmengen verglichen. Die statistischen Tests zeigten, dass die verbliebene Proteinmenge bei Reinigung mit den Reinigern signifikant geringer ist als bei alleiniger Reinigung mit Wasser. Hingegen lag zwischen den Reinigern kein signifikanter Unterschied vor. Gemäß DIN EN ISO-Standard 158831-1 muss der Extinktionswert  $< 0,020$  betragen, damit von einer gering proteinartigen Restverschmutzung ausgegangen werden kann. Die oben erwähnte Obergrenze des Extinktionswertes wurde in diese Studie übertragen und liegt bei  $28,4 \mu\text{g}$  Protein, entsprechend umgerechnet nach der Formel für die Kalibrierung (siehe Kapitel 7.1). Aus der kumulativen Verteilungsfunktion der verbliebenen Proteinmengen in Abbildung 18 wird deutlich, dass in ca. 85 % der Fälle die Reiniger die Akzeptanzkriterien des DIN EN ISO-Standards erfüllt haben. Für Wasser lag die verbliebene Proteinmenge in 45 % der Fälle im akzeptierbaren Bereich des DIN EN ISO-Standards. Demzufolge erfüllt die alleinige Reinigung mit Wasser weder die Reinigungskriterien der RKI-Richtlinie noch die des DIN EN ISO-Standards.

## 9 Schlussfolgerungen

Die in dieser Pilotstudie verwendete Tiefziehschiene für den Oberkiefer mit vier eingearbeiteten PMMA-Prüfkörpern im Bereich des Gaumens hat sich bewährt. Die modifizierte OPA-Methode hat sich als probate Methode zur Bestimmung der Reinigungseffizienz von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen erwiesen. Außerdem konnte in dieser Pilotstudie anhand von 20 Probanden belegt werden, dass zum Reinigen kieferorthopädischer Geräte die untersuchten Reinigungstabletten effektiver sind als die alleinige Reinigung mit Wasser. fittydent super<sup>®</sup> zeigte die beste Reinigungswirkung, sollte aber auch laut Hersteller am längsten einwirken.

Allerdings waren die Prüfkörper in der vorgestellten Studie lediglich mit weichen Belägen verunreinigt, die sich nach wenigen Tagen angesammelt hatten. Es bleibt zu klären, ob ein durch Zahnsteinakkumulation verunreinigtes kieferorthopädisches Gerät gleichermaßen effektiv durch die untersuchten Produkte gereinigt wird. Außerdem erfolgte die Reinigung in dieser Pilotstudie mit unterschiedlichen Reinigungstabletten, entsprechend der vom Hersteller vorgegebenen Einwirkzeiten. Es bleibt zu klären, welchen Effekt die Einwirkzeit auf die Reinigungsleistung hat und wie viel Reinigung für kieferorthopädische Geräte überhaupt klinisch relevant ist bzw. wie viel Biofilm akzeptabel ist?

In dieser klinischen Pilotstudie konnte die Machbarkeit und Umsetzbarkeit der Methode und der Abläufe überprüft werden und kann nun für eine größere Folgestudie zum Herausfinden möglicher Effekte und Zusammenhänge eingesetzt werden.

## 10 Ausblick

Laut Eichenauer et al.<sup>36</sup> empfehlen die meisten Kieferorthopäden für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen eine mechanische Reinigung. In dieser Studie wurde allerdings lediglich die Reinigung ohne mechanische Unterstützung untersucht. Als Konsequenz aus dieser Pilotstudie wäre es interessant, mit der hier vorgestellten Methode zu testen, ob eine mechanische Reinigung unter Verwendung einer Zahnbürste mit Wasser immer mehr Proteine entfernt als die pure Reinigung mit einer der untersuchten Reinigungstabletten.

Die in dieser Pilotstudie zu reinigenden Prüfkörper waren mit 4 Tage alten und somit weichen Belägen behaftet. Interessant wäre zu untersuchen, ob eine effiziente Reinigung herausnehmbarer kieferorthopädischer Apparaturen erzielt wird, wenn diese durch Zahnsteinakkumulation verunreinigt sind. Darüber hinaus ist das Untersuchen von eingearbeiteten Schrauben in Prüfkörpern interessant, um festzustellen, ob die hygienekritischen Areale (z. B. Schrauben) einer Plattenapparatur ebenfalls effizient gereinigt werden können.

Zur Beeinflussung und Vermeidung der Biofilmadhäsion ist die Entwicklung von neuen Materialien denkbar<sup>57</sup>. Möglicherweise bietet die Nanotechnologie Ansätze, mit denen eine Plaque und Bakterien abweisende Oberfläche geschaffen werden kann<sup>21, 57</sup>. Allerdings bestehen aus toxikologischer Sicht gegen direkt in der Mundhöhle applizierbare Beschichtungsmaterialien Vorbehalte<sup>57</sup>. Trotz der vielversprechenden Aussichten der neuen Ansätze zu schmutzabweisenden Nanomaterialien bleiben die konventionellen Methoden zur Plaqueentfernung nach wie vor elementare Bausteine der Oralprophylaxe in der Kieferorthopädie<sup>57</sup>.

Die unterschiedlichen Einwirkzeiten der Reiniger könnten ein die Ergebnisse beeinflussender Faktor sein. In einer zukünftigen Studie sollte dieser Einfluss durch das Gleichsetzen der Einwirkzeiten der zu untersuchenden Reiniger überprüft werden. Darüber hinaus könnte herausgefunden werden, welche minimale Einwirkzeit der Reiniger zu empfehlen ist. Die Reinigungszeit der herausnehmbaren Geräte kann eine wichtige Komponente für die Zufriedenheit der Anwender sein. So kann die empfohlene Reinigungsdauer vom Hersteller zur Motivation für das Kaufen und Anwenden der Reinigungstabletten genutzt werden.

Die in dieser Pilotstudie angewandte quantitative OPA-Methode überprüfte die Reinigungsleistung verschiedener kieferorthopädischer Spangenreiniger anhand der Bestimmung des proteinogenen Verunreinigungsgrades. In einer zukünftigen Studie könnten eine zusätzliche visuelle makroskopische und mikroskopische Qualitätskontrolle vor Anwendung der OPA-Methode weitere aufschlussreiche Informationen liefern.

Zur Feststellung, welche Materialien sich am besten reinigen lassen, ist eine ähnliche Studie mit Prüfkörpern aus verschiedenen Materialien möglich.

## 11 Literaturverzeichnis

- 1 Acher R. Recent discoveries in the evolution of protein. *Angew Chem Int Ed Engl* 1974;13:186-197.
- 2 Addy M, Bates JF. Plaque accumulation following the wearing of different types of removable partial dentures. *J Oral Rehabil* 1979;6:111-117.
- 3 Addy M, Shaw WC, Hansford P, Hopkins M. The effect of orthodontic appliances on the distribution of *Candida* and plaque in adolescents. *Br J Orthod* 1982;9:158-163.
- 4 Andresen V, Häupl K. Funktions-Kieferorthopädie: die Grundlagen des "Norwegischen Systems". Leipzig: Meusser, 1936.
- 5 Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2004;47:51-61.
- 6 Arendorf T, Addy M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. *J Clin Periodontol* 1985;12:360-368.
- 7 Auschill TM, Hellwig E, Sculean A, Hein N, Arweiler NB. Impact of the intraoral location on the rate of biofilm growth. *Clin Oral Investig* 2004;8:97-101.
- 8 AWMF AK-uPd. Hygienische Anforderungen an Hausreinigung und Flächendesinfektion: AWMF Register Nr. 029/030 Hygiene + Medizin: Zeitschrift für angewandte Hygiene in Krankenhäusern und Praxis 2010 35:261–267.
- 9 Bartel S. Symbolische und psychologische Farbwirkung. In: *Farben im Webdesign: Symbolik, Farbpsychologie, Gestaltung*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003:101.
- 10 Batoni G, Pardini M, Giannotti A, Ota F, Giuca MR, Gabriele M, Campa M, Senesi S. Effect of removable orthodontic appliances on oral colonisation by mutans streptococci in children. *Eur J Oral Sci* 2001;109:388-392.
- 11 Beck HO. Denture cleansers and retaining devices. *J Am Pharm Assoc* 1973;13:246-247.
- 12 Becker A, Shapira J, Chaushu S. Orthodontic treatment for the special needs child. *Prog Orthod* 2009;10:34-47.
- 13 Bell JA, Brockmann SL, Feil P, Sackuvich DA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. *J Prosthet Dent* 1989;61:580-583.



- 14 Bjerklin K, Garskog B, Ronnerman A. Proximal caries increment in connection with orthodontic treatment with removable appliances. *Br J Orthod* 1983;10:21-24.
- 15 Blankenstein FH, Peroz I. Are denture cleansing tablets suitable for daily use? *Z Gerontol Geriatr* 2011;44:192-197.
- 16 Bortz J. Wahrscheinlichkeitstheorie und Wahrscheinlichkeitsverteilungen. In: *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005:64.
- 17 Brauner H, Ott RW. Zum Einfluß von Schnellreinigertabletten auf die Korrosion von abnehmbarem Zahnersatz. *Dtsch Zahnärztl Z* 1987;42:813-817.
- 18 Buddecke E. Mikrobielle Plaquebildung. In: *Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin*. Berlin: Walter de Gruyter, 1981:127.
- 19 Budtz-Jørgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent* 1979;42:619-623.
- 20 Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001;183:5385-5394.
- 21 Clark DP, Pazdernik NJ. Nanobiotechnologie. In: *Molekulare Biotechnologie*. Spektrum Akademischer Verlag, 2009:199-224.
- 22 Coenye T, De Prijck K, De Wever B, Nelis HJ. Use of the modified Robbins device to study the in vitro biofilm removal efficacy of NitrAdine, a novel disinfecting formula for the maintenance of oral medical devices. *J Appl Microbiol* 2008;105:733-740.
- 23 Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos Hde F. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci* 2011;19:668-673.
- 24 Daschner F, Rabbenstein G, Langmaack H. Flächendekontamination zur Verhütung und Bekämpfung von Krankenhausinfektionen: Bewertung verschiedener Maßnahmen. *Dtsch Med Wochenschr* 1980;105:325-329.
- 25 Dausch-Neumann D. Die Indikation der drei Behandlungssysteme in der Kieferorthopädie. *Fortschr Kieferorthop* 1983;44:413-417.
- 26 de Souza RF, de Freitas Oliveira Paranhos H, Lovato da Silva CH, Abu-Naba'a L, Fedorowicz Z, Gurgan CA. Interventions for cleaning dentures in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD007395.

- 27 Decelis S, Camilleri S, Zahra EV, Scerri E, De Wever B. The effect of NitrAdine on the Candida levels of maxillary removable appliances. *Quintessence Int* 2012;43:239-245.
- 28 Demir A, Babacan H, Nalcaci R, Topcuoglu T. Comparison of retention characteristics of Essix and Hawley retainers. *Korean J Orthod* 2012;42:255-262.
- 29 Diedrich P. Keimbesiedlung und verschiedene Reinigungsverfahren kieferorthopädischer Geräte. *Fortschr Kieferorthop* 1989 50:231-239.
- 30 DIN EN ISO 15883-1. Reinigungs-Desinfektionsgeräte - Teil 1: Allgemeine Anforderungen, Begriffe und Prüfverfahren (ISO 15883-1:2006); Deutsche Fassung:2009
- 31 Djeu G, Shelton C, Maganzini A. Outcome assessment of Invisalign and traditional orthodontic treatment compared with the American Board of Orthodontics objective grading system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;128:292-298.
- 32 Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002;8:881-890.
- 33 Dürr W, Rabe H, Miethke R-R, Lenk V, Newesely H. Nachweis bakterieller Akkumulationen auf Kunststoffoberflächen. *ZWR* 1986;95:750-754.
- 34 Ebersbach W, Berger M. Experimentelle und klinische Prüfung von Reinigungsmitteln für stomatologische Zwecke unter besonderer Berücksichtigung von Eladent-Prothesenreiniger. *Stomatol DDR* 1975;25:599-606.
- 35 Ehmer D, Bradler G, Winkler U. Vergleichende klinische und experimentelle Untersuchungen verschiedener Prothesenreinigungsmittel. 2. Mitteilung: Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit. *Stomatol DDR* 1976;26:510-516.
- 36 Eichenauer J, Serbesis C, Ruf S. Reinigung herausnehmbarer kieferorthopädischer Apparaturen – eine Umfrage. *J Orofac Orthop* 2011;72:389-395.
- 37 Engelhardt JP. Zahnersatz und zahnärztliche Abformungen aus hygienischer Sicht. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B* 1986;183:179-195.
- 38 Fabry B. Tenside. Eigenschaften, Rohstoffe, Produktion, Anwendungen. *Chemie in unserer Zeit* 1991;25:214-222.
- 39 Faltermeier A, Rosentritt M, Müssig D. Acrylic removable appliances: comparative evaluation of different postpolymerization methods. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:301 e.316-322.
- 40 Faot F, Cavalcanti YW, Mendonca e Bertolini M, Pinto Lde R, da Silva WJ, Cury AA. Efficacy of citric acid denture cleanser on the Candida albicans biofilm

- formed on poly(methyl methacrylate): effects on residual biofilm and recolonization process. BMC oral health 2014;14:77-84.
- 41 Fathi H, Martiny H, Jost-Brinkmann P-G. Efficacy of cleaning tablets for removable orthodontic appliances. An in vivo pilot study. J Orofac Orthop 2015;76:143-151.
- 42 Fengler TW, Pahlke H, Bisson S, Michels W. Sind aufbereitete chirurgische Instrumente proteinfrei? Ergebnisse der klinischen Multicenter-Restkontaminationsstudie Aufbereitung (MRSA). Zentr Steril 2001;9:20-32.
- 43 Field A. Discovering Statistics Using SPSS. California: SAGE Publications, 2007.
- 44 Fitjer LC, Jonas IE, Kappert HF. Corrosion susceptibility of lingual wire extensions in removable appliances. An in vitro study. J Orofac Orthop 2002;63:212-226.
- 45 Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". J Bacteriol 2007;189:7945-7947.
- 46 Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol 2010;8:623-633.
- 47 Flores de Jacoby L, Hartmann F, Jahn I. Untersuchungen über den parodontalen Zustand jugendlicher Träger herausnehmbarer kieferorthopädischer Geräte. Dtsch Zahnarztl Z 1982;37:585-589.
- 48 Flores de Jacoby L, Müller HP. Zusammensetzung der subgingivalen Mundflora bei Trägern abnehmbarer kieferorthopädischer Geräte. Dtsch Zahnarztl Z 1982;37:925-928.
- 49 Forsberg CM, Brattstrom V, Malmberg E, Nord CE. Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of Streptococcus mutans and lactobacilli. Eur J Orthod 1991;13:416-420.
- 50 Friedman M. Applications of the ninhydrin reaction for analysis of amino acids, peptides, and proteins to agricultural and biomedical sciences. J Agric Food Chem 2004;52:385-406.
- 51 Friedman M, Harari D, Raz H, Golomb G, Brayer L. Plaque inhibition by sustained release of chlorhexidine from removable appliances. J Dent Res 1985;64:1319-1321.
- 52 Frister H. Die modifizierte OPA-Methode als Schlüssel zum quantitativen Protein-Monitoring. Hyg Med 2000;25:18-19.
- 53 Frister H, Meisel H, Schlimme E. OPA method modified by use of N-dimethyl-2-mercaptoethylammonium chloride. Fresenius Z Anal Chem 1988;7:631-633.

- 54 Gardner GD, Dunn WJ, Taloumis L. Wear comparison of thermoplastic materials used for orthodontic retainers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124:294-297.
- 55 Gonser F, Kiesow A, Sarembe S, Petzold M. Bewertung durch Zahnbürstenreinigung hervorgerufener Oberflächenveränderungen bei Prothesenkunststoffen. *Dtsch Zahnarztl Z* 2008;63:689-696.
- 56 Goultschin J, Zilberman Y. Gingival response to removable orthodontic appliances. *Am J Orthod* 1982;81:147-149.
- 57 Grychtol S, Hannig C. Zahnerhaltung. Bakterielle Adhäsion in der Mundhöhle – kann sie verhindert werden? *Quintessenz* 2013;64:7-20.
- 58 Hahn W, Engelke B, Jung K, Dathe H, Fialka-Fricke J, Kubein-Meesenburg D, Sadat-Khonsari R. Initial forces and moments delivered by removable thermoplastic appliances during rotation of an upper central incisor. *Angle Orthod* 2010;80:239-246.
- 59 Hahn W, Zapf A, Dathe H, Fialka-Fricke J, Fricke-Zech S, Gruber R, Kubein-Meesenburg D, Sadat-Khonsari R. Torquing an upper central incisor with aligners—acting forces and biomechanical principles. *Eur J Orthod* 2010;32:607-613.
- 60 Hannig M. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig* 1999;3:88-95.
- 61 Hannig M, Hannig C. Der initiale orale Biofilm – pathogen oder protektiv? *Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde* 2007;29:73-82.
- 62 Hausser E. Indikation aktiver herausnehmbarer Geräte. *Fortschr Kieferorthop* 1983;44:418-427.
- 63 Hellwege KD. Bakterien der Mundhöhle: Aufbau, Formen, Vermehrung. In: *Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe: Ein Leitfaden für die Individual-, Gruppenprophylaxe u. initiale Parodontaltherapie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003:3-9.
- 64 Hellwig E. Zahnpasten - worauf sollte der Zahnarzt bei der Empfehlung achten? *Quintessenz* 2012;63:1259-1267.
- 65 Hibino K, Wong RW, Hägg U, Samaranayake LP. The effects of orthodontic appliances on *Candida* in the human mouth. *Int J Paediatr Dent* 2009;19:301-308.
- 66 Hirschmann H. Aufbereitung von zahnärztlichen Übertragungsinstrumenten, Teil 2. *Krh-Hyg + Infverh* 2013;35:11.

- 67 Hof H, Dörris R. Medizinische Mikrobiologie: Immunologie, Virologie, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, Klinische Infektologie, Hygiene. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2009.
- 68 Hönn M, Schneider C, Dietz K, Godt A, Göz G. Treating Class II patients with removable plates and functional orthopedic appliances. *J Orofac Orthop* 2006;67:272-288.
- 69 Işeri U, Uludamar A, Ozkan YK. Effectiveness of different cleaning agents on the adherence of *Candida albicans* to acrylic denture base resin. *Gerodontology* 2011;28:271-276.
- 70 Jaderberg S, Feldmann I, Engstrom C. Removable thermoplastic appliances as orthodontic retainers—a prospective study of different wear regimens. *Eur J Orthod* 2012;34:475-479.
- 71 Jeremiah HG, Bister D, Newton JT. Social perceptions of adults wearing orthodontic appliances: a cross-sectional study. *Eur J Orthod* 2011;33:476-482.
- 72 Jorpes JE. Jac. Berzelius: his life and work. Berkeley: Univ of California Press, 1970.
- 73 Kappert HF, Jonas I, Rakosi T. Importance of the corrosion factor in bracket adhesive technics. *Fortschr Kieferorthop* 1984;45:271-283.
- 74 Karkhanechi M, Chow D, Sipkin J, Sherman D, Boylan RJ, Norman RG, Craig RG, Cisneros GJ. Periodontal status of adult patients treated with fixed buccal appliances and removable aligners over one year of active orthodontic therapy. *Angle Orthod* 2013;83:146-151.
- 75 Klocke A, Tadic D, Kahl-Nieke B, Epple M. Korrosion von kieferorthopädischen Dehnschrauben. *Quintessenz* 2003;54:163-167.
- 76 Köhnlein J, Werner H-P. Qualifizierte Prüfung der Reinigungsleistung von 6 Reinigern für die Aufbereitung von thermolabilen Endoskopen durch quantitative Analysen. *Hyg Med* 2004;9:316-321.
- 77 Koolman J, Röhm KH. Taschenatlas der Biochemie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003.
- 78 Kulak Y, Arikan A, Albak S, Okar I, Kazazoglu E. Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. *J Oral Rehabil* 1997;24:209-215.
- 79 Kumar MN, Thippeswamy HM, Raghavendra Swamy KN, Gujjari AK. Efficacy of commercial and household denture cleansers against *Candida albicans* adherent to acrylic denture base resin: an in vitro study. *Indian J Dent Res* 2012;23:39-42.
- 80 Lessa FC, Enoki C, Ito IY, Faria G, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the bacterial contamination and disinfection of acrylic baseplates of

- removable orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:705.e11-17.
- 81 Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004;97:1311-1318.
- 82 Lima EM, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil* 2006;33:356-362.
- 83 Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontol* 2000 1994;5:52-65.
- 84 Littlewood SJ, Millett DT, Doubleday B, Bearn DR, Worthington HV. Orthodontic retention: a systematic review. *J Orthod* 2006;33:205-212.
- 85 Lochmatter D, Steineck M, Brauchli L. Influence of material choice on the force delivery of bimaxillary tooth positioners on canine malpositions. *J Orofac Orthop* 2012;73:104-115.
- 86 Lottspeich F, Engels JW. *Bioanalytik*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2012.
- 87 Lovrov S, Hertrich K, Hirschfelder U. Enamel demineralization during fixed orthodontic treatment - incidence and correlation to various oral-hygiene parameters. *J Orofac Orthop* 2007;68:353-363.
- 88 Wehrl M, Kircheis U. Methode zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs-Desinfektionsgeräten für flexible Endoskope. *Hyg Med* 2011;36:402-406.
- 89 Marsh P, Martin MV. *Orale Mikrobiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003.
- 90 Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004;38:204-211.
- 91 Meier B, Weiß M, Nedwed V, Jost-Brinkmann P-G, Bizhang M, Schmidt G. Die kieferorthopädische Behandlung von Spaltpatienten - ein Mundhygiene-Dilemma. *Kieferorthop* 2005;19:29-41.
- 92 Mendonca MJ, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Weight loss and surface roughness of hard chairside relines resins after toothbrushing: influence of postpolymerization treatments. *Int J Prosthodont* 2006;19:281-287.
- 93 Michels W, Fengler TW, Pahlke H, Frister H. Anforderungen an die Reinigung bei der Instrumenten-Aufbereitung. *Krh-Hyg + Infverh* 2000;22:45-49.
- 94 Michels W, Frister H. Die modifizierte OPA-Methode mit alternativer Thiolkomponente. *Zentr Steril* 2004;12:115-118.

- 95 Michels W, Frister H. Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis - Teil 4. *Aseptica* 2006;12:12-13.
- 96 Miethke R-R, Brauner K. A comparison of the periodontal health of patients during treatment with the Invisalign system and with fixed lingual appliances. *J Orofac Orthop* 2007;68:223-231.
- 97 Miethke R-R, Wronski C. What can be achieved with removable orthodontic appliances? *J Orofac Orthop* 2009;70:185-199.
- 98 Mouron R, Sonnabend W. Erfahrungen in der Anwendung von Desinfektionsmitteln bzw. Reinigungsmitteln bei der Dekontamination von Bodenflächen in Pflegebereichen des Krankenhauses. *Hygiene und Medizin* 1983;8:477-480
- 99 Müller W-D, Dorow S, Finke C, Petzold D, Lange KP. Elektrochemische Charakterisierung unterschiedlicher Verbindungen zwischen Edelstahlkrone und Klammerdraht *Dtsch Zahnärztl Z* 2004;59:535-539
- 100 Nalbant AD, Kalkanci A, Filiz B, Kustimur S. Effectiveness of different cleaning agents against the colonization of *Candida* spp and the in vitro detection of the adherence of these yeast cells to denture acrylic surfaces. *Yonsei Med J* 2008;49:647-654.
- 101 Netuschil L. Biofilme. In: Einführung in die Zahnmedizin. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2006:128-129.
- 102 Nicholson RJ, Stark MM, Scott HEJ. Calculus and stain removal from acrylic resin dentures. *J Prosthet Dent* 1968;20:326-329.
- 103 Ninhydrin. Wikipedia. URL: <http://de.wikipedia.org/wiki/Ninhydrin>, (abgerufen: 03.05.2015).
- 104 Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Take C, Kurono A, Nagaoka E. Examination of denture-cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture. *Gerodontology* 2012;29:e259-266.
- 105 Ntrouka VI, Slot DE, Louropoulou A, Van der Weijden F. The effect of chemotherapeutic agents on contaminated titanium surfaces: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:681-690.
- 106 Pabari S, Moles DR, Cunningham SJ. Assessment of motivation and psychological characteristics of adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140:e263-272.
- 107 Pallasch TJ, Slots J. Antibiotic prophylaxis and the medically compromised patient. *Periodontol* 2000 1996;10:107-138.
- 108 Paranhos HF, Salles AE, Macedo LD, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Watanabe E. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. *Braz Dent J* 2013;24:47-52.

- 109 Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil* 2007;34:606-612.
- 110 Pathak AK, Sharma DS. Biofilm associated microorganisms on removable oral orthodontic appliances in children in the mixed dentition. *J Clin Pediatr Dent* 2013;37:335-339.
- 111 Paul C. Zahnärztliche Übertragungsinstrumente aus hygienischer Sicht. Zahnmed. Diss., Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, 2009.
- 112 Peck S. Dentist, artist, pioneer: orthodontic innovator Norman Kingsley and his Rembrandt portraits. *J Am Dent Assoc* 2012;143:393-397.
- 113 Peixoto IT, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: a randomized clinical investigation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140:51-57.
- 114 Pitner P, Rossiwall B. Untersuchungen über die Korrosion von abnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen durch selbsttätige Reinigungsmittel. *Fortschr Kieferorthop* 1975;36:570-582.
- 115 Poeggel G. Kurzlehrbuch Biologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2011.
- 116 Pratt MC, Kluemper GT, Lindstrom AF. Patient compliance with orthodontic retainers in the postretention phase. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140:196-201.
- 117 Rabe H, Miethke R-R, Newesely H. Gefüge und Festigkeit von Silberloten für die Kieferorthopädie nach Behandlung mit handelsüblichen "Zahnsparngrenreinigern". *Dtsch Zahnärztl Z* 1986;41:714-719.
- 118 Radimersky L. Thermische Reinigung zahnärztlicher Hand- und Winkelstücke in einem Reinigungs- und Desinfektions-Gerät. Zahnmed. Diss., Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, 2012.
- 119 Ramfjord SP, Emslie RD, Greene JC, Held AJ, Waerhaug J. Epidemiological studies of periodontal diseases. *Am J Public Health Nations Health* 1968;58:1713-1722.
- 120 Rego RO, Oliveira CA, dos Santos-Pinto A, Jordan SF, Zambon JJ, Cirelli JA, Haraszthy VI. Clinical and microbiological studies of children and adolescents receiving orthodontic treatment. *Am J Dent* 2010;23:317-323.
- 121 Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. *Int J Dent Hyg* 2008;6:129-136.



- 122 Roeselers G, Loosdrecht MC, Muyzer G. Phototrophic biofilms and their potential applications. *J Appl Phycol* 2008;20:227-235.
- 123 Rossiwall B, Newesely H, Barrels R. Verarbeitung und Bewertung von KFO-Autopolymerisaten. *Fortschr Kieferorthop* 1984;45:403-413.
- 124 Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R. In: *Curriculum Orale Mikrobiologie und Immunologie*. Berlin: Quintessenz Verlag, 2004:3-492.
- 125 Schmidlin PR, Müller P, Attin T, Wieland M, Hofer D, Guggenheim B. Polyspecies biofilm formation on implant surfaces with different surface characteristics. *J Appl Oral Sci* 2013;21:48-55.
- 126 Schott TC, Göz G. Young patients' attitudes toward removable appliance wear times, wear-time instructions and electronic wear-time measurements-results of a questionnaire study. *J Orofac Orthop* 2010;71:108-116.
- 127 Schwarz AM. *Lehrgang der Gebissregelung*. Wien: Urban & Schwarzenberg, 1961.
- 128 Silva-Lovato CH, Wever B, Adriaens E, Paranhos Hde F, Watanabe E, Pisani MX, Souza RF, Ito IY. Clinical and antimicrobial efficacy of NitrAdine -based disinfecting cleaning tablets in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci* 2010;18:560-565.
- 129 Silverthorn DU. *Molekulare Wechselwirkungen*. In: *Physiologie*. München: Pearson Deutschland, 2009:31-80.
- 130 Skinner EW, Phillips RW. In: *Skinner's science of dental materials*. Philadelphia: Saunders, 1982:445-450.
- 131 Slavkin HC. Biofilms, microbial ecology and Antoni van Leeuwenhoek. *J Am Dent Assoc* 1997;128:492-495.
- 132 Sun J, Yu YC, Liu MY, Chen L, Li HW, Zhang L, Zhou Y, Ao D, Tao R, Lai WL. Survival time comparison between Hawley and clear overlay retainers: a randomized trial. *J Dent Res* 2011;90:1197-1201.
- 133 Tanford C, Reynolds J. *Nature's robots: A history of proteins*. Oxford University Press, USA, 2004.
- 134 Tanner AC, Sonis AL, Lif Holgerson P, Starr JR, Nunez Y, Kressirer CA, Paster BJ, Johansson I. White-spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients. *J Dent Res* 2012;91:853-858.
- 135 Topaloglu-Ak A, Ertugrul F, Eden E, Ates M, Bulut H. Effect of orthodontic appliances on oral microbiota--6 month follow-up. *J Clin Pediatr Dent* 2011;35:433-436.

- 
- 136 Türkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle Orthod* 2005;75:231-236.
- 137 Türköz C, Canigür Bavbek N, Kale Varlik S, Akça G. Influence of thermoplastic retainers on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* adhesion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2012;141:598-603.
- 138 Umbach W. Kosmetische Mittel zur Zahn-, Mund- und Zahnersatzpflege. In: *Kosmetik und Hygiene: von Kopf bis Fuß*. Weinheim: John Wiley & Sons, 2004:197-228.
- 139 van der Veen MH, Attin R, Schwestka-Polly R, Wiechmann D. Caries outcomes after orthodontic treatment with fixed appliances: do lingual brackets make a difference? *Eur J Oral Sci* 2010;118:298-303.
- 140 Vento-Zahra E, De Wever B, Decelis S, Mallia K, Camilleri S. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial to test the efficacy of nitradine tablets in maxillary removable orthodontic appliance patients. *Quintessence Int* 2011;42:37-43.
- 141 Witt E, Bartsch A, Sahm G. Tragezeitverordnungen bei herausnehmbaren Geräten--Ergebnisse einer Umfrage. *Fortschr Kieferorthop* 1992;53:124-130.
- 142 Wu T, Hu W, Guo L, Finnegan M, Bradshaw DJ, Webster P, Loewy ZG, Zhou X, Shi W, Lux R. Development of a new model system to study microbial colonization on dentures. *J Prosthodont* 2013;22:344-350.
- 143 Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont* 2000;13:136-140.

## 12 Anlage



Charité | 10117 Berlin

Herrn  
Prof. Dr. Paul-Georg Jost-Brinkmann  
Abt. Kieferorthopädie, Kinderzahnmedizin  
Aßmannshäuser Str. 4-6

14197 Berlin

**Ethikkommission**  
**Ethikausschuss 4 am Campus Benjamin Franklin**  
**Vorsitzender: Prof. Dr. Ralf Stahlmann**

Geschäftsführung: Dr. med. Katja Orzechowski  
ethikkommission@charite.de

Korrespondenzadresse: Charitéplatz 1, 10117 Berlin  
Tel.: 030/450-517222  
Fax: 030/450-517952  
www.charite.de/ethikkommission

Datum: 30.08.10

In vivo-Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reinigungslösungen für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen

**Antragsnummer: EA4/072/10**

Vorgang vom 24.08.10, Eingang am 27.08.10

Sehr geehrter Herr Professor Brinkmann,

hiermit bestätigen wir Ihnen den Eingang Ihres Schreibens vom 24.08.10 mit folgenden Anlagen:

- Aktualisierter Antragstext, 18.08.10
- Teilnehmerinformation, 16.08.10
- Einwilligungserklärung, Version 16.08.10

Die Auflagen laut Votum vom 29.06.10 sind somit erfüllt. Wir wünschen viel Erfolg bei der Durchführung o.g. Studie.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. R. Stahlmann  
-Vorsitzender-

## 13 Materialliste

Materialbezeichnung Abformlöffel glatt bezahnt, Impression Tray toothed,  
Oberkiefer  
Hersteller Henry Schein Inc., Melville/U.S.A  
Referenznummer 1014471, 1018054, 9001635, 1013645  
Größe s, m, l, xl

Materialbezeichnung Diamantscheibe, Miniflex  
Durchmesser; Dicke 8 mm; 0,15 mm  
Hersteller Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG (Komet  
Handelsagentur GmbH), Lemgo/Deutschland  
Referenznummer 943104080

Name Drucktopf für die Polymerisation von Kaltpolymerisaten  
Materialbezeichnung Polyclav<sup>®</sup>  
Hersteller Dentaureum, Ispringen/Deutschland  
Chargennummer 5778  
Referenznummer 070-000-00

Name Finobloc  
Materialbezeichnung Ausblockmaterial  
Hersteller DT&SHOP GmbH, Bad Bocklet/Deutschland  
Chargennummer 21510  
Größe 114 g

Materialbezeichnung Glasplatten zum Anmischen von Zementen, einseitig  
mattiert  
Größe 95x70x6 mm  
Hersteller Alfred Becht GmbH, Offenburg/Deutschland  
Artikelnummer 724

Name Kunststoffhalterung  
Materialbezeichnung Unterlegscheibe 6,4 Polyamid  
Größe 6,4 mm im Durchmesser  
Hersteller Lux-Tools, Wermelskirchen/Deutschland  
Artikelnummer 479306

Name Matrizenband als "Barrierewand"  
Materialbezeichnung Hawe Tofflemire Matrices  
Größe 0,05 mm Dicke  
Hersteller KerrHawe SA, Bioggio/Schweiz  
Chargennummer 3122480  
Artikelnummer 1001/30

Name Modellgips Octa-Dur  
Materialbezeichnung Hartgips, Typ 3, blau  
Hersteller Heraeus Kulzer GmbH, Hanau/Deutschland  
Chargennummer 3551582  
Größe 25 kg

Name PMMA-Kunststoff-Plättchen  
Materialbezeichnung Orthocryl<sup>®</sup> Flüssigkeit, rosa-transparent  
Größe 1000 ml  
Hersteller Dentauro, Ispringen/Deutschland  
Chargennummer 060998  
Referenznummer 161-350-00

Name PMMA-Kunststoff-Plättchen  
Materialbezeichnung Orthocryl<sup>®</sup> Pulver, klar  
Größe 1000 g  
Hersteller Dentauro, Ispringen/Deutschland  
Chargennummer 020964  
Referenznummer 160-112-00

Name Reinigungstabletten  
 Materialbezeichnung NitrAdine® Ortho&Junior™  
 Einwirkzeit 15 Minuten  
 Hersteller bonyf AG, Vaduz/Liechtenstein  
 Chargennummer KI-45

Name Reinigungstabletten  
 Materialbezeichnung Kukis®  
 Einwirkzeit 10 Minuten  
 Hersteller Kukident GmbH, Mannheim/Deutschland  
 Chargennummer S63103N

Name Reinigungstabletten  
 Materialbezeichnung fittydent super®  
 Einwirkzeit 30 Minuten  
 Hersteller Fittydent International GmbH, Pinkafeld/Österreich  
 Chargennummer 05112013

Name Schiene  
 Materialbezeichnung Thermoplastische, hartelastische, transparente  
 Duran®-Folie  
 Größe 1,0x125 mm im Durchmesser  
 Hersteller Scheu-Dental GmbH, Iserlohn/Deutschland  
 Chargennummer 1211A 1510A  
 Referenznummer 3415.1 3415.1

Materialbezeichnung Tetrachrom zahnärztliche Alginat Abformmasse  
 Hersteller Kaniedenta GmbH & Co. KG, Herford/Deutschland  
 Inhalt 500 g  
 Artikelnummer 1155  
 Chargennummer 0160390158:201

### 13.1 Chemikalien für die OPA-Methode

Materialbezeichnung 2-Mercaptoethansulfonsäure Natriumsalz, zur Synthese  
Größe 10 g  
Hersteller MERCK Schuchardt OHG, Hohenbrunn/Deutschland  
Chargennummer S5380895 926  
Referenznummer 8105950010

Materialbezeichnung Albumin bovine Fraction V, pH 7,0, standard grade,  
lyophil.  
Größe 100 g  
Hersteller SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg/Deutschland  
Chargennummer 13049  
Referenznummer 11930.03

Materialbezeichnung di-Natriumtetraborat, wasserfrei zur Analyse  
Größe 250 g  
Hersteller MERCK KGaA, Darmstadt/Deutschland  
Chargennummer A965906904  
Referenznummer 1063060250

Materialbezeichnung Dodecylsulfate-Na-salt, cryst. research grade,  
Sodiumdodecylsulfat (SDS)  
Größe 250 g  
Hersteller SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg/Deutschland  
Chargennummer 090031  
Referenznummer 20760.03

Materialbezeichnung Dodecylsulfate-Na-salt, cryst. research grade,  
Sodiumdodecylsulfat (SDS)

Materialbezeichnung L-Leucin, für biochemische Zwecke  
Größe 25 g  
Hersteller MERCK KGaA, Darmstadt/Deutschland  
Chargennummer K23005460624

Referenznummer	1053600025
Materialbezeichnung	Methanol, gradient grade für die Flüssigkeitschromatographie
Größe	2,5 l
Hersteller	MERCK KGaA, Darmstadt/Deutschland
Chargennummer	K33553307430
Referenznummer	1060072500
Materialbezeichnung	Phthaldialdehyd, minimum 97 %
Größe	5 g
Hersteller	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim/Deutschland
Chargennummer	087K0071
Referenznummer	P1378-5G

## 13.2 Geräte/Instrumentarien für die OPA-Methode

Gerätebezeichnung	Beckman Spectrophotometer
Modell	MOD 25
Seriennummer	1009
Hersteller	Beckman Coulter GmbH, Krefeld/Deutschland
Gerätebezeichnung	Biostar® VI Universal-Druckform-Gerät
Referenznummer	3000.1
Seriennummer	60308
Hersteller	Scheu-Dental GmbH, Iserlohn/Deutschland
Baujahr	2010
Gerätebezeichnung	CERTOMAT® R Schüttler
Modell	886302/4
Seriennummer	01240
Hersteller	B. Braun Melsungen AG, Melsungen/Deutschland



Pipettenspitzen	ep T.I.P.S Reloads		
Volumenbereich	0.1-20 µl	2-200 µl	50-1000 µl
Chargennummer	W128693J	X131002H	Y136523M
Artikelnummer	0030073380	0030073428	0030073460
Hersteller	Eppendorf AG, Hamburg/Deutschland		

Pipettentyp	Eppendorf Research®
Pipettengröße	10-100 µl (variabel)
Hersteller	Eppendorf AG, Hamburg/Deutschland

Pipettentyp	Eppendorf Research®
Pipettengröße	100 - 1,000 µl (variabel)
Hersteller	Eppendorf AG, Hamburg/Deutschland

Gerätebezeichnung	Halbmikro-Küvetten mit Falzdeckel
Modell	104-QS
Schichtdicke	10 mm
Artikelnummer	195513106
Hersteller	neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH, Heidelberg/Deutschland

Gerätebezeichnung	Magnetrührer
Modell	MR 2002
Seriennummer	89171669
Hersteller	Heidolph, Schwabach/Deutschland

Materialbezeichnung	Pinzette College, lange Spitze, gerieft
Spitzenlänge, Länge	16 mm, 15 cm
Artikelnummer	1003313
Hersteller	Henry Schein Inc., Melville/U.S.A

Gerätebezeichnung	Precisa Präzisionswaage
Modell	ES 320A

Seriennummer 4600352  
Hersteller Precisa Gravimetrics AG, Dietikon/Schweiz

## 14 Abkürzungen

BSA	Bovine Serum Albumin
CHX	Chlorhexidin
DIN	Deutsches Institut für Normung
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
EVA	Ethylenvinyl-Acetat
ISO	International Organization for Standardization
KFO	Kieferorthopädie
MMA	Methylmethacrylat
OJ	Ortho&Junior™
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
PEG	Polyethylenglycol
PMMA	Polymethylmethacrylat
PVP	Polyvinylpyrrolidon
RDA	Radioactive Dentin Abrasion
RKI	Robert Koch-Institut
SDS	Sodiumdodecylsulfat (Natriumlaurylsulfat)
TAED	Tetraacetylethylendiamin

## 15 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Hywa Fathi, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „In-vivo-Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen – eine Pilotstudie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu 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 Betreuer, 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

### Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Frau Hywa Fathi hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Fathi H, Martiny H, Jost-Brinkmann P-G

In-vivo-Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen – eine Pilotstudie.

J Orofac Orthop 2015; 76:143-151

Beitrag im Einzelnen:

- Auswahl der Probanden
- Entwurf und Anfertigung der Prüfkörper (simulierte herausnehmbare kieferorthopädische Apparatur mit eingebauten Prüfkörpern)
- Datenerhebung und Datenauswertung
- Statistische Auswertung (mit Hilfe des Programmes SPSS)
- Eigenständige Auswertung der Laborversuche
- Entwurf der Publikation

---

 Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

---

 Unterschrift der Doktorandin

## 16 **Lebenslauf**

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

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

## 17 Publikationsliste

Fathi H, Martiny H, Jost-Brinkmann P-G,

**In-vivo-Evaluation der Reinigungseffizienz verschiedener Reiniger für herausnehmbare kieferorthopädische Apparaturen – eine Pilotstudie. J Orofac Orthop 2015; 76:143-151**

Zusammenfassung des Beitrags:

### Fragestellung

Ziel der Untersuchung war die Bestimmung der Reinigungswirkung dreier kommerziell angebotener selbsttätiger Reinigungstabletten auf PMMA-Kunststoff in Relation zu Wasser als Kontrollgruppe.

### Methode

20 Probanden trugen im Oberkiefer vier Tage lang Tag und Nacht eine Tiefziehschiene mit vier PMMA-Plättchen im Bereich des Gaumens. Die Reinigungswirkung wurde durch Messung der Proteinmenge mithilfe der modifizierten ortho-Phthaldialdehyd (OPA)-Methode bestimmt. Die PMMA-Plättchen wurden jeweils in zwei Prüfkörper geteilt. Je Plättchen wurde ein Prüfkörper ungereinigt und der andere Prüfkörper desselben Plättchens nach Reinigung gemäß Herstellerangaben mit fittydent super<sup>®</sup> (Fittydent International GmbH, Pinkafeld/Österreich), NitrAdine<sup>®</sup> Ortho&Junior<sup>™</sup> (bonyf AG, Vaduz/Liechtenstein), Kukis<sup>®</sup> (Reckitt Benckiser Deutschland GmbH, Mannheim/Deutschland) oder Wasser als Kontrollmedium untersucht.

### Ergebnisse

Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Unterschied in Reinigungsprozent zwischen den untersuchten Reinigern und Wasser. fittydent super<sup>®</sup> entfernte signifikant mehr Biofilm als Kukis<sup>®</sup>, hingegen bestand weder zwischen fittydent super<sup>®</sup> und Ortho&Junior<sup>™</sup> noch zwischen Ortho&Junior<sup>™</sup> und Kukis<sup>®</sup> ein signifikanter Unterschied.

### Schlussfolgerung

Zum Reinigen kieferorthopädischer Geräte sind die untersuchten Reinigungstabletten effektiver als eine alleinige Reinigung mit Wasser. Allerdings entfernten die Reiniger in der vorliegenden Studie lediglich weiche Beläge, die sich nach wenigen Tagen angesammelt hatten.

Fathi H, Müller-Hartwich R, Hägewald S, Jost-Brinkmann P-G

**Transposition - Ein Patientenbericht. Kieferorthopädie 2013;27:325–337**

Zusammenfassung des Beitrags:

Angesichts verschiedener Therapiemöglichkeiten bei transpositionierten Zähnen müssen die Alternativen in ihren Möglichkeiten und Risiken und nicht zuletzt auch in ihrem ökonomischen Aufwand abgewogen werden. Vor dem Hintergrund biomechanischer Prinzipien und parodontalchirurgischer Aspekte veranschaulicht dieser Patientenbericht eine erfolgreiche interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Parodontologen und Kieferorthopäden bei einer Patientin mit Transposition des Eckzahnes und des 1. Prämolaren im 1. Quadranten. Bedingt durch einen iatrogen hervorgerufenen Verlust von Knochen und Attachment durch einen ersten Behandlungsversuch alio loco mussten der endgültigen kieferorthopädischen Korrektur zunächst parodontalchirurgische Maßnahmen vorangestellt werden.



## 18 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Paul-Georg Jost-Brinkmann für die wissenschaftlichen Anregungen, die zu dem Thema dieser Doktorarbeit führten. Für seine Zeit, seine überaus freundliche Betreuung und Unterstützung während meiner Promotion bin ich ihm sehr dankbar.

Ich danke herzlich Frau Prof. Dr. rer. nat. Heike Martiny (Institut für Hygiene und Umweltmedizin, AG Technische Hygiene) für ihre Zeit und Unterstützung bei der Auswahl der Methode, für ihre Hilfestellung bei methodischen Fragen und für die Möglichkeit der Nutzung des technischen Labors ihrer Abteilung.

Ihren Mitarbeiterinnen Frau Heike Sedlmair, Frau Dr. rer. nat. Ulrike Kircheis und Frau PD Dr.-Ing. Monika Emmrich danke ich sehr für das Vermitteln der modifizierten OPA-Methode, für ihre Zeit und Unterstützung im methodischen Teil.

Ich danke herzlich Herrn PD. Dr. Dr. Werner Hopfenmüller für seine freundliche Beratung bei der statistischen Auswertung und die Hilfestellung bei statistischen Fragen.

Ich danke herzlich den Herstellern bonyf AG, Fittydent International GmbH, Kukident GmbH für die zur Verfügung gestellten Reinigungstabletten sowie für das bereitgestellte Informationsmaterial.

Allen Probanden danke ich sehr für ihre Zeit und die geduldige und zuverlässige Teilnahme am praktischen Teil dieser Studie.

Mein besonders herzlicher Dank geht an Babak und meine Eltern für ihre bedingungslose Liebe, verständnisvolle Unterstützung und unermüdliche Ermutigung.

Alle diejenigen, die ich namentlich nicht erwähnt habe, die mich aber direkt oder auch indirekt bei meiner Doktorarbeit unterstützt haben, danke ich sehr.