

Aus dem Institut für Zahnärztliche Prothetik, Alterszahnmedizin und
Funktionslehre der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Methodenentwicklung zur Chairside-Reinigung von
Wurzelkanalinstrumenten in unterschiedlich befüllten
Interim-Ständen**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Carolin Gerner
aus Mutlangen

Datum der Promotion: 11.12.2015

Was wir wissen, ist ein Tropfen, was wir nicht wissen, ein Ozean.

Isaac Newton

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Zusammenfassung	7
2. Summery	8
3. Einleitung	9
3.1 Wiederaufbereitung von Medizinprodukten	9
3.2 Wurzelkanalinstrumente	12
3.3 Bestandteile der Kontamination von Wurzelkanalinstrumenten	13
3.4 Chemische Reinigung des Wurzelkanalsystems	15
3.5 Chairside-Reinigung der Wurzelkanalinstrumente	16
3.6 Proteinnachweismethoden	17
3.7 Ziel der Arbeit	19
4. Durchführung einer anonymen Befragung	20
5. Material	21
5.1 Blutentnahmesystem und Testanschmutzung	21
5.2 Prüfkörper und Reinigungslösung	22
5.3 Materialien für die Anschmutzmethode	23
5.4 Interim-Stand mit Schaumstoffscheiben	24
5.5 Testlösungen	25
5.6 Materialien und Geräte	27
5.7 Herstellung der Lösungen	29
6. Methode	31
6.1 Die modifizierte OPA-Methode	31
6.2 Probenmessungen im Photometer	31
6.3 Gewinnung der Probenlösungen	32
6.4 Entwicklung einer Anschmutzmethode sowie Findung einer geeigneten Menge an Testanschmutzung	34

6.5 Untersuchungen zum Extinktionsverhalten der Testlösungen	37
6.6 Ermittlung der Rückgewinnung	40
6.7 Ermittlung der Grundproteinmenge	41
6.8 Versuche mit den Testlösungen und den Interim-Ständen	41
6.9 Zusammenfassung der Versuchsanordnung	43
7. Ergebnisse	44
7.1 Ergebnis der anonymen Befragung	44
7.2 Ergebnisse des Methodenteils	45
8. Diskussion	75
8.1 Methodenkritik	75
8.2 Diskussion der Ergebnisse	90
9. Schlussfolgerung	103
10. Literaturverzeichnis	104
11. Anhang	113
12. Eidesstattliche Versicherung	129
13. Lebenslauf	130
14. Danksagung	131

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BCA	Bicinchonic acid = Bicinchoninsäure
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BV	Blutverdünnung (μl)
CHX	Chlorhexidindiglukonat 0,2 %
CHX A	Chlorhexidindiglukonat 2 % der Krankenhausapotheke der Charité
CHX B	Chlorhexidindiglukonat 2 % der Firma Lege artis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (10-17 %)
Eigenext.	Eigenextinktion
Endo	Endodontologie = Teilgebiet der Zahnerhaltung; umfasst die Diagnostik und die Therapie von Pulpaerkrankungen
Endo CHX	Chlorhexidindiglukonat 2 % der Firma Lege artis mit Tensiden (< 10 %)
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IE	Internationale Einheit
ISO	International Organization for Standardization
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut
Lsg.	Lösung
M	Molare Masse
MPG	Medizinproduktegesetz
MPBetreibV	Medizinprodukte-Betreiberverordnung
n. n.	nicht nachweisbar (Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003)
NaOCl	Natriumhypochlorit
OPA	Ortho-Phtaldialdehyd
Poly	Polyhexanid 0,04 %
PZN	Pharmazentralnummer
RKI	Robert Koch-Institut
sCJD	Sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
S.	Seite
SDS	Sodiumdodecylsulfat

Tab.	Tabelle
TL	Testlösung
vCJD	Neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
VDW	Vereinigte Dental Werke München

1. Zusammenfassung

Die Dekontamination von beschmutzten endodontologischen Instrumenten ist aufgrund ihrer komplexen Feilengeometrie sehr schwierig, und zahlreiche Studien belegen, dass wiederaufbereitete Wurzelkanalinstrumente nicht immer frei von Verunreinigungen sind. Das Ziel dieser Untersuchung war es, eine geeignete, reproduzierbare Anschmutzmethodik für Hedström-Feilen zu finden, welche anschließend in verschiedenen befüllten Interim-Ständen durch unterschiedliche Bearbeitungsweisen gereinigt wurden. Verschiedene Lösungen wurden hinsichtlich ihrer Reinigungsfähigkeit bei der Verwendung in einem Interim-Stand untersucht: Isopropanol 70 %, Natriumhypochlorit 1 %, Chlorhexidindigluconat 0,2 % und 2 %, Polyhexanid 0,04 %, Endo CHX 2 % sowie physiologische Kochsalzlösung 0,9 %. Ein Interim-Stand blieb als Kontrollgruppe unbefüllt. Als Prüfkörper wurden 323 Edelstahlplättchen und 259 Hedström-Feilen unterschiedlicher ISO-Größen verwendet. Nach Entwicklung der Methodik wurden die Edelstahlplättchen durch Hedström-Feilen ersetzt. Als Testanschmutzung diente reaktiviertes, heparinisierendes humanes Blut. Versuche, diese Testanschmutzung auf Hedström-Feilen kleinerer ISO-Größen (15-80) mittels Eppendorf-Pipetten, Insulin-Spritzen oder mit Hilfe eines Tauchbades aufzubringen, scheiterten. Erst durch die Verwendung von Hedström-Feilen größerer ISO-Größen (120-140) konnte eine definierte Menge der Testanschmutzung mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten erfolgreich appliziert werden. Die Instrumente wurden entweder verschieden oft durch die Schaumstoffscheibe der befüllten Interim-Stände gestochen (einmal, dreimal, fünfmal) oder sie verblieben unterschiedlich lang (30 s, 60 s, 300 s) hängend in den befüllten Interim-Ständen. Es konnten umso geringere Restproteinkontaminationen mit der modifizierten OPA-Methode auf den Instrumenten nachgewiesen werden, je öfter die Feilen durch die Schaumstoffscheibe gestochen wurden und je länger die Instrumente hängend in den befüllten Interim-Ständen verweilten. Ausnahmen hierbei waren Isopropanol und der unbefüllte Interim-Stand. Alkohol darf für die Befüllung eines Interim-Standes aufgrund seiner fixierenden Eigenschaft nicht verwendet werden, wohingegen der unbefüllte Interim-Stand aufgrund seiner mangelnden Reinigungsfunktion nicht verwendet werden sollte. Da Chlorhexidindigluconat und Natriumhypochlorit eine fixierende Tendenz aufweisen, sollten sie ebenfalls nicht verwendet werden. Da die Reinigungsleistung von Polyhexanid nicht so gut wie die der physiologischen Kochsalzlösung war, sollte es ebenfalls nicht verwendet werden. Die geringste Restproteinkontamination konnte in dieser Untersuchung für die sterile, physiologische Kochsalzlösung ermittelt werden. Ein mit der richtigen Lösung befüllter Interim-Stand kann letztlich die Effektivität und die Erfolgsrate der Wurzelkanalbehandlung erhöhen.

2. Summary

The decontamination of polluted endodontic instruments is very difficult due to their complex geometry. Numerous studies have shown that reprocessed endodontic instruments are not always free from contamination. The aim of this study was to develop a suitable reproducible method for soiling Hedstroem files, which were subsequently cleaned in different filled interim stands by different processing manners. Different solutions were examined concerning their regard to their cleaning ability when used in an interim stand: isopropanol alcohol 70 %, sodium hypochlorite 1 %, chlorhexidine gluconate 0,2 % and 2 %, polyhexanide 0,04 %, Endo CHX 2 % and physiological saline solution 0,9 %. An interim stand remained unfilled as a control group. A total of 323 stainless steel plates and 259 Hedstroem files of different ISO sizes were investigated as specimens in this study. After developing the methodology, the stainless steel plates were replaced by Hedstroem files. Reactivated heparinized human blood was used as soiling solution. Trying to get this soiling solution on small ISO sized Hedstroem files (15-80) using Eppendorf pipettes, insulin injections or an immersion bath failed. Only by the use of Hedstroem files larger ISO sizes (120-140), the soiling solution could successfully be applied by using Eppendorf pipettes. The instruments were either stung different times by the foam disc (1, 3 and 5 times) of the interim stand or they remained for different times (30 s, 60 s and 300 s) in the filled interim stand. Depending on the filling of the interim stand (expection were isopropanol alcohol and the unfilled interim stand), lower residual protein contaminations could be demonstrated with the modified OPA method the more often the Hedstrom files were stung by the foam disc or the longer the files remained in the filled interim stand. Alcohol may not be used for filling an interim stand prior to its fixing property, whereas the unfilled interim stand should not be used due to its lack of cleaning function. Since chlorhexidine gluconate and sodium hypochorite have a fixing property, they should also not be used. The cleaning performance of polyhexanide was not as good as that of the physiological saline solution. It should also not be used. In this study the lowest residual protein concentration was determined for the sterile, physiological saline solution. An interim stand which is filled with the right solution may ultimately increase the effectiveness and the success rate of root canal treatment.

3. Einleitung

Zahnärztliche Instrumente müssen vor ihrer erneuten Anwendung am Patienten einer Aufbereitung unterzogen werden. Endodontische Instrumente müssen, wie alle anderen zahnärztlichen Instrumente auch, vor ihrer Aufbereitung gemäß den Empfehlungen der KRINKO und des BfArM (2012) anhand ihres Einsatzgebietes und anhand ihres Aufbaus kategorisiert werden. Aufgrund ihres Einsatzgebietes im Wurzelkanal („kritisch“) und ihrer komplexen Form (Gruppe B) ist die Aufbereitung von Wurzelkanalinstrumenten mit erhöhten Anforderungen verbunden, weshalb sie als kritische Medizinprodukte der Klasse B eingestuft werden. Im Wurzelkanal kommen die Instrumente unter anderem mit Dentin, Blut, Lymph- und Nervengewebe sowie Mikroorganismen in Kontakt. Bei unsachgemäßer Aufbereitung können daher Bakterien, Viren (HBV, HCV, HIV) und Prionen an diesen Instrumenten als Restkontamination verbleiben. § 4 Absatz 2 der Medizinprodukte-Betreiberverordnung (2002) besagt, dass „die Aufbereitung von bestimmungsgemäß keimarm oder steril zur Anwendung kommenden Medizinprodukten unter Berücksichtigung der Angaben des Herstellers mit geeigneten validierten Verfahren so durchzuführen ist, dass der Erfolg dieser Verfahren nachvollziehbar gewährleistet ist und die Sicherheit und Gesundheit von Patienten, Anwendern oder Dritten nicht gefährdet wird“. Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass wiederaufbereitete Wurzelkanalinstrumente, manuell wie maschinell aufbereitet, nicht immer frei von Verunreinigungen sind. Das bedeutet, dass die Anforderungen an die Aufbereitung nicht erfüllt werden. Da Wurzelkanalinstrumente vor allem aus wirtschaftlichen Gründen immer noch als wiederaufbereitbare Mehrfachinstrumente Verwendung finden, sollte eine effiziente und günstige (Vor-) Reinigungsmethode gefunden werden, die den gesamten Aufbereitungsprozess effizienter werden lässt.

3.1 Wiederaufbereitung von Medizinprodukten

Die Wiederaufbereitung von Medizinprodukten unterliegt dem Medizinproduktegesetz (2002) sowie der Medizinprodukte-Betreiberverordnung (2002). Darauf aufbauend wurde gemeinsam von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut und dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte eine Empfehlung erarbeitet, die die „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“ (KRINKO und BfArM 2012) vorgibt. Im Jahr 2006 gab die KRINKO eine Empfehlung zur „Infektionsprävention in der Zahnheilkunde“ heraus. Desweiteren sind die Hersteller von Medizinprodukten gemäß DIN EN ISO 17664 (2004) dazu verpflichtet, Angaben für ein validiertes Auf-

bereitungsverfahren für ihre Medizinprodukte bereitzustellen. Die Wiederaufbereitung von Medizinprodukten, hier Wurzelkanalinstrumente, umfasst die Reinigung, Desinfektion sowie die Sterilisation. Die Reinigung und die Desinfektion können sowohl manuell als auch maschinell erfolgen.

3.1.1 Reinigung

Laut Ojajärvi (1993) umfasst die Reinigung die Entfernung von organischen und anorganischen Rückständen, Mikroorganismen sowie deren eventuell vorhandenen Sporen. Eine gründliche Reinigung ist für eine erfolgreiche Desinfektion und Sterilisation unabdingbar (Babb 1993, Chaufour et al. 1999, KRINKO und BfArM 2012). Gemäß DIN EN ISO 17664 muss jeder Hersteller ein validiertes manuelles und maschinelles Reinigungsverfahren für Wurzelkanalinstrumente angeben, mit dem die Instrumente nach der Verwendung vollständig gereinigt werden können. Der maschinellen Reinigung sollte dabei Vorrang gewährt werden. Zum einen aufgrund der validierbaren Prozesse und zum anderen aufgrund des besseren Schutzes des Personals, welches mit der Reinigung der Instrumente beauftragt ist (Babb 1993). Auch der zusätzliche Einsatz von Ultraschallbädern kann die Reinigung bei der Wiederaufbereitung von Medizinprodukten verbessern (KRINKO 2006).

3.1.2 Instrumentendesinfektion

Die Instrumentendesinfektion ist eine Maßnahme, „die durch Abtötung, Inaktivierung bzw. Entfernung von Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Pilze, Protozoen) eine Reduzierung der Keimzahl um mindestens fünf Zehnerpotenzen erreicht, damit von dem desinfizierten Material keine Infektionsgefahr mehr ausgehen kann“ (Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 1998). Es werden chemische und thermische Verfahren unterschieden. Die chemische Desinfektion erfolgt mit Desinfektionsmitteln in einem manuellen Tauchverfahren. Geeignete Desinfektionsmittel für die Instrumentendesinfektion sind nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM 2002) geprüft und als wirksam befunden. Sie sind vom Verbund für angewandte Hygiene (VAH 2014) in einer Liste zusammengefasst (www.vah-online.de). Bei der thermischen Desinfektion unterscheidet man das Einwirken von heißem Wasser/Wasserdampf oder trockener Hitze (Babb 1993, KRINKO und BfArM 2012). Die thermische Desinfektion ist das wirksamste Verfahren (Babb 1993) und sollte daher als Standardverfahren eingesetzt werden, wenn es die Materialeigenschaften (Thermostabilität) zulassen. Für eine erfolgreiche Desin-

fektion ist, wie bereits erwähnt, die vorherige gründliche Reinigung der Instrumente unumgänglich. Blut- und Gewebereste sowie anhaftende zahnärztliche Materialien (z. B. Zemente) an Instrumenten können die Mikroorganismen derart schützen, dass das Desinfektionsmittel sie nicht erreicht (Hilger 2007). Für eine wirksame Instrumentendesinfektion (und anschließende Sterilisation) ist eine gründliche vorherige Reinigung der Instrumente essentiell (Babb 1993, Kramer 1995, Michels et al. 1996, Koller 1997, Pfeifer 1998, Chaufour et al. 1999, Krüger 1999, Vickery et al. 2000).

3.1.3 Sterilisation

Die Sterilisation beinhaltet das „Abtöten oder Entfernen aller lebensfähigen Vegetativ- und Dauerformen von pathogenen und apathogenen Mikroorganismen in Stoffen, Zubereitungen oder an Gegenständen“ (Deutsches Arzneibuch 2012). Es werden physikalische von chemischen Sterilisationsverfahren unterschieden. Zu den physikalischen Verfahren zählen die Heißluftsterilisation, die Dampfsterilisation, die Strahlensterilisation sowie die Plasmasterilisation. Bei der Heißluftsterilisation erfolgt die Sterilisation durch heiße, trockene, bewegte Luft. Sie findet heute kaum noch Anwendung. Bei der Strahlensterilisation führen ionisierende Strahlen, Beta- oder Gammastrahlen zu einer Zellschädigung und damit zum Absterben der Mikroorganismen. Sie findet in der industriellen Produktion von Sterilgut Anwendung. Die Plasmasterilisation ist ein Niedertemperatur-Verfahren und wird daher bei temperaturempfindlichen Materialien eingesetzt. Das mit Abstand am häufigsten verwendete Verfahren und das Mittel der Wahl (Heeg und Setz 1994) ist jedoch die Dampfsterilisation. Nach einem fraktionierten Vorvakuum wird in den Sterilisator für mindestens 3 min gespannter, gesättigter Wasserdampf (134 °C) eingelassen, bis eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre vorliegt. Die Wirksamkeit beruht auf der Aktivität freier Wassermoleküle, die über eine Proteinkoagulation zur Zerstörung vorhandener Mikroorganismen und zur Inaktivierung vorhandener Viren führt (Heeg und Setz 1994). Für die Inaktivierung von Prionen wird derzeit vom Robert Koch-Institut bei einer Temperatur von 134 °C eine Haltezeit von 18 min gefordert (Task Force vCJK 2002). Die Gassterilisation ist ein chemisches Verfahren, welches die Denaturierung der Eiweiße in den Mikroorganismen bewirkt. Als Gase werden Formaldehyd und Ethylenoxyd eingesetzt. Da die Gassterilisation mit niedriger Temperatur auskommt (55 °C), ist sie für alle thermolabilen Materialien geeignet. Nachteile dieser Methode sind die starke Toxizität der Gase sowie die Explosionsgefahr des Ethylenoxyds. Desweiteren muss das Sterilgut nach erfolgter Sterilisation ausgelüftet werden. Die Gassterilisation findet daher bei der Sterilisation von Medizinprodukten kaum Anwendung. In einer

Stellungnahme von Martiny (2000) werden die Gas- und die Strahlensterilisation aufgrund unzureichender Wirksamkeit, fehlender offizieller Prüfrichtlinien und den notwendigen hohen Sicherheitsanforderungen nicht empfohlen.

3.2 Wurzelkanalinstrumente

Wurzelkanalinstrumente dienen der mechanischen Reinigung und der Formgebung des Wurzelkanals. Es werden Wurzelkanalinstrumente zur manuellen und maschinellen Aufbereitung des Wurzelkanalsystems unterschieden, wobei Instrumente zur manuellen Aufbereitung entweder aus Edelstahl (Chrom-Nickel-Legierung) oder einer Nickel-Titan-Legierung hergestellt werden. Instrumente für die maschinelle Aufbereitung des Wurzelkanalsystems werden dagegen fast ausschließlich aus Nickel-Titan-Legierungen hergestellt. Sie sind pseudoelastisch, das bedeutet, dass sie nach der Verformung durch einen gekrümmten Wurzelkanal ihre ursprüngliche, gerade Form wieder annehmen (Abb. 1).



Abb. 1: Wurzelkanalinstrument für die maschinelle Aufbereitung des Wurzelkanalsystems aus einer Nickel-Titan-Legierung mit blauem Gummiring (= „Stopp“) zur Längenmarkierung des Instruments entsprechend der Wurzelkanallänge bezogen auf einen Referenzpunkt am Zahn
(Quelle: www.vdw-dental.com)

Die am häufigsten verwendeten Instrumente für die manuelle Aufbereitung des Wurzelkanalsystems sind ISO-normierte Hedström-Feilen und Reamer (Abb. 2). Die Instrumente bestehen aus einem Griff, einem Schaft und einem Arbeitsteil. Der meist aus Kunststoff bestehende Griff ist entsprechend der ISO-Größe der Instrumente mit einer Zahl versehen und farblich codiert. Die Schaftlänge der Instrumente ist variabel (5-15 mm), so dass daraus unterschiedliche Instrumentenlängen (21, 25, 28 und 31 mm) resultieren. Der Arbeitsteil der Instrumente ist dagegen immer 16 mm lang und weist eine Konizität von 2 % auf. Ein Gummiring am Schaft des Instruments, auch „Stopp“ genannt, dient zur Längenmarkierung der Instrumente, entsprechend der Länge des Wurzelkanals in Bezug zu einem Referenzpunkt am Zahn (Abb. 1 und 2).

Hedström-Feilen (Abb. 2) entstehen durch Herausfräsen aus einem Rohling mit rundem Querschnitt. Es entstehen zwischen 14 und 31 Schneiden (je nach ISO-Größe), die spiralförmig das Arbeitsteil umlaufen und einen Schneidekantenwinkel von ca. 60 bis 65° aufweisen, woraus sich eine ziehende Arbeitsweise ergibt. Reamer (Abb. 2) werden aus Rohlingen mit einem drei- oder viereckigem Querschnitt durch Verwindung hergestellt, wobei die kleineren ISO-Größen aus Stabilitätsgründen aus dem viereckigen Rohling hergestellt werden. Je nach ISO-Größe besitzt das Arbeitsteil eines Reamers zwischen acht und 16 Schneiden mit einem Schneidekantenwinkel zwischen 10 und 30°, woraus sich eine drehend-schabende Arbeitsweise ergibt (Hellwig et al. 2003).

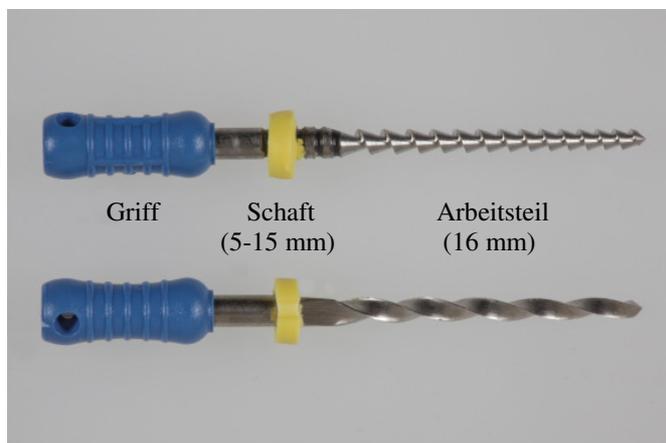


Abb. 2: Hedström-Feile (oben im Bild) und Reamer (unten im Bild) mit gelben Gummiring (sog. „Stopp“)

Aufgrund ihrer komplexen Form ist die Wiederaufbereitung von Wurzelkanalinstrumenten schwierig (Walker et al. 2007) und wie zahlreiche Studien belegen (Smith et al. 2002, van Eldik et al. 2004, Letters et al. 2005, Smith et al. 2005, Sonntag und Peters 2007, Whitworth et al. 2009) oft unzureichend. Heeg et al. (2001) vertreten die Meinung, dass die Geometrie von Wurzelkanalinstrumenten eine vollständige Dekontamination aufgrund der Schwierigkeit, Rückstände zu erreichen, nicht zulässt. Auch Palacios-Sánchez et al. (2008) kommen zu dem Schluss, dass Wurzelkanalinstrumente nicht wiederaufbereitet werden sollten, da ihre vollständige Dekontamination nicht gewährleistet werden kann.

3.3 Bestandteile der Kontamination von Wurzelkanalinstrumenten

Hauptursache für die Wurzelkanalbehandlung eines Zahnes ist eine irreversibel geschädigte oder nekrotische Pulpa, deren Ursache nicht immer (sterile Pulpanekrose), aber meistens, bakteriellen Ursprungs (tiefe Karies) ist. Darüber hinaus kommen Traumata (okklusales Trauma, Zahnfraktu-

ren) und iatrogene Faktoren (Pulpaeröffnung während der Präparation eines Zahnes) als Ursache für die Notwendigkeit einer Wurzelkanalbehandlung in Frage.

3.3.1 Bestandteile der gesunden Pulpa

Die Grundsubstanz der Pulpa besteht aus einer gelartigen Matrix und enthält als Hauptbestandteile Glykosaminoglykane bzw. Proteoglykane. In dieser Matrix befinden sich Zellen (Odontoblasten, Fibroblasten, Ersatzzellen und Abwehrzellen), Fasern (kollagene, elastische und Nervenfasern) sowie Blut- und Lymphgefäße (Hellwig et al. 2003).

3.3.2 Bestandteile der kolonisierten oder infizierten Pulpa

Bei der primären Infektion des Wurzelkanals spielen vor allem anaerobe Bakterien eine Rolle, wie zum Beispiel gramnegative anaerobe Stäbchen, grampositive anaerobe Kokken, grampositive fakultativ anaerobe Stäbchen, Laktobazillen und Streptokokken (Sundqvist 1994). Bei Pulpanekrosen, reinfizierten Wurzelkanalfüllungen oder persistierenden apikalen Entzündungen findet man dagegen Bakterien der Gattung *Enterococcus faecalis* (Engström 1964, Haapasalo et al. 1983), die sehr häufig für den endodontischen Misserfolg verantwortlich gemacht werden. Aber auch Pilze wie *Candida albicans* (Waltimo et al. 1997) können aus der Pulpakammer isoliert werden. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass sich systemische Erkrankungen in der Pulpa manifestieren und somit als mögliche Kontamination an den Wurzelkanalinstrumenten in Frage kommen. Bei durch Viren verursachten Erkrankungen handelt es sich vor allem um Infektionen mit dem Herpes-simplex-Virus, dem HI-Virus sowie um Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus und dem Hepatitis-C-Virus. HI-Viren konnten von Glick et al. (1991) *in vivo* im pulpalen Gewebe nachgewiesen werden. Chaufour et al. (1999) konnten in einem Versuch an Enten zeigen, dass durch nicht ordnungsgemäß gereinigte Angioskope, die an HBV-positiven Enten verwendet wurden, es zu einer Übertragung von Hepatitis-B-Viren von den HBV-positiven auf die ehemals HBV-negativen Enten kam, nachdem die Angioskope an diesen verwendet wurden. Nervenfasern nehmen als periphere Endäste des Nervus trigeminus eine besondere Rolle ein. Da im Ganglion trigeminale bereits Prionen der varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit nachgewiesen worden sind (Head et al. 2004), geht man davon aus, dass diese Proteine auch in den Endästen der Hirnnerven gefunden werden können. Im lymphatischen Gewebe (v. a. in Tonsillen am Zungengrund) konnten Prionen bereits nachgewiesen werden (Bruce et al. 2001, Smith und Martin 2000, Ironside et al. 2002, Head et al. 2003). Schneider et al.

(2007) konnten zelluläre Prionen-Proteine auch in Odontoblasten, Zementoblasten und Mallassez'schen Epithelresten nachweisen. In der Literatur wird die Möglichkeit der Übertragung von Prionen durch nicht ausreichend dekontaminierte Wurzelkanalinstrumente (Smith et al. 2002, Letters et al. 2005, Sonntag und Peters 2007, Whitworth et al. 2009) häufig diskutiert. Auch wenn beim Menschen, der an der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (sCJD) erkrankt ist, keine Prionen in der Pulpa nachgewiesen werden konnten, ist es abschließend nicht geklärt, ob bei der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (vCJD) Prionen in der Pulpa vorhanden sein könnten (Blanquet-Grossard et al. 2000). In Tierversuchen konnte der Nachweis von sCJD in pulpaalem Gewebe erbracht werden (Ingrosso et al. 1999, Herzog et al. 2005).

3.4 Chemische Reinigung des Wurzelkanalsystems

Während der Wurzelkanalaufbereitung wird das infizierte Gewebe mit Hilfe der Wurzelkanalinstrumente aus dem Kanalsystem entfernt. Da jedoch nicht alle Bereiche des Wurzelkanalsystems mit Instrumenten bearbeitet werden können, muss zusätzlich zu der mechanischen Reinigung eine chemische erfolgen. Die Anatomie des Wurzelkanals umfasst neben Ausbuchtungen oder Einziehungen auch noch schwer bis nicht zugängliche Stellen, wie Seitenkanäle und Dentinkanäle, in denen Nervenfortsätze verlaufen und in denen sich Gewebereste und Mikroorganismen befinden können. Diese Bereiche müssen mit Hilfe von Spüllösungen gereinigt und desinfiziert werden. Zur chemischen Reinigung des Wurzelkanalsystems stehen verschiedene Lösungen zur Verfügung. Sie sollten generell eine bakterizide Wirkung, eine geringe Toxizität sowie eine niedrige Oberflächenspannung besitzen. Darüber hinaus sollten sie vitales und nekrotisches Gewebe auflösen und die Schmierschicht (diese besteht aus Zell- und Zahnhartsubstanzresten, Bakterien und Dentinliquor) entfernen (Hellwig et al. 2003). Da es keine Spüllösung gibt, die alle diese Anforderungen erfüllt, müssen teilweise mehrere Spüllösungen während der Wurzelkanalbehandlung verwendet werden. Nach Abschluss der mechanischen Kanalaufbereitung wird zur Entfernung der Schmierschicht EDTA-Lösung (10-17 %) oder Zitronensäure (10-30 %) benötigt. Diese Schmierschicht entsteht durch das Bearbeiten der Wurzelkanalwände mit den Wurzelkanalinstrumenten. Sie liegt den Kanalwänden auf und verschließt die Dentinkanälchen, wodurch die Desinfektionswirkung von Spüllösungen im Dentin verhindert wird. Daher muss sie für eine effektive Desinfektion des Wurzelkanalsystems entfernt werden. EDTA-Lösung und Zitronensäure besitzen selbst nur eine geringe antimikrobielle Aktivität. Die am häufigsten verwendete Spüllösung zur Desinfektion des Wurzelkanalsystems ist Natriumhypochlorit, welches

in unterschiedlichen Konzentrationen (0,5-5,25 %) angeboten wird. Da es eine sehr gute gewebeauflösende Wirkung besitzt, wird es als Standardspüllösung verwendet. Chlorhexidindigluconat besitzt die Fähigkeit, an Hydroxylapatit (Zahnhartsubstanz) zu binden, was eine verlängerte antimikrobielle Wirkung nach sich zieht (Substantivität). Es wird daher oft als Abschlusspülung verwendet. Es hat jedoch keinerlei gewebeauflösende Wirkung. Wasserstoffperoxid wird vereinzelt noch zur Blutstillung im Wurzelkanal eingesetzt. Seine antimikrobielle Aktivität ist sehr begrenzt. Alkohol wird selten noch als Abschlusspülung verwendet, um eine schnelle Trocknung des Kanalsystems zu erreichen.

3.5 Chairside-Reinigung der Wurzelkanalinstrumente

Da Wurzelkanalinstrumente trotz ihrer komplexen Form immer noch wiederaufbereitet werden dürfen, stellt sich die Frage, ob die Verwendung eines befüllten Interim-Standes (Abb. 3), der laut Herstellerangaben „zur schnellen Zwischenablage und zur Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten während der Behandlung“ dient, auch eine effiziente und kostengünstige Vorreinigungsmethode für die Instrumente nach der Wurzelkanalbehandlung darstellt.



Abb. 3: Interim-Stand mit Wurzelkanalinstrumenten
(Quelle: www.vdw-dental.com)

In der Vergangenheit wurden zahlreiche Versuche unternommen, Wurzelkanalinstrumente noch während der Behandlung zu reinigen (Ingle 1965, Grossman 1974, Levy 1986, Ferreira et al. 1990, Parashos et al. 2004). Zur Reinigung der Instrumente wurden Watterollen, Gazetupfer oder Schaumstoffschwämme benutzt, die mit Desinfektionsmitteln oder enzymatischen Lösungen getränkt waren. Teilweise kamen die Materialien auch trocken zum Einsatz. Levy (1986) verwendete einen befüllten (Natriumhypochlorit 2,5 %) und einen unbefüllten Behälter, ähnlich wie ein Interim-Stand. Als dritte Methode wählte er die sorgfältige Entfernung des Debris von den Instrumenten mit Hilfe von Watterollen. Keine der von ihm angewandten Methoden führte zu einwandfrei sauberen Instrumenten. Lösungen, die für die Befüllung eines Interim-Standes in

Frage kommen, wurden bereits unter 3.4 (S. 15) genannt. Naheliegender ist es, eine Lösung zu benutzen, die auch als Spüllösung für die Desinfektion des Wurzelkanalsystems verwendet wird. Speziell für die Verwendung in einem Interim-Stand wurde ein sogenanntes Endo CHX entwickelt. Es enthält neben 2 %igem Chlorhexidindigluconat Reinigungstenseide in einer Konzentration unter 10 %. Das Bigunaid Polyhexanid wurde aufgrund seiner guten Gewebeverträglichkeit und dem des Chlorhexidin ähnlichen Wirkspektrums mit in die Untersuchung aufgenommen.

3.6 Proteinnachweismethoden

Da in vielen Untersuchungen, wie auch in der vorliegenden, Blut als Testanschmutzung verwendet wird, benötigt man zur Detektion der darin enthaltenen Proteine entsprechende Nachweismethoden. Es werden quantitative und qualitative Proteinnachweismethoden unterschieden.

3.6.1 Quantitative Proteinnachweismethoden

OPA-Methode

Ortho-Phtaldialdehyd (OPA) wird zur quantitativen Bestimmung von freien α - und ϵ -terminalen Aminogruppen in Aminosäuren, Peptiden und Proteinen bei Anwendung der OPA-Methode verwendet. Das Prinzip beruht auf der chemischen Umsetzung der zu erfassenden freien Aminogruppen mit o-Phtaldialdehyd in Gegenwart einer Thiolverbindung (meist Mercaptoethanol). Die entstehenden Endprodukte zählen zur Gruppe der Isoindole, deren Färbung bei 340 nm spektralphotometrisch erfasst werden kann. Die Thiolkomponente ist entscheidend für die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit des ermittelten Gehalts an freien Aminosäuren. Bei der OPA-Methode wurde die Thiolkomponente Mercaptoethanol gegen Ethanthiol ausgetauscht. Dadurch ergaben sich genauere Messungen, da Ethanthiol nicht zu innermolekularen Weiterreaktionen neigt, wie das bei Mercaptoethanol der Fall ist (Simons und Johnson 1977, Frister et al. 1990). Ein Nachteil von Ethanthiol ist jedoch der strenge Geruch, der sich während der Reaktion bildet. Bei der modifizierten OPA-Methode wird die Thiolverbindung N,N-Dimethyl-2-mercaptoethyl-ammoniumchlorid verwendet. Dieses Pulver ist in Lösung geruchslos und es zeichnet sich über einen langen Zeitraum durch sein sehr stabiles Extinktionsverhalten aus. Da dieses wiederum schwer erhältlich ist, wird die leicht erhältliche 2-Mercaptoethansulfonsäure als Natriumsalz verwendet (Michels und Frister 2004). Die modifizierte OPA-

Methode ist als einzige quantitative Proteinbestimmungsmethode in die DIN EN ISO 15883-1 (2006) aufgenommen worden und spielt heutzutage eine wichtige Rolle für Reinigungsuntersuchungen in Laboratorien (Michels und Frister 2004), da mit ihr schon geringste Proteinmengen detektiert werden können.

BCA-Methode

Die BCA-Methode basiert auf der modifizierten Biuret-Methode, welche jedoch störanfällig gegenüber anionischen Tensiden wie Natriumdodecylsulfat (SDS) sowie Zuckern (Saccharose) ist. Die BCA-Methode ist ein quantitativer Proteinnachweis und sie erhält ihren Namen von der chemischen Verbindung Bicinchoninsäure (**Bicinchonic acid**). Die Reaktion beruht auf der Reduktion von Kupfer(II)-sulfat bzw. Kupfer(II)-nitrat in Anwesenheit von Proteinen zu Kupfer(I). Anschließend reagiert das Kupfer(I) mit der Bicinchoninsäure, wobei es zu einem Farbumschlag kommt, der bei 562 nm im Photometer gemessen werden kann (Michels Teil 3 2005).

3.6.2 Qualitative Proteinnachweismethoden

Ninhydrin-Methode

Der Ninhydrintest ist ein rein qualitatives Verfahren, um die Anwesenheit von Proteinen nachweisen zu können. Die mittels eines Wattestäbchens genommene Probe (Wischtechnik) wird mit einer Ninhydrinlösung versetzt. Bei Kontakt mit Proteinen erfolgt ein Farbumschlag, der pH-Wert- und proteinabhängig ist und nur in Kombination mit hydrolysierten Proteinen erfolgt (de Bruijn et al. 2001). Der Test lässt somit keine Aussage über den Grad einer Verschmutzung zu.

Peroxidase-Methode

Auf Basis der Peroxidase-Methode wurde ein Schnelltest für einen Mikrohämaturie-Nachweis entwickelt. Diese Schnelltests detektieren intakte und hämolysierte Erythrozyten durch eine chemische Nachweisreaktion, die auf der Pseudoperoxidase-Aktivität des Hämoglobins beruht (Kutter 1976). Das farblose Tetramethylbenzidin wird in Gegenwart eines Peroxids durch die Pseudoperoxidase des Hämoglobins oxidiert. Das Oxidationsprodukt ist stark gefärbt, so dass sich anhand einer Vergleichsskala Rückschlüsse auf vorhandene Proteine ziehen lassen (Michels et al. 1996).

3.7 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Untersuchung war es, eine standardisierbare Anschmutzmethode für Wurzelkanalinstrumente zu finden, die anschließend zur Überprüfung der Reinigungswirkung von Testlösungen in Interim-Ständen mit Hilfe einer quantitativen Proteinnachweismethode genutzt werden konnte. Darüber hinaus sollten verschiedene Bearbeitungsweisen der Instrumente in den befüllten Interim-Ständen Aufschluss darüber geben, ob diese einen Einfluss auf die Sauberkeit der Instrumente hatten. Für eine Untersuchung zur Chairside-Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten mit Hilfe unterschiedlich befüllter Interim-Stände wird eine Methode zum Nachweis der Reinigung benötigt.

Für die Methodenentwicklung ergaben sich daher folgende Fragestellungen:

1. Mit welcher Anschmutzmethode kann reproduzierbar eine definierte Menge Blut auf Prüfkörper aufgebracht werden?
2. Welche Reinigungslösungen bieten sich für die Befüllung von Interim-Ständen an, und können diese eine effiziente Vorreinigung der Instrumente bewirken?
3. Haben die Bearbeitungsweisen im befüllten Interim-Stand Einfluss auf die Reinigungsleistung und damit auf die Sauberkeit der Instrumente?

4. Durchführung einer anonymen Befragung

Laut Herstellerangaben (VDW, München) dient der Interim-Stand zur schnellen Zwischenablage und zur Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten während der Behandlung. Angaben für eine Befüllung des Interim-Standes während der Wurzelkanalbehandlung werden seitens des Herstellers (Katalog/Internetseite) nicht gemacht. Auf Nachfrage hin nennt der Hersteller Chlorhexidindiglukonat, Alkohol und Natriumhypochlorit, welche für eine Befüllung des Interim-Standes bevorzugt Verwendung finden würden (E-Mail VDW 2014, siehe 11.2, S. 115).

Eine anonyme Befragung unter 100 Berliner Zahnärzten sollte klären, ob ein solcher Interim-Stand während der Wurzelkanalbehandlung Verwendung findet. Die Befragung sollte weiterhin Aufschluss darüber geben, ob der Interim-Stand befüllt oder unbefüllt verwendet wird und welche Spüllösungen die Zahnärzte während der endodontologischen Behandlung für die Desinfektion des Wurzelkanalsystems verwenden (Anschreiben und Fragebogen, siehe 11.1, S. 113).

5. Material

5.1 Blutentnahmesystem und Testanschmutzung

Mit Hilfe eines Butterfly-Systems und den entsprechenden Entnahmeröhrchen erfolgte am jeweiligen Versuchstag die Abnahme von humanem, venösem Blut, welches immer von derselben Person stammte. Das Blut in den Röhrchen, die Zitrat als gerinnungshemmenden Zusatz enthielten, wurde durch die Zugabe von Kalziumchlorid wieder zur Gerinnung gebracht. Das Blut in den Röhrchen, die Heparin als gerinnungshemmenden Zusatz enthielten, wurde durch die Zugabe von Protaminhydrochlorid reaktiviert.

BD Vacutainer [®] Zitratröhrchen	Firma Becton, Dickinson und Company, Plymouth, England Bestellnummer: 363079 Chargennummer: unbekannt
---	--

Die Kunststoffröhrchen enthielten laut Herstellerangaben 0,129 M gepuffertes Natrium-Zitrat als gerinnungshemmenden Zusatz. Sie waren 75 mm lang und hatten einen Durchmesser von 13 mm. Das Fassungsvermögen für Blut betrug 2,7 ml.

BD Vacutainer [®] LH PST [™] II	Firma Becton, Dickinson und Company, Plymouth, England Bestellnummer: 367374 Chargennummer: 8078208
---	--

Die Kunststoffröhrchen enthielten laut Herstellerangaben 17 IE/ml Lithium-Heparin als gerinnungshemmenden Zusatz. Sie waren 75 mm lang und ihr Durchmesser betrug 13 mm. Sie hatten ein Fassungsvermögen für Blut von 3,0 ml.

BD Vacutainer [®] - Flügelkanüle und Einmalhalter	Firma Becton, Dickinson und Company, Plymouth, England Bestellnummer Kanüle: 367261, 21 G, grün Chargennummer Kanüle: 08B04 Bestellnummer Halter: 364815
---	--

Blut	Chargennummer Halter: unbekannt Eigenblut von C. Gerner; wurde an jedem Versuchstag frisch abgenommen
Protamin Valeant	Firma Valeant Pharmaceuticals, Eschborn, Deutschland Wirkstoff: Protaminhydrochlorid Bestellnummer: unbekannt Chargennummer: 70470
Kalziumchlorid-Dihydrat	Firma Merck, Darmstadt, Deutschland Bestellnummer: 1023820250 Chargennummer: unbekannt

5.2 Prüfkörper und Reinigungslösung

Als Prüfkörper wurden Edelstahlplättchen und Hedström-Feilen verwendet. Die Edelstahlplättchen (Abb. 4) waren ca. 50 mm lang, 15 mm breit und ungefähr 1 mm dick. Die Edelstahlplättchen wurden vor jedem Versuch gründlich mit einer 10 %igen Lösung eines Neutral-Reinigers gereinigt. Anschließend wurden sie mit Leitungswasser und destilliertem Wasser gespült und getrocknet.

Des Weiteren kamen Hedström-Feilen (Abb. 5) der Länge 25 mm mit den ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70, 80, 120, 130 sowie 140 zum Einsatz. Laut Herstellerangaben durchlaufen die Feilen vor dem Versand einen Reinigungsprozess, werden aber nicht sterilisiert. Daher wurden die Feilen vor der Verwendung in Sterilgutverpackungen bei 134 °C für 3 min dampfsterilisiert.

Edelstahlplättchen	Maße: 50 × 15 × 1 mm, Edelstahl Firma Pereg, Waldkraiburg, Deutschland Bestellnummer: unbekannt
Hedström-Feilen	Firma VDW GmbH, München, Deutschland ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70, 80, 120, 130, 140, Edelstahl, unsteril Bestellnummern: 073025-015 bis -140

Neutral-Reiniger

Tickopur R 30, Firma Dr. H. Stamm GmbH,
Berlin

Bestellnummer: unbekannt

Chargennummer: 090116

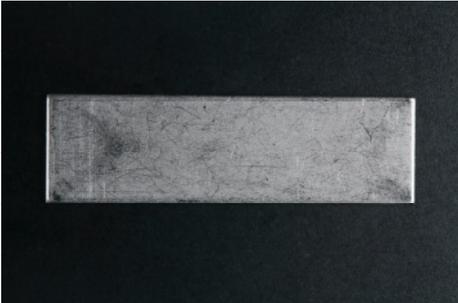


Abb. 4: Edelstahlplättchen
(50 × 15 × 1 mm)



Abb. 5: Hedström-Feile
(ISO-Größe 120)

5.3 Materialien für die Anschmutzmethode

Um eine geeignete Anschmutzmethode, sowohl für die Edelstahlplättchen als auch für die Hedström-Feilen, zu finden, kamen verschiedene Möglichkeiten in Betracht. Es wurden Versuche mit Insulin-Spritzen sowie Eppendorf-Pipetten durchgeführt. Des Weiteren wurden die Hedström-Feilen durch ein Tauchbad mit der Testanschmutzung versehen.

Eppendorf-Research Pipetten

Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Bestellnummer 10-100 µl: 3111000.149

Bestellnummer 100-1000 µl: 3111000.165

Insulin-Spritzen mit Kanüle

BD Plastipak, Firma Becton Dickinson,
Madrid, Spanien

Fassungsvermögen: 1 ml

Einheit: IE = Internationale Einheit

Bestellnummer: 300334

Chargennummer: 0710034

5.4 Interim-Stand mit Schaumstoffscheiben

Sowohl die Interim-Stände als auch die Schaumstoffscheiben (Abb. 6), die laut Vertreiber einmalig dampfsterilisierbar sind, wurden vor dem Gebrauch für 3 min bei 134 °C in Sterilgutbarrieresystemen dampfsterilisiert. Die vorherige Reinigung der Interim-Stände erfolgte wie bei den Edelstahlplättchen mit dem Neutral-Reiniger. Die Interim-Stände bestanden aus drei Komponenten. In die Behälter (A) wurden jeweils 20 ml der zu untersuchenden Lösungen gefüllt. Im Anschluss daran wurden die blauen Schaumstoffscheiben (B) auf die Behälter aufgesetzt. Diese wurden durch das Überstreifen des schwarzen Ringes (C) an dem Behälter fixiert. Die Schaumstoffscheiben waren durch das Befüllen der Interim-Stände mit 20 ml der Testlösungen vollständig durchtränkt.

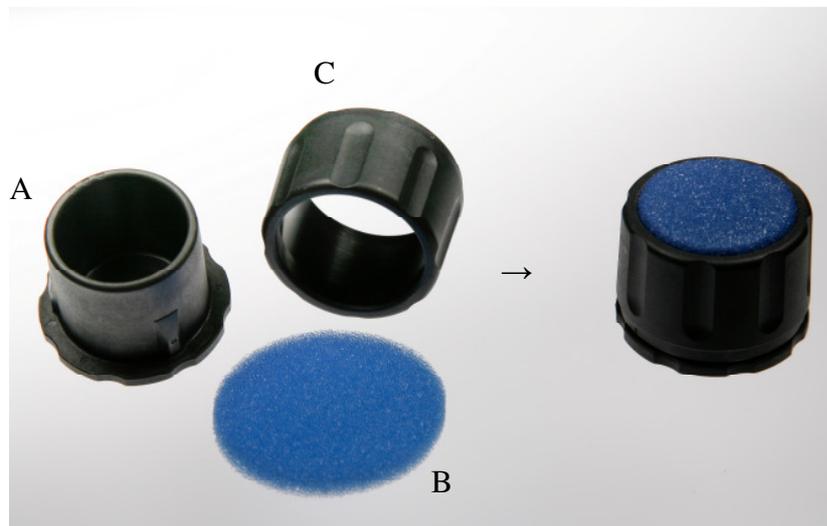


Abb. 6: Interim-Stand
(links: Einzelteile, A = Behälter, B = Schaumstoffscheibe,
C = Fixierring für die Schaumstoffscheibe; rechts: zusammengesetzter Interim-Stand)

Interim-Stand

Firma VDW GmbH, München, Deutschland

Bestellnummer: V 040495

Schaumstoffscheiben

Vertreiber: Firma VDW GmbH, München,
Deutschland

Bestellnummer: V 040496

Hersteller: Firma Wirth Schaumstoffe OHG,
Mühlheim, Deutschland

Typ: MTC 30, Farbe: blau, nicht retikuliert

5.5 Testlösungen

Folgende Testlösungen wurden für die Untersuchungen verwendet:

- | | |
|---------------------------------|---|
| - 2-Propanol 70 % (Isopropanol) | Firma Braun, Melsungen, Deutschland
PZN: 8505455
Chargennummer: 8181M05 |
| 100 g Lösung enthalten | 2-Propanol 62,8 g, gereinigtes Wasser |
| Darreichungsform und Inhalt | Lösung zu 1 Liter Desinfektionsmittel |
| - Kochsalzlösung 0,9 % | Vertreiber: Fresenius Kabi Deutschland GmbH,
Bad Homburg, Deutschland
Hersteller: Fresenius Kabi France, Louviers,
Frankreich
PZN: 4801702
Chargennummer: 13BOP151 |
| 1 Liter enthält | Natriumchlorid 9,00 g
Na ⁺ 154 mmol/l
Cl ⁻ 154 mmol/l |
| Darreichungsform und Inhalt | Wasser, Salzsäure und Natriumhydroxid zur
pH-Wert-Einstellung
1000 ml Lösung, Plastipur-Flasche |
| - Natriumhypochlorit 1 % | Firma Hedinger, Stuttgart, Deutschland
PZN: 8917318
Chargennummer: 045133 |
| 100 ml Lösung enthalten | Natriumhypochlorit-Lösung 12,5 % Chlor DAC
ca. 10,0 g, gereinigtes Wasser |
| Gehalt an aktivem Chlor | 0,9-1,1 % |
| Darreichungsform und Inhalt | 250 ml Lösung, 1 % Chlor aktiv |
| - Lavasorb 0,04 % | Firma Fresenius Kabi Norge AS, Halden,
Norwegen, Wirkstoff: Polyhexanidum
PZN: 1341743 |

	Chargennummer: 12BLS09
1 ml Lösung enthält	Polyhexanidum 0,04 mg
	Macrogolum 4000 0,02 mg
	Natriumchlorid 8,60 mg
	Kalziumchlorid 0,33 mg
	Kaliumchlorid 0,30 mg
	Aqua purif. ad 1 ml
Darreichungsform und Inhalt	250 ml sterile Lösung
- Polyhexanid 0,04 %	Krankenhausapotheke der Charité, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland
	Chargennummer: unbekannt
100 g Lösung enthalten	Polyhexanid 40 mg
Weitere Bestandteile	Macrogol 4000, Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Kalziumchlorid-Dihydrat, Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform und Inhalt	250 ml sterile Lösung
- Chlorhexidindiglukonatlösung 0,2 %	Krankenhausapotheke der Charité, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland
	Chargennummer: unbekannt
100 g Lösung enthalten	Chlorhexidindiglukonat 20 % 1,0 g, Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform und Inhalt	200 ml sterilisierte Lösung, alkoholfrei, frei von Farb- und Aromastoffen
- Chlorhexidindiglukonatlösung 2 %	Krankenhausapotheke der Charité, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland
	Chargennummer: unbekannt
100 g Lösung enthalten	Chlorhexidindiglukonat 20 % 10,0 g, Wasser für Injektionszwecke

Darreichungsform und Inhalt	200 ml sterilisierte Lösung, alkoholfrei, frei von Farb- und Aromastoffen → im weiteren Verlauf als Chlorhexidindiglukonat A bezeichnet
- Chlorhexidindiglukonatlösung 2 %	Firma lege artis Pharma GmbH + Co KG, Dettenhausen, Deutschland PZN: unbekannt Chargennummer: 01.047.2009
100 g Lösung enthalten	Chlorhexidindiglukonat 20 % 10,0 g, gereinigtes Wasser
Darreichungsform und Inhalt	200 ml Lösung, alkoholfrei → im weiteren Verlauf als Chlorhexidindiglukonat B bezeichnet
- Endo CHX 2 %	Firma lege artis Pharma GmbH + Co KG, Dettenhausen, Deutschland PZN: unbekannt Chargennummer: 0300409
100 g Lösung enthalten	Chlorhexidindiglukonat 20 % 10,0 g, Tenside, gereinigtes Wasser
Darreichungsform und Inhalt	200 ml Lösung, alkoholfrei

5.6 Materialien und Geräte

Dodecylsulfate Na-Salt	Firma Serva, Heidelberg, Deutschland Bestellnummer: 20760
N,N-Dimethyl-2-Mercaptoethyl- ammoniumchlorid	Firma Merck, Darmstadt, Deutschland Bestellnummer: 820497
Di-Natriumtetraborat, wasserfrei	Firma Merck, Darmstadt, Deutschland Bestellnummer: 106306
Ortho-Phthaldialdehyd (97 %)	Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland, Bestellnummer: P 1378-5G
Methanol (99,5 %)	Firma Merck, Darmstadt, Deutschland Bestellnummer: 6007

SDS-Lösung 20 %	Eigenherstellung
L-Leucin	Firma Merck, Darmstadt, Deutschland Bestellnummer: 105360
Dampfsterilisator	Selectomat S 3000, Firma MMM, München Gerätenummer: 911002-I
Sterilgutbarrieresystem	BOP DI, Firma Amcor, Coulommiers, Frankreich Größe: 270 × 350 mm, LOT-Nr. 279 Bestellnummer: 201819 Größe: 100 × 300 mm, LOT-Nr. 479 Bestellnummer: 201812

Das verwendete Sterilgutbarrieresystem besitzt eine Papier- sowie eine transparente Folienseite und wird durch eine Schweißnaht verschlossen. In den großen Beuteln wurden die Interim-Stände sowie die Schaumstoffscheiben, in den kleineren, schmaleren Beuteln die Hedström-Feilen sterilisiert. Die Sterilisation erfolgte im Dampfsterilisator bei 134 °C für 3 min.

Handschuhe, steril	Firma Ansell Healthcare Europe NV, Brüssel Chargennummer: 0608504104-, 245-903
Küvetten	Firma Hellma, Halb-Mikro-Küvetten aus Quarzglas, Schichtdicke: 1 cm
Analysenwaage	Firma Sartorius, Göttingen, Deutschland
Schüttler	Certomat [®] U, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
Magnetrührer	Typ MR 2002, Firma Heidolph, Schwabach, Deutschland
Destilliertes Wasser	Eigenherstellung der AG Technische Hygiene, Charité - Universitätsmedizin Berlin
Spektralphotometer	Beckman [®] , Modell 25, Firma Scientific Instruments Division, Irvine, USA

Die Lichtquelle (Halogenlampe) des Spektralphotometers sendet polychromatisches Licht aus (Abb. 7), welches durch den Monochromator (Prisma) in ein monochromatisches Licht umgewandelt wird. Dieses monochromatische Licht ist Licht einer bestimmten, einstellbaren Wellenlänge. Durch Auftreffen des Lichtes auf einen Spiegel wird dieses geteilt, so dass zwei Strahlen-

gänge entstehen. Der eine Strahl des Lichts trifft auf die Küvette, die die Probe enthält. Ein Teil dieses Lichtes wird von der Probe in der Küvette absorbiert. Der andere Strahl des Lichts wird durch die Küvette geleitet, in dem sich das zum Lösen der Probe verwendete Lösungsmittel befindet. Diese gleichzeitige Referenzmessung verhindert eine eventuelle Verfälschung der Messungen durch Lichtreflexionen an der Küvette oder durch eigenes Absorptionsverhalten des Lösungsmittels. Die Detektoren erfassen somit nur die tatsächliche Absorption (auch Extinktion genannt) der Probe in der Küvette.

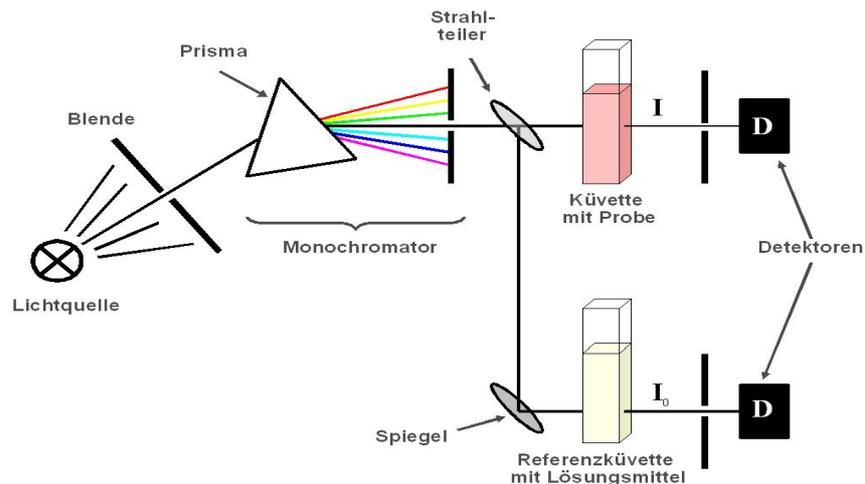


Abb. 7: Schematischer Aufbau eines Zweistrahl-Photometers

(Quelle: <http://unibielefeld.de/chemie/lehre>)

Bei den Probenmessungen im Photometer (siehe 6.2, S. 31) wurde die Nachweisgrenze für Proteine bei einer Extinktion von 0,003 festgelegt (in Anlehnung an die Dissertationen von Schönherr 2005 und Radimersky 2012). Diese Nachweisgrenze gilt sowohl für die Messungen mit der OPA-Lösung (Extinktion) als auch für die Messungen mit der 1 %igen SDS-Lösung (Eigenextinktion).

5.7 Herstellung der Lösungen

5.7.1 Herstellung der SDS-Lösungen (1 %ig und 20 %ig)

Für die Herstellung der 20 %igen SDS-Lösung (Lösung A) wurden 10,00 g Dodecylsulfat in einem 100 ml Erlenmeyerkolben abgemessen. Danach wurden mit Hilfe eines Messkolbens 50 ml destilliertes Wasser abgemessen. Die 10,00 g Dodecylsulfat wurden in diesen 50 ml destilliertem Wasser auf einem Magnetrührer vollständig aufgelöst, so dass eine klare Lösung entstand. Für

die Herstellung einer 1 %igen SDS-Lösung wurden 950 ml destilliertes Wasser zu 50 ml einer 20 %igen SDS-Lösung zugegeben. Die 1 %ige SDS-Lösung wurde sowohl für die Probengewinnung als auch für die Messung der Eigenextinktion im Photometer benötigt. Die Prüfkörper wurden nach jedem Versuch in der 1 %igen SDS-Lösung gelagert, um von den Prüfkörpern eventuell vorhandene Reste der Testanschmutzung abzulösen. Aufgrund der unterschiedlichen Größe der verwendeten Prüfkörper wurde ein unterschiedlich großes Volumen der 1 %igen SDS-Lösung benötigt. Die Edelstahlplättchen wurden in großen Reagenzgläsern gelagert und benötigten zur vollständigen Bedeckung 20 ml 1 %ige SDS-Lösung. Für die Hedström-Feilen wurden kleine Reagenzgläser verwendet. Zur vollständigen Bedeckung der Feilen waren dabei 10 ml 1 %ige SDS-Lösung ausreichend.

5.7.2 Herstellung der OPA-Lösung

Zunächst wurden 0,040 g ortho-Phthaldialdehyd (Substanz B) auf einer Waage in einem 10 ml Erlenmeyerkolben sowie 0,1160 g 2-Mercaptoethansulfonsäure (Substanz C) in einem weiteren 10 ml Erlenmeyerkolben abgewogen. Das ortho-Phthaldialdehyd wurde in 1 ml Methanol auf dem Magnetrührer gelöst (Lösung B) und anschließend mit Hilfe einer Pasteurpipette in den Erlenmeyerkolben mit der 2-Mercaptoethansulfonsäure überführt (Lösung B + C). In einem 100 ml Erlenmeyerkolben wurden 1,0050 g di-Natriumtetraborat abgewogen und in 50 ml destilliertem Wasser auf dem Magnetrührer gelöst (Lösung D). Nachdem Lösung B + C vollständig in Lösung gegangen war, wurde sie mit einer Pasteurpipette in die Lösung D überführt (= Lösung E). Der Erlenmeyerkolben der Lösung B + C wurde anschließend mehrere Male mit der Lösung E gespült. Zum Schluss wurden 1,25 ml der 20 %igen SDS-Lösung zugegeben.

5.7.3 Herstellung der Leucin-Lösung

Für die Herstellung der Leucin-Lösung wurden 0,0655 g Leucin in einem 50 ml Messkolben abgewogen und mit 50 ml destilliertem Wasser aufgefüllt.

6. Methode

6.1 Die modifizierte OPA-Methode

Mit der ortho-Phthaldialdehyd-Methode (OPA-Methode) ist ein quantitativer Proteinnachweis möglich. Das Prinzip beruht auf der Reaktion des ortho-Phthaldialdehyds, in Anwesenheit einer Thiolkomponente, mit endständigen α - und ϵ -Aminogruppen zu einem fluoreszierenden Endprodukt, welches zu der Gruppe der Isoindole gehört. Diese fluoreszierenden Endprodukte besitzen ein Absorptionsmaximum bei 340 nm und sind daher spektralphotometrisch erfassbar. Bei der modifizierten OPA-Methode wurde das Ethanthiol (Thiolkomponente) durch 2-Mercaptoethansulfonsäure ersetzt, wodurch das Extinktionsverhalten stabilisiert werden konnte. Zwischen den gemessenen Extinktionswerten und dem Gehalt an freien Aminogruppen besteht eine lineare Beziehung, so dass mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes die Menge an freien α - und ϵ -Aminogruppen berechnet werden kann.

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

E = Extinktion

c = Konzentration

ϵ = Extinktionskoeffizient

d = Schichtdicke der Lösung

Frister et al. (1988) ermittelten einen Extinktionskoeffizienten ϵ von $6,42 \pm 0,20 \text{ mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times \text{l}$. Dieser Wert ergab sich durch Untersuchung eines Gemisches von 19 verschiedenen Aminosäuren, deren terminale α - und ϵ -Aminogruppen bestimmt wurden. Die Proteinkonzentration (Einheit: $\mu\text{mol/ml}$) berechnet sich nach Umstellung der oben genannten Formel wie folgt:

$$c = E / (\epsilon \times d)$$

6.2 Probenmessungen im Photometer

Die Probenmessungen im Photometer wurden mit Quarzglasküvetten durchgeführt. Die Referenzküvette (R) ist die Küvette, die entweder 1000 μl OPA- oder 1 %ige SDS-Lösung enthält und die nach erfolgter Nulleinstellung des Photometers im Photometer verbleibt. Die Sampleküvette (S) ist die Küvette, die zusätzlich zu den 1000 μl an OPA- oder 1 %iger SDS-Lösung noch 100 μl Probe (engl. sample) enthält. Die Sampleküvette wird nach jeder Probenmessung

mit destilliertem Wasser gespült und anschließend neu befüllt. Vor den Probenmessungen erfolgte die Nulleinstellung des Photometers. Dazu wurden in die S- und R-Küvette zunächst jeweils 1000 µl der OPA-Lösung pipettiert. Bei einer Wellenlänge von 340 nm wurde der Nullpunkt am Photometer eingestellt. Anschließend erfolgte die Messung des Leucin-Standards. Dieser dient zur Überprüfung der Funktionstüchtigkeit der OPA-Lösung. Hierzu wurde in die S-Küvette 10 µl Leucin-Standard zu 1000 µl der OPA-Lösung gegeben, viermal geschwenkt und nach 2 min der Wert, welcher durch den Leucin-Standard verursacht wurde, abgelesen. Die R-Küvette enthielt 1000 µl OPA-Lösung. Der Wert sollte bei 0,6414 ($\pm 0,02$) liegen. Danach erfolgten die Probenmessungen im Photometer. Der Extinktionswert ist der Wert, welcher durch die OPA-Reaktion mit endständigen α - und ε -Aminogruppen im Blut enthaltener Proteine verursacht wird. Hierzu enthielt die R-Küvette 1000 µl OPA-Lösung. Die S-Küvette enthielt 1000 µl OPA-Lösung, in die zusätzlich 100 µl der zu untersuchenden Probe pipettiert wurde. Die S-Küvette wurde anschließend viermal geschwenkt und nach der Reaktionszeit von 2 min konnte der Wert abgelesen werden.

Im Anschluss an die Extinktionsmessungen erfolgten die Messungen der Eigenextinktion. Die Eigenextinktion ist der Wert, welcher durch die Eigenfärbung der Probenlösung verursacht wird. In der vorliegenden Untersuchung wurde diese Eigenfärbung durch den Blutfarbstoff Hämoglobin verursacht. Vor den Probenmessungen erfolgte die Nulleinstellung des Photometers mit der 1 %igen SDS-Lösung. Anschließend wurde in die S-Küvette zusätzlich zu den 1000 µl der 1 %igen SDS-Lösung 100 µl der zu untersuchenden Probe pipettiert. Die S-Küvette wurde viermal geschwenkt und nach einer Reaktionszeit von 2 min konnte der Wert abgelesen werden. Die Ermittlung der Eigenextinktion der Probenlösungen war für die Berechnung der Proteinkonzentrationen notwendig. Durch Subtraktion der Eigenextinktionswerte von den Extinktionswerten erhält man die Werte (= E, siehe Formel auf S. 31), die für die Berechnung der Proteinkonzentrationen mit Hilfe des Lambert Beer'schen Gesetzes notwendig sind. Voraussetzung für die Berechnung ist, dass der Eigenextinktionswert kleiner ist als der gemessene Extinktionswert. Ansonsten verliert das Lambert Beer'sche Gesetz seine Gültigkeit.

6.3 Gewinnung der Probenlösungen

Als Prüfkörper wurden Edelstahlplättchen sowie Hedström-Feilen unterschiedlicher ISO-Größen untersucht. Beide Prüfkörper wurden mit verschiedenen definierten Mengen der Testanschmutzung beschmutzt (wie anschließend im Einzelnen beschrieben wird). Nach einer

Trocknungszeit von 1 h wurden die Edelstahlplättchen für 5 min in 20 ml der zu untersuchenden Testlösung gelegt. Danach wurden sie mit Hilfe von Pinzetten in Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt und darin für 5 min gelagert, bevor sie für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt wurden. Danach wurden die Edelstahlplättchen mit Pinzetten aus den Reagenzgläsern entfernt. Im Anschluss daran wurden die Probenmessungen im Photometer durchgeführt.

Die Hedström-Feilen wurden nach der Anschmutzung und der Trocknungszeit von 1 h durch unterschiedliche Bearbeitungsweisen (wie anschließend im Einzelnen beschrieben wird) in den Interim-Ständen gereinigt. In den Interim-Ständen befanden sich jeweils 20 ml der zu untersuchenden Testlösung. In den Versuchen wurden folgende Bearbeitungsweisen angewandt:

1. Die Hedström-Feilen wurden nacheinander unterschiedlich häufig durch die Schaumstoffscheibe gestochen. Das bedeutet, dass die Arbeitsenden einmal, dreimal sowie fünfmal hintereinander bis zum Anfang des Instrumentengriffes durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen wurden. Danach wurden sie für 5 min in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung gelagert und für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Anschließend wurden die Hedström-Feilen mit Hilfe von Pinzetten aus den Reagenzgläsern entfernt.

2. Die Hedström-Feilen wurden unterschiedlich langen Zeiten den Testlösungen ausgesetzt. Hierzu wurden die Arbeitsenden der Feilen, bis zum Anfang des Instrumentengriffes, einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und verblieben dann 30 s, 60 s sowie 300 s hängend in den mit den Testlösungen befüllten Interim-Ständen. Nach Ablauf der jeweiligen Zeit wurden die Hedström-Feilen aus der Schaumstoffscheibe herausgezogen, in Reagenzgläser mit jeweils 10 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt und für 5 min darin gelagert. Anschließend wurden die Reagenzgläser für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Danach wurden die Hedström-Feilen mit Hilfe von Pinzetten entfernt.

Die Probenlösungen, welche für die Extinktionsmessungen verwendet wurden, bestanden demnach aus 10 ml (Hedström-Feilen) und 20 ml (Edelstahlplättchen) 1 %iger SDS-Lösung, in welchen sich unterschiedliche Mengen der bereits abgelösten Testanschmutzung befanden.

Prüfkörperanzahl

Insgesamt wurden 323 Edelstahlplättchen sowie 259 Hedström-Feilen verschiedener ISO-Größen in den Versuchen verwendet. Die Anzahl der Hedström-Feilen setzt sich wie folgt zusammen: insgesamt 49 Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70 sowie 80 und 18 Hedström-Feilen der ISO-Größen 120, 130 und 140. Nach Festlegung der ISO-Größe 120 als Prüfkörper wurden in den darauffolgenden Untersuchungen 192 Hedström-Feilen dieser ISO-Größe verwendet.

6.4 Entwicklung einer Anschmutzmethode sowie Findung einer geeigneten Menge an Testanschmutzung

6.4.1 Versuch mit Edelstahlplättchen und Zitratblut

Die Abnahme von venösem Blut erfolgte mit dem Butterfly-System und zunächst mit Entnahmeröhrchen, die Zitrat enthielten. Es wurde kein Zusatz zur Gerinnungsaktivierung dazugegeben. Mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette wurden sechs Edelstahlplättchen mit 100 µl Zitratblut sowie sechs weitere Plättchen mit 200 µl Zitratblut beschmutzt und 1 h getrocknet, um die Trocknungszeit verschiedener Blutmengen festzustellen. Die Plättchen mit vollständig getrockneter Blutanschmutzung (100 µl) wurden anschließend für 5 min in je 20 ml 1 %ige SDS-Lösung gegeben und anschließend für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt (n = 12).

6.4.2 Versuche mit Hedström-Feilen und Zitratblut

Versuch mit Eppendorf-Pipetten

Dieser Versuch erfolgte mit jeweils zwei Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70, 80 und einem Volumen von 10 µl nicht reaktiviertem Zitratblut. Mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette wurde versucht, 10 µl dieser Testanschmutzung auf die Hedström-Feilen aufzubringen (n = 14).

Versuch mit einem Tauchbad

Ein weiterer Versuch, die Hedström-Feilen der ISO-Größen 15 bis 80 mit einer definierten Menge Zitratblut zu beschmutzen, bestand darin, die Feilen zu wiegen und sie anschließend in Blut zu tauchen, um sie danach erneut zu wiegen. Dafür wurden jeweils zwei Feilen der ISO-Größen 15 bis 80 auf der Analysenwaage gewogen. Anschließend wurden die Arbeitsteile der Hedström-Feilen zwischen 30 s und 120 s in das nicht reaktivierte Zitratblut getaucht, um herauszufinden, welchen Einfluss unterschiedliche Eintauchzeiten auf das Anschmutzungsergebnis haben.

Für jeweils 30 s wurden die ISO-Größen 30 und 50 in das nicht reaktivierte Zitratblut getaucht. Die ISO-Größen 15 und 70 verblieben 60 s, die ISO-Größen 60 und 80 verblieben jeweils 120 s im nicht reaktivierten Zitratblut. Nach einer Trocknungszeit von 1 h erfolgte die makroskopische Untersuchung sowie das erneute Wiegen der Hedström-Feilen (n = 14).

Versuch mit Insulin-Spritzen

Um die Hedström-Feilen mit einer definierten Menge Blut beschmutzen zu können, wurden in diesem Versuch Insulin-Spritzen verwendet. Diese besitzen eine feinere Kanüle, um damit das Zitratblut exakt auf das Arbeitsteil von Hedström-Feilen der ISO-Größen 15 bis 80 applizieren zu können. Es wurde sowohl nicht aktiviertes, nicht aktiviertes verdünntes als auch reaktiviertes Zitratblut verwendet (n = 21).

6.4.3 Versuche mit Heparinblut

Versuche zum Protaminvolumen

Um 1 ml heparinisiertes Blut reaktivieren zu können, wurden Versuche mit der Zugabe von 16 µl, 20 µl, 25 µl sowie 32 µl Protamin durchgeführt. Ziel war es, eine vollständige Gerinnung des Blutes innerhalb einer bestimmten Zeit zu erhalten, die für die Beschmutzung der Hedström-Feilen ausreichend war (n = 18). Ausgangspunkt für das Protaminvolumen war die DIN ISO/TS 15883-5 Anhang A (2005). Hier wurden für die Reaktivierung von 1 ml Heparinblut 15 µl Protamin eingesetzt.

Versuche mit Edelstahlplättchen und 10 µl Testanschmutzung

Es erfolgten Versuche mit Edelstahlplättchen und den folgenden Testlösungen:

1. Isopropanol
2. Natriumhypochlorit
3. Chlorhexidindigluconat 0,2 %
4. Polyhexanid (Lavasorb)
5. Kochsalzlösung

Die Abnahme von 2 ml venösem Heparinlut erfolgte am jeweiligen Versuchstag. Es wurden 40 µl Protamin zugesetzt und anschließend erfolgte die Anschmutzung der Prüfkörper mit jeweils 10 µl der Testanschmutzung. Pro verwendeter Testlösung wurden sechs Edelstahlplättchen untersucht. Die Edelstahlplättchen wurden mit Hilfe der Eppendorf-Pipette mit jeweils 10 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzt. Danach folgte eine Trocknungszeit von 1 h. Während der Trocknungszeit wurden je sechs Reagenzgläser mit jeweils 20 ml der zu untersuchenden Lösung (siehe oben) sowie 30 weitere Reagenzgläser mit je 20 ml 1 %iger SDS-Lösung befüllt. Nach der Trocknungszeit wurden die Edelstahlplättchen mit einer Pinzette in die Reagenzgläser mit der zu untersuchenden Lösung gelegt. Nach 5 min wurden die Edelstahlplättchen mit Hilfe von Pinzetten in die Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt und darin für weitere 5 min gelagert. Anschließend wurden die Reagenzgläser für 5 min auf den Schüttler gestellt und danach erfolgten die Extinktionsmessungen der SDS-Lösungen im Photometer. Es wurde sowohl der Proteingehalt der SDS-Lösungen (Extinktion) als auch der Hämoglobingehalt der SDS-Lösungen (Eigenextinktion) bestimmt, da sich in den SDS-Lösungen abgelöste Anteile der Testanschmutzung befanden (n = 30).

Versuche mit Edelstahlplättchen und 50 µl Testanschmutzung

Es wurden 2 ml Heparinblut mit 40 µl Protamin reaktiviert und mit Hilfe der Eppendorf-Pipette je 50 µl als Testanschmutzung auf die Edelstahlplättchen appliziert. Mit der Testanschmutzung wurden sechs Edelstahlplättchen pro Testlösung (s. o.) beschmutzt, die nach einer Trocknungszeit von 1 h in die Reagenzgläser mit je 20 ml der zu untersuchenden Lösungen (= Testlösung A) gelegt wurden. Nach 5 min Lagerung in den Testlösungen wurden die Edelstahlplättchen in 20 ml 1 %ige SDS-Lösung mittels Pinzetten überführt, für weitere 5 min darin gelagert und an-

schließend 5 min geschüttelt. Danach erfolgten die Messungen der SDS-Lösungen im Photometer. Der Versuch wurde zweimal durchgeführt (n = 60).

In dem eben beschriebenen Versuchsaufbau verblieben die Edelstahlplättchen nach dem Schütteln die gesamte Zeit über in den Reagenzgläsern. In einem weiteren Versuch wurden die Edelstahlplättchen nach dem Schütteln aus den Reagenzgläsern entfernt. Anschließend wurden die Reagenzgläser für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Der Versuch wurde insgesamt dreimal mit jeweils sechs Edelstahlplättchen pro Testlösung durchgeführt (n = 90).

Die Testlösungen A, in denen die mit 50 µl Testanschmutzung beschmutzten Edelstahlplättchen zu Beginn der Untersuchung für 5 min gelagert wurden, wurden ebenfalls den Messungen unterzogen (n = 90).

Versuch mit Hedström-Feilen größerer ISO-Größe und Heparinblut

Die venöse Blutentnahme erfolgte erneut mit dem sogenannten Butterfly-System. Die Entnahmeröhrchen enthielten Heparin als gerinnungshemmenden Zusatz. Die Reaktivierung von 1 ml Heparinblut erfolgte durch die Zugabe von 20 µl Protamin. Es wurden jeweils 10 µl des reaktivierten Blutes mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten auf die Gewindgänge (Arbeitsteil) von jeweils sechs Hedström-Feilen der ISO-Größen 120, 130 und 140 aufgetragen (n = 18).

6.5 Untersuchungen zum Extinktionsverhalten der Testlösungen

Da die Testlösungen selbst möglicherweise eine Extinktion- oder Eigenextinktion besitzen oder durch die Reaktion mit der OPA- und/oder SDS-Lösung einen Extinktions- oder Eigenextinktionswert hervorrufen könnten, wurde deren Extinktionsverhalten untersucht. Die Messungen wurden sowohl mit der OPA-Lösung als auch mit der 1 %igen SDS-Lösung und jeweils 100 µl der zu untersuchenden Testlösung durchgeführt. Von den folgenden fünf Lösungen wurden jeweils zwölf Proben untersucht (n = 60):

1. Isopropanol
2. Natriumhypochlorit
3. Chlorhexidindigluconat 0,2 %
4. Polyhexanid (Lavasorb)

5. Kochsalzlösung

Von den folgenden vier Lösungen wurden jeweils sechs Proben untersucht (n = 24):

1. Chlorhexidindigluconat A
2. Chlorhexidindigluconat B
3. Endo CHX
4. Polyhexanid (Charité)

Das Polyhexanid der Krankenhausapotheke der Charité ersetzte das bis dahin verwendete Polyhexanid der Firma Lavasorb.

6.5.1 Verdünnungsreihenversuch zur Ermittlung des Extinktionsverhaltens der Testlösungen

Ziel dieser Untersuchung war die Erstellung von Diagrammen, aus denen sich die Werte für die Extinktion bzw. Eigenextinktion der Testlösungen, zur Darstellung der Werte in Abhängigkeit von ihrer Konzentration, ablesen lassen. Es wurden alle Lösungen untersucht, die entweder mit der OPA-Lösung und/oder der 1 %igen SDS-Lösung reagiert hatten. Diese waren das 0,2 %ige Chlorhexidindigluconat, das 0,04 %ige Polyhexanid sowie das 1 %ige Natriumhypochlorit. Für die Verdünnung wurde 1 ml reaktiviertes Heparinblut mit 9 ml destilliertem Wasser gemischt. Diese Blutverdünnung diente als Testanschmutzung. Es wurden in je zwölf Reagenzgläser 20 ml der drei verschiedenen Lösungen pipettiert und unterschiedliche Mengen der Testanschmutzung dazugegeben. In weitere zwölf Reagenzgläser wurden jeweils 20 ml 1 %ige SDS-Lösung zusammen mit den unterschiedlichen Volumina der Testanschmutzung pipettiert. Folgende Mengen (μl) der Testanschmutzung wurden verwendet: 5, 10, 25, 35, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 und 300 (n = 48).

Verdünnungsreihenversuch mit Erhöhung der Blutverdünnungsmenge

In einem weiteren Versuch wurde zusätzlich zu den oben bereits erwähnten Lösungen (siehe 6.5.1) das Endo CHX untersucht. Außerdem wurden hierbei die Mengen (μl) der Testanschmutzungen verändert: 12,5, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400 sowie 500. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde jede Testlösung ohne Zusatz der Blutverdünnung

ebenfalls untersucht. Es wurden 13 Reagenzgläser mit den Testlösungen sowie 13 Reagenzgläser mit der 1 %igen SDS-Lösung befüllt (n = 156).

6.5.2 Versuche zum Ausschluss von Verschleppungen der Testlösungen

Versuch mit Edelstahlplättchen und den Testlösungen

Es stellte sich die Frage, ob die geringe Menge Testlösung, die an den Edelstahlplättchen nach der 5 minütigen Lagerung in den Testlösungen haftet, tatsächlich die gemessenen Werte beeinflusst hat. Es wurden jeweils sechs Edelstahlplättchen für 5 min in Reagenzgläser mit 20 ml der zu untersuchenden Testlösungen gelegt, danach in Reagenzgläser mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt und für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Danach wurden die Plättchen aus den Reagenzgläsern entfernt und es erfolgten die Probenmessungen (n = 30).

Folgende Lösungen wurden untersucht:

1. Natriumhypochlorit
2. Chlorhexidindiglukonat 0,2 %
3. Polyhexanid
4. Endo CHX
5. Chlorhexidindiglukonat A

Versuch mit geringen Mengen der Testlösungen auf den Edelstahlplättchen

Im ersten Versuchsaufbau wurden unterschiedliche Mengen der Testlösungen (1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 sowie 100 μ l) auf die Edelstahlplättchen aufgebracht. Im Anschluss folgte eine Trocknungszeit von 1 h. Danach wurde jedes Plättchen in ein Reagenzglas mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung gelegt und für 5 min auf den Schüttler gestellt. Nachdem die Plättchen mit Pinzetten aus den Reagenzgläsern entfernt wurden, erfolgten die Probenmessungen. Für jede Testlösung wurden zwölf Edelstahlplättchen beschmutzt (n = 60).

Im zweiten Versuchsaufbau wurden dieselben Mengen an Testlösungen direkt in Reagenzgläser mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung pipettiert, für 5 min geschüttelt und die Extinktionswerte ermittelt. Für jede Testlösung wurden zwölf Reagenzgläser verwendet (n = 60).

Folgende Lösungen wurden untersucht:

1. Chlorhexidindigluconat 0,2 %
2. Polyhexanid
3. Natriumhypochlorit
4. Chlorhexidindigluconat A
5. Chlorhexidindigluconat B

Versuch mit Erhöhung der Testlösungsmenge auf den Edelstahlplättchen

Um eine Verschleppung der Testlösungen von den Reagenzgläsern mit den Testlösungen in die Reagenzgläser mit der 1 %igen SDS-Lösung sicher ausschließen zu können, wurden die Mengen der Testlösungen auf den Edelstahlplättchen wie folgt erhöht: 150, 200, 250, 300, 400 sowie 500 μ l (n = 30). Dieselben Mengen wurden anschließend direkt in 20 ml 1 %ige SDS-Lösung pipettiert und für 5 min auf den Schüttler gestellt. Anschließend erfolgten die Probenmessungen (n = 30).

6.6 Ermittlung der Rückgewinnung

Um festzustellen, wie viel von der auf die Prüfkörper applizierten Testanschmutzung wieder zu gewinnen war, wurden die Rückgewinnungsraten bestimmt. Es wurden zwölf Hedström-Feilen der ISO-Größe 120, die mit 10 μ l Testanschmutzung beschmutzt waren, nach einer Trocknungszeit von 1 h, für 5 min in Reagenzgläser mit jeweils 10 ml 1 %iger SDS-Lösung gegeben und anschließend für 5 min auf den Schüttler gestellt. Nachdem die Feilen aus den Reagenzgläsern entfernt wurden, erfolgten die Probenmessungen (n = 12).

Die Edelstahlplättchen wurden mit 10 (n = 3) bzw. 50 μ l (n = 8) Testanschmutzung versehen und nach einer Trocknungszeit von 1 h für 5 min in Reagenzgläser mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung gelagert. Anschließend wurden die Reagenzgläser für 5 min auf den Schüttler gestellt. Nach der Entfernung der Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern erfolgten die Probenmessungen.

6.7 Ermittlung der Grundproteinmenge

Für die Ermittlung der Proteinmenge, welche tatsächlich in einem bestimmten Blutvolumen enthalten ist, wurden jeweils 10 µl der Testanschmutzung in zwölf Reagenzgläser mit 10 ml 1 %iger SDS-Lösung pipettiert. Das gleiche erfolgte mit jeweils 50 µl der Testanschmutzung in acht Reagenzgläser, die jeweils 20 ml 1 %ige SDS-Lösung enthielten. In weitere sechs Reagenzgläser die 20 ml 1 %ige SDS-Lösung enthielten, wurden jeweils 10 µl Testanschmutzung pipettiert. Nach einer Schüttlerzeit von 5 min erfolgten die Probenmessungen (n = 26).

6.8 Versuche mit den Testlösungen und den Interim-Ständen

Für diesen Versuch wurden die Interim-Stände mit 20 ml der zu untersuchenden Testlösungen befüllt. Ein Interim-Stand wurde als Kontrollgruppe unbefüllt verwendet. Die Hedström-Feilen der ISO-Größe 120, welche mit jeweils 10 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzt waren, wurden darin auf sechs unterschiedliche Bearbeitungsweisen gereinigt. Der Versuch wurde mit allen acht Lösungen sowie dem unbefüllten Interim-Stand dreimal durchgeführt. Insgesamt wurden 162 Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 verwendet (n = 162).

Folgende Testlösungen wurden untersucht:

1. Isopropanol
2. Natriumhypochlorit
3. Chlorhexidindiglukonat 0,2 %
4. Kochsalzlösung
5. Endo CHX
6. Polyhexanid
7. Chlorhexidindiglukonat A
8. Chlorhexidindiglukonat B
9. Kontrollgruppe (unbefüllter Interim-Stand)

Folgende Bearbeitungsweisen (1 bis 6) wurden gewählt:

1. Einmal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen
2. Dreimal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen

3. Fünfmal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen
4. 30 s Verweildauer im Interim-Stand
5. 60 s Verweildauer im Interim-Stand
6. 300 s Verweildauer im Interim-Stand

Bei den Bearbeitungsweisen 4 bis 6 wurden die Hedström-Feilen einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und verblieben dann entsprechend der Verweildauer hängend in den Testlösungen. Anschließend wurden sie wieder herausgezogen. Bei allen Bearbeitungsweisen wurden die Hedström-Feilen bis zum Anfang des Instrumentengriffes durch die Schaumstoffscheibe gestochen.

Die Testanschmutzung wurde mit Hilfe der Eppendorf-Pipette auf die Hedström-Feilen aufgetragen. Nach einer Trocknungszeit von 1 h erfolgte die Bearbeitung der Hedström-Feilen in den acht befüllten sowie in dem unbefüllten Interim-Stand. Für jeden Interim-Stand wurden sechs Hedström-Feilen (für jede Bearbeitungsweise eine) verwendet. Anschließend wurden die Hedström-Feilen für 5 min in Reagenzgläser mit jeweils 10 ml 1 %iger SDS-Lösung gelegt und danach für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Die Hedström-Feilen wurden mit Hilfe von Pinzetten aus den Reagenzgläsern entfernt und es folgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen zur Bestimmung der Restproteinkontamination, welche auf den Hedström-Feilen nach den Bearbeitungsweisen noch vorhanden war.

6.9 Zusammenfassung der Versuchsanordnung

1. Welche Testanschmutzung? → humanes Blut → zitratisiert (siehe 6.4.1 und 6.4.2) oder heparinisiert (siehe 6.4.3)?
→ Gerinnung nicht aktiviert oder aktiviert(siehe 6.4.1, 6.4.2 und 6.4.3)?

2. Welche Prüfkörper? → Edelstahlplättchen (siehe 6.4.1 und 6.4.3)
→ Hedström-Feilen → welche ISO-Größe (siehe 6.4.2 und 6.4.3)?

3. Applikation der Testanschmutzung auf die Prüfkörper
→ mit Eppendorf-Pipetten (siehe 6.4.2)?
→ mit einem Tauchbad (siehe 6.4.2)?
→ mit Insulin-Spritzen (siehe 6.4.2)?

4. Reaktion der Testlösungen mit der OPA- und/oder der 1 %igen SDS-Lösung?
→ wenn ja, findet eine Verschleppung der Testlösungen statt und beeinflussen diese die Extinktionsmessungen (siehe 6.5, 6.5.1 und 6.5.2)?

5. Rückgewinnung → Wie viel Testanschmutzung kann von einem Prüfkörper wiedergewonnen werden (siehe 6.6)?

6. Grundproteinmenge → Wie viele Proteine sind in einer bestimmten Menge Testanschmutzung enthalten (siehe 6.7)?

7. Versuch mit den Testlösungen und den Interim-Ständen (siehe 6.8)

7. Ergebnisse

7.1 Ergebnisse der anonymen Befragung

100 Berliner Zahnärzte wurden anonym befragt, ob sie einen Interim-Stand bei der Wurzelkanalbehandlung verwenden und falls ja, mit welcher Flüssigkeit sie diesen befüllen. Des Weiteren sollten sie Angaben dazu machen, welche Lösungen sie für das Spülen der Wurzelkanäle während der Wurzelkanalaufbereitung benutzen.

55 Berliner Zahnärzte nahmen an der anonymen Befragung teil. 26 Zahnärzte davon verwenden einen Interim-Stand während der Wurzelkanalbehandlung.

15 von diesen 26 Zahnärzten benutzen den Interim-Stand mit den folgenden Lösungen befüllt:

Alkohol	9 ×
Chlorhexidin	2 ×
Natriumhypochlorit	1 ×
Wasserstoffperoxid	2 ×
Flächendesinfektionsmittel	1 ×

Die anderen Zahnärzte benutzen den Interim-Stand unbefüllt.

Bei der Frage nach den für die Spülung der Wurzelkanäle verwendeten Spüllösungen wurde am häufigsten Natriumhypochlorit (42 ×) genannt. An zweiter und dritter Stelle wurden Chlorhexidin (27 ×) und Wasserstoffperoxid genannt (20 ×). Selten werden folgende Substanzen zur Wurzelkanalspülung verwendet: physiologische Kochsalzlösung (2 ×), EDTA-Lösung, Calcinase und Wasser (jeweils 1 ×).

7.2 Ergebnisse des Methodenteils

7.2.1 Ergebnisse zur Entwicklung einer Anschmutzmethode sowie zur Findung einer geeigneten Menge an Testanschmutzung

Edelstahlplättchen und Zitratblut

Um eine geeignete Anschmutzmethode sowie Testanschmutzungsmenge zu finden, wurde mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten 100 bzw. 200 µl nicht reaktiviertes Zitratblut auf jeweils sechs Edelstahlplättchen aufgebracht. Die sechs Edelstahlplättchen mit jeweils 200 µl Zitratblut waren nach 1 h noch nicht vollständig getrocknet und mussten daher verworfen werden. Die sechs Edelstahlplättchen mit jeweils 100 µl Blutanschmutzung waren dagegen vollständig angetrocknet, so dass diese Plättchen für 5 min in Reagenzgläser mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung gelegt und anschließend für weitere 5 min auf dem Schüttler gestellt wurden. Bei den Extinktionsmessungen (mit der OPA-Lösung) der Probenlösungen konnten die in Tabelle 1 dargestellten Werte gemessen werden, die zwischen 0,346 und 0,419 lagen (n = 12).

Tab. 1: Ergebnisse der Extinktionsmessungen der Probenlösungen

Probe (n = 6)	Extinktionswerte
1	0,419
2	0,368
3	0,405
4	0,386
5	0,395
6	0,364

Hedström-Feilen und Zitratblut

Versuch mit Eppendorf-Pipetten

Um eine geeignete Anschmutzmethode sowie Testanschmutzungsmenge für verschiedene Instrumentengrößen zu finden, wurde versucht, mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten jeweils 10 µl nicht reaktiviertes Zitratblut auf jeweils zwei Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70 und 80 (n = 14) aufzubringen. Dies ist nicht möglich gewesen, da für diese ISO-Größen

die Testanschmutzungsmenge von 10 µl deutlich zu groß war. Daher kam diese Methode für eine Anschmutzung nicht in Frage.

Tauchbadversuch

Um eine geeignete Anschmutzmethode mit einer bestimmaren Testanschmutzungsmenge zu finden, wurden die Arbeitsteile von jeweils zwei Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70 und 80 (n = 14) für 30 s, 60 s oder 120 s in nicht reaktiviertes Zitratblut getaucht. Die Feilen wurden vor und nach dem Tauchbad gewogen. Die ISO-Größe 20 musste verworfen werden, da teilweise der Griff der Hedström-Feilen beschmutzt war und daher die Anschmutzungsmenge als nicht konstant angesehen werden musste. Visuell war bei der ISO-Größe 15 keine Beschmutzung der Gewindegänge zu erkennen. Erst ab ISO-Größe 30 war eine geringfügige Beschmutzung erkennbar, die, je größer die Feilen wurden, stetig zunahm. Nach der visuellen Kontrolle wurden die Feilen erneut gewogen.

Tab. 2: Darstellung der Gewichtsbestimmungen von Hedström-Feilen unterschiedlicher ISO-Größen vor und nach der Anschmutzung (n = 14)

Feile	ISO-Größe	Gewicht vor Anschmutzung	Tauchzeit	Gewicht nach Anschmutzung	Differenz
1	15	163,7 µg	60 s	163,7 µg	0,0 µg
2	15	163,0 µg	60 s	163,2 µg	0,2 µg
3	20	verworfen	verworfen	verworfen	verworfen
4	20	verworfen	verworfen	verworfen	verworfen
5	30	191,2 µg	30 s	191,3 µg	0,1 µg
6	30	190,3 µg	30 s	190,5 µg	0,2 µg
7	50	235,7 µg	30 s	235,9 µg	0,2 µg
8	50	234,3 µg	30 s	234,4 µg	0,1 µg
9	60	227,0 µg	120 s	227,2 µg	0,2 µg
10	60	227,2 µg	120 s	227,8 µg	0,6 µg
11	70	288,8 µg	60 s	288,8 µg	0,0 µg
12	70	287,4 µg	60 s	287,8 µg	0,4 µg
13	80	277,8 µg	120 s	278,0 µg	0,2 µg
14	80	278,2 µg	120 s	278,5 µg	0,3 µg

Die Hedström-Feilen 1 und 11 wiesen trotz der sehr unterschiedlichen ISO-Größen (ISO 15 vs. ISO 70) vor und nach dem Tauchbad keine Gewichtszunahme auf (Tabelle 2). Die Feilen 5 und 8 waren nach dem Tauchbad jeweils 0,1 µg schwerer als vorher. Die Feilen 2, 6, 7, 9, und 13

waren nach dem Tauchbad 0,2 µg schwerer, wobei die Feilen ebenfalls unterschiedliche ISO-Größen hatten und unterschiedlich lange im Tauchbad verweilten. Die Feile 14 war nach dem Tauchbad 0,3 µg schwerer. Feile 12 war nach dem Tauchbad 0,4 µg schwerer. Den größten Unterschied wies die Feile 10 auf. Diese war nach dem Tauchbad 0,6 µg schwerer. Im Durchschnitt lag die Gewichtszunahme bei allen Feilen bei 0,2 µg. Die unterschiedlich langen Eintauchzeiten hatten keine Auswirkung auf das Ergebnis. Zwischen der ISO-Größe 70 mit 60 s Tauchzeit und der ISO-Größe 80 mit 120 s Tauchzeit konnte visuell und auch nach dem erneuten Wiegen kein Unterschied festgestellt werden. Aus der Verdopplung der Tauchzeit von 60 s auf 120 s resultierte keine höhere Anschmutzmenge. Die unterschiedlichen ISO-Größen hatten keinen erkennbaren Einfluss auf die Testanschmutzungsmenge. Daher kam diese Methode für eine Anschmutzung nicht in Frage.

Versuch mit Insulin-Spritzen

Um eine geeignete Methode zum Auftragen einer definierten Testanschmutzungsmenge zu entwickeln, wurde Zitratblut mit Hilfe von Insulin-Spritzen auf das Arbeitsteil von Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70 und 80 aufgebracht. Es wurde nicht aktiviertes, nicht aktiviertes verdünntes sowie reaktiviertes Zitratblut verwendet (n = 21). Der Versuch, eine Internationale Einheit Zitratblut auf das Arbeitsteil aufzubringen missglückte, da die Menge von einer Internationalen Einheit für die kleinen ISO-Größen (15 bis 80) zu groß war und auch die Applikation durch eine Tropfenbildung an der Kanülenspitze erschwert wurde. Der gleiche Versuch mit einer Einheit verdünntem Zitratblut (1 ml Zitratblut + 1 ml destilliertes Wasser) erbrachte aufgrund einer erneuten Blutstropfenbildung an der Kanülenspitze ebenfalls kein zufriedenstellendes Ergebnis. Da die Gerinnungsfähigkeit des Blutes unterdrückt war, ergab sich die Frage, ob dadurch die Applikation des Blutes mit einer Insulin-Spritze erschwert war. Die Reaktivierung von 1 ml Zitratblut erfolgte durch die Zugabe einer Kalziumchloridlösung im Überschuss. Anschließend erfolgte die Applikation von einer Internationalen Einheit des reaktivierten Blutes mittels Insulin-Spritze auf die Hedström-Feilen (ISO-Größe 15 bis 80). Wie bei dem vorherigen Versuch war das Volumen von einer Internationalen Einheit der Testanschmutzung deutlich zu groß, so dass auch die Reaktivierung des Blutes keinen Erfolg brachte.

Versuch zum Protaminvolumen

Anstelle des Zitratblutes wurden die Versuche mit heparinisiertem Blut fortgeführt. Für die Reaktivierung von 1 ml Heparinblut musste daher ein Protaminvolumen gefunden werden, welches eine vollständige Gerinnung des Blutes sowie eine ausreichende Zeit für die Anschmutzung der Hedström-Feilen garantierte. Ausgangspunkt war die DIN ISO/TS 15883-5 Anhang A, in der 15 µl Protamin für 1 ml Heparinblut verwendet wurde. Zunächst wurde das Volumen auf 16 µl erhöht, um die Gerinnung geringfügig zu beschleunigen. Das Blut war nach einer Trocknungszeit von 1 h auf den Feilen angetrocknet, aber die Gerinnung im Reagenzglas war noch nicht vollständig abgeschlossen (n = 3). Das Protaminvolumen wurde daher auf 32 µl verdoppelt. Die Gerinnung setzte nach circa 5 min ein und war nach circa 8 min vollständig abgeschlossen (n = 5). Daraus ergab sich das Problem, dass nicht ausreichend Zeit zur Verfügung bestand, um alle Hedström-Feilen nacheinander beschmutzen zu können. Das Volumen wurde daraufhin auf 25 µl pro ml Heparinblut gesenkt, woraus eine Gerinnungszeit von circa 10 min resultierte (n = 5). Anschließend wurde der Protaminzusatz auf 20 µl pro ml Heparinblut herabgesenkt (n = 5), so dass nun genügend Zeit für die Beschmutzung der Feilen zur Verfügung stand, da die Gerinnung erst nach circa 13 min vollständig abgeschlossen war.

Edelstahlplättchen und 10 µl Testanschmutzung

Um eine geeignete Testanschmutzungsmenge zu finden, wurden sechs Edelstahlplättchen mit jeweils 10 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzt. Nach einer Trocknungszeit von 1 h wurden sie für 5 min in die fünf verschiedenen Testlösungen gelegt. Anschließend wurden die Plättchen für 5 min in 20 ml einer 1 %igen SDS-Lösung gelegt und für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt (n = 30). Danach erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen.

Tab. 3: Bestimmung der Restproteinmenge auf Edelstahlplättchen nach Beschmutzung mit 10 µl reaktiviertem Heparinblut (Mittelwert; Einzelwerte siehe Tab. 20, S. 118), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

Testlösung \ SDS-Lösung	n	Mittelwert der Extinktion	Mittelwert der Eigenextinktion
Isopropanol	6	0,044	0,003
Natriumhypochlorit	6	n. n.	n. n.
Chlorhexidindigluconat 0,2 %	6	n. n.	n. n.
Polyhexanid	6	n. n.	n. n.
Kochsalzlösung	6	n. n.	n. n.

Es konnten, außer für die Edelstahlplättchen, die in Isopropanol gelegen hatten, keine Extinktions- oder Eigenextinktionswerte gemessen werden (Tabelle 3). Bei den Edelstahlplättchen, die in Isopropanol gelegen hatten, war demnach noch eine Restkontamination vorhanden, die durch die Lagerung der Edelstahlplättchen in 1 %iger SDS-Lösung abgelöst werden konnte.

Edelstahlplättchen und 50 µl Testanschmutzung

Um eine geeignete Testanschmutzungsmenge zu finden, wurde die Testanschmutzung (reaktives Heparinblut) auf den Edelstahlplättchen auf 50 µl erhöht. Nach einer Trocknungszeit von 1 h wurden die Edelstahlplättchen für 5 min in die fünf verschiedenen Testlösungen gelegt und anschließend für 5 min in Reagenzgläser mit 20 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt. Nach weiteren 5 min auf dem Schüttler erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen (n = 60).

Tab. 4: Bestimmung der Restproteinmenge auf Edelstahlplättchen nach Beschmutzung mit 50 µl reaktiviertem Heparinblut (Mittelwerte; Einzelwerte siehe Tab. 21, S. 118)

Testlösung \ SDS-Lösung	n	Mittelwerte der Extinktion	Mittelwerte der Eigenextinktion
Isopropanol	12	0,191	0,054
Natriumhypochlorit	12	0,060	0,021
Chlorhexidindigluconat 0,2 %	12	0,107	0,024
Polyhexanid	12	0,051	0,006
Kochsalzlösung	12	0,048	0,006

Bei allen Testlösungen konnten noch Reste der Testanschmutzung durch die Lagerung der Plättchen in 1 %iger SDS-Lösung abgelöst werden. Für Isopropanol konnten die höchsten Werte sowohl für die Extinktion (0,191) als auch für die Eigenextinktion (0,054) gemessen werden

(Tabelle 4). Das 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonat lag mit einem Extinktionswert von 0,107 deutlich über den Extinktionswerten der übrigen drei getesteten Lösungen (Kochsalzlösung 0,048, Polyhexanid 0,051, Natriumhypochlorit 0,060). Die Eigenextinktionswerte von Polyhexanid und der Kochsalzlösung lagen bei jeweils 0,006. Natriumhypochlorit lag bei 0,021, gefolgt vom Chlorhexidindiglukonat mit einem Eigenextinktionswert von 0,024.

Edelstahlplättchen und 50 µl Testanschmutzung, nach Entfernung der Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern

Der Versuch entspricht dem eben beschriebenen, jedoch erfolgte jetzt die Entfernung der Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern bevor die Messungen der Probenlösungen durchgeführt wurden. Nach einer Trocknungszeit der Testanschmutzung von 1 h auf den Edelstahlplättchen wurden diese für 5 min in die fünf verschiedenen Testlösungen gelegt. Anschließend wurden sie für 5 min in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung gelagert und für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Die Edelstahlplättchen wurden aus den SDS-Lösungen entfernt. Anschließend wurden die Probenmessungen durchgeführt. Für jede der fünf Testlösungen wurden sechs Edelstahlplättchen verwendet. Der Versuch wurde dreimal durchgeführt (n = 90).

Tab. 5: Bestimmung der Restproteinmenge von Edelstahlplättchen nach Beschmutzung mit 50 µl reaktiviertem Heparinblut und Entfernung der Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern (Mittelwerte; Einzelwerte siehe Tab. 22, S. 119).

Testlösung \ SDS-Lösung	n	Mittelwerte der Extinktion	Mittelwerte der Eigenextinktion
Isopropanol	18	0,188	0,035
Natriumhypochlorit	18	0,059	0,012
Chlorhexidindiglukonat 0,2 %	18	0,098	0,034
Polyhexanid	18	0,044	0,009
Kochsalzlösung	18	0,041	0,013

Auch bei diesem Versuch konnte die SDS-Lösung noch Reste der Testanschmutzung von den Edelstahlplättchen bei allen Testlösungen ablösen. Der Extinktionswert für Isopropanol war gegenüber den anderen Lösungen stark erhöht (Tabelle 5). Die 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonatlösung lag mit einem Wert von 0,098 über dem von 1 %igen Natriumhypochlorit (0,059) und dem 0,04 %igen Polyhexanid (0,044). Die physiologische Kochsalzlösung hatte den geringsten Extinktionswert (0,041). Die Ergebnisse der Eigenextinktionmessung zeigten ein ähnliches Bild. Für Isopropanol (0,035) und 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat (0,034) wurden

die höchsten Werte gemessen. Es folgten die Kochsalzlösung mit einem Wert von 0,013 und Natriumhypochlorit mit 0,012. Der kleinste Wert (0,009) wurde für Polyhexanid gemessen.

Extinktionsverhalten der Testlösung A

Testlösung A = 20 ml Testlösung, in denen die mit 50 µl Blut beschmutzten Edelstahlplättchen zu Beginn der Untersuchung für 5 min lagen. Nachdem die mit 50 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzten Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern mit den Testlösungen entfernt wurden, erfolgten die Messungen von jeweils 100 µl dieser Testlösungen, um zu überprüfen, wie viel von der Testanschmutzung bereits durch die Testlösungen von den Edelstahlplättchen abgelöst worden war (n = 90).

Tab. 6: Bestimmung der Proteinmenge in den Testlösungen A nach Lagerung von mit 50 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzten Edelstahlplättchen (Mittelwerte; Einzelwerte siehe Tab. 23, S. 120), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

Testlösungen A	n	Mittelwerte der Extinktion	Mittelwerte der Eigenextinktion
Isopropanol	18	n. n.	n. n.
Natriumhypochlorit	18	0,027	0,749
Chlorhexidindigluconat 0,2 %	18	0,170	0,039
Polyhexanid	18	0,314	0,042
Kochsalzlösung	18	0,210	0,045

Für Isopropanol konnten keine Extinktionswerte gemessen werden, was bedeutet, dass das Isopropanol keine Testanschmutzung von den Edelstahlplättchen abgelöst hatte (Tabelle 6). Die anderen Testlösungen lösten unterschiedlich viel Testanschmutzung während der fünfminütigen Lagerung der Edelstahlplättchen in den Testlösungen von den Edelstahlplättchen ab. Polyhexanid hatte mit 0,314 den höchsten Extinktionswert, gefolgt von der physiologischen Kochsalzlösung mit 0,210 und der 0,2 %igen Chlorhexidindigluconatlösung, die einen Extinktionswert von 0,170 aufwies. Natriumhypochlorit hatte den kleinsten Extinktionswert mit 0,027, jedoch den größten Eigenextinktionswert mit 0,749. Danach folgten die Kochsalzlösung mit 0,045, Polyhexanid mit 0,042 sowie die Chlorhexidindigluconatlösung mit 0,039. Da bei Natriumhypochlorit die Subtraktion des Eigenextinktionswertes vom Extinktionswert einen negativen Wert ergeben würde, verliert hier, wie bereits erwähnt, das Lambert Beer'sche Gesetz seine Gültigkeit.

Hedström-Feilen größerer ISO-Größe und Heparinblut

Um eine geeignete Anschmutzmethode sowie Testanschmutzungsmenge zu finden, wurde mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten versucht, 10 µl reaktiviertes Heparinblut auf das Arbeitsteil von jeweils sechs Hedström-Feilen der ISO-Größen 120, 130 sowie 140 (n = 18) aufzubringen.

Die Applikation des Blutes mittels Eppendorf-Pipette gelang exakt und blasenfrei, so dass eine vollständige, gleichmäßige Benetzung des gesamten Arbeitsteils der Hedström-Feilen erfolgte. Nach einer Trocknungszeit von 1 h war das Blut an den Feilen vollständig angetrocknet und die Gerinnung des Blutes abgeschlossen. Als Instrumentengröße wurde die Hedström-Feile der ISO-Größe 120 (Abb. 8) festgelegt, da diese Größe für eine Anschmutzung mit Hilfe der Eppendorf-Pipette und 10 µl reaktivierten Blutes ausreichend war.



Abb. 8: Hedström-Feile der ISO-Größe 120 mit 10 µl Testanschmutzung (reaktiviertes Heparinblut)

7.2.2 Ergebnisse zum Extinktionsverhalten der Testlösungen

Um zu überprüfen, ob die Testlösungen mit der OPA-Lösung und/oder der 1 %igen SDS-Lösung reagierten und deswegen einen eigenen Extinktions- und/oder Eigenextinktionswert verursachten, wurden in Anlehnung an die Testlösung A (siehe S. 51) 100 µl der jeweiligen Testlösung alleine sowohl mit der OPA-Lösung als auch mit der 1 %igen SDS-Lösung gemessen.

Tab. 7: Ergebnisse der Messungen der Testlösungen (Mittelwerte; Einzelwerte siehe Tab. 24 und Tab. 25, S. 121), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003, nicht messbar = Niederschlagsbildung, die eine Messung nicht möglich machte

Testlösungen	n	Mittelwerte der Extinktion	Mittelwerte der Eigenextinktion
Isopropanol	12	n. n.	n. n.
Natriumhypochlorit	12	0,013	0,785
Polyhexanid (Charité)	6	0,109	n. n.
Polyhexanid (Lavasorb)	12	0,105	n. n.
Kochsalzlösung	12	n. n.	n. n.
Chlorhexidindiglukonat A	6	nicht messbar	nicht messbar
Chlorhexidindiglukonat B	6	nicht messbar	nicht messbar
Chlorhexidindiglukonat 0,2 %	12	0,010	n. n.
Endo CHX	6	0,171	nicht messbar

Für Isopropanol und Kochsalzlösung konnten keine Extinktionswerte gemessen werden (Tabelle 7). Allerdings waren bei der Chlorhexidindiglukonatlösung (0,2 %), beiden Polyhexanidlösungen, Natriumhypochlorit sowie dem Endo CHX Extinktionswerte messbar. Der höchste Extinktionswert (0,171) konnte beim Endo CHX gemessen werden. Anschließend folgten die Polyhexanidlösungen mit Werten von 0,109 (Charité) und 0,105 (Lavasorb). Für Natriumhypochlorit konnte ein Wert von 0,013 gemessen werden. Den kleinsten Extinktionswert besaß das 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonat mit einem Wert von 0,010. Außer Natriumhypochlorit reagierte keine andere Lösung mit der 1 %igen SDS-Lösung; es konnte ein Eigenextinktionswert von 0,785 gemessen werden.

Bei der Messung der Chlorhexidindiglukonatlösung A mit der OPA-Lösung fand eine Niederschlagsbildung in den Küvetten statt. Das Photometer zeigte stark schwankende Werte zwischen 0,087 und 0,415 an, welche auf die Ausflockungen in den Küvetten zurückzuführen waren. An den Innenwänden der Küvetten setzten sich weiße, kristallähnliche Strukturen ab, die sich durch mehrfaches Spülen der Küvetten mit destilliertem Wasser nicht entfernen ließen. Daher konnten keine weiteren Messungen durchgeführt werden. Die Küvetten mussten zunächst einmal gereinigt werden.

Extinktionsverhalten der gereinigten Küvetten

Zur Reinigung der Küvetten wurden verschiedene Lösungsmittel (Aceton, Methanol, Ethylacetat) verwendet. Sie wurden über Nacht darin gelagert und anschließend mehrfach für jeweils 20 min in ein Ultraschallbad gestellt. Diese Methode erbrachte jedoch nicht den gewünschten Erfolg. Dieselbe Methode wurde mit dem Endo CHX, in Kombination mit mehrfachen Ultraschallbädern (jeweils 20 min über mehrere Tage verteilt) durchgeführt. Durch diese Behandlung konnte der Niederschlag von den Innenwänden gelöst werden, so dass die Küvetten rein visuell betrachtet wieder sauber erschienen. Um die Sauberkeit zu überprüfen, wurden Kontrollversuche durchgeführt. Hierzu wurden Messwerte von fabrikneuen Küvetten (Referenzküvetten) mit Werten von den gereinigten Küvetten verglichen. In die Küvetten wurden jeweils 1000 µl OPA-Lösung pipettiert und zusätzlich 100 µl 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat bzw. 100 µl 1 %igem Natriumhypochlorit. Die Kontrollversuche wurden mit jeweils sieben Küvetten durchgeführt (n = 14).

Tab. 8: Ergebnisse der Kontrollmessungen der gereinigten Küvette (Mittelwerte; Einzelwerte siehe Tab. 26, S. 122)

Testlösung	n	Mittelwerte der gereinigten Küvetten	Mittelwerte der Referenzküvetten
Chlorhexidindiglukonat 0,2 %	7	0,009	0,007
Natriumhypochlorit 1 %	7	0,017	0,019

Für die 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonatlösung und die gereinigten Küvetten konnte ein Mittelwert von 0,009 gemessen werden (Tabelle 8). Die Referenzküvetten lagen bei einem Wert von 0,007. In Tabelle 7 (S. 53, Extinktionsverhalten der Testlösungen) erzielte die 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonatlösung einen Mittelwert von 0,010. Bei Natriumhypochlorit lagen die Werte bei 0,017 (gereinigte Küvetten) und 0,019 (Referenzküvetten). Aus Tabelle 7 geht ein Mittelwert für Natriumhypochlorit von 0,013 hervor. Die gereinigten Küvetten wurden nach diesen Versuchen als „sauber“ eingestuft und konnten wieder verwendet werden.

7.2.3 Ergebnisse zu den Verdünnungsreihenversuchen zur Ermittlung des Extinktionsverhaltens der Testlösungen

Es wurden erneut die Testlösungen untersucht, die entweder mit der OPA- und/oder der 1 %igen SDS-Lösung reagiert hatten. Dies waren die Chlorhexidindiglukonatlösung (0,2 %), die

Polyhexanidlösung (0,04 %) sowie das Natriumhypochlorit (1 %). Ziel dieser Untersuchung war die Erstellung von Diagrammen zur Darstellung der von den Testlösungen verursachten Werten im Photometer in Abhängigkeit von ihrer Konzentration.

Für diese Untersuchung wurde eine 10 %ige Blutverdünnung (BV; 1 ml reaktiviertes Heparinblut + 9 ml destilliertes Wasser) hergestellt. Definierte Mengen dieser Blutverdünnung (5-300 µl) wurden in jeweils zwölf Reagenzgläser mit 20 ml der zu untersuchenden Testlösungen (TL) pipettiert (n = 36). Dieselben Mengen der Blutverdünnung wurden ebenfalls in zwölf Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung pipettiert (n = 12). Im Anschluss daran erfolgten die Messungen von jeweils 100 µl der mit Blutverdünnung versetzten Testlösungen bzw. SDS-Lösung.

Tab. 9: Bestimmung der Proteinmenge der mit Blutverdünnung (BV in µl) versetzten Testlösungen (TL), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003, CHX = Chlorhexidindigluconat, Poly = Polyhexanid, NaOCl = Natriumhypochlorit (n = 36; für jede Testlösung 12 Reagenzgläser)

BV \ TL	Extinktion			Eigenextinktion		
	CHX	Poly	NaOCL	CHX	Poly	NaOCL
5	0,004	0,112	0,010	n. n.	n. n.	0,686
10	0,008	0,115	0,010	n. n.	n. n.	0,671
25	0,021	0,116	0,017	0,003	n. n.	0,664
35	0,019	0,113	0,014	0,004	n. n.	0,674
50	0,028	0,129	0,025	0,011	0,003	0,669
75	0,040	0,140	0,042	0,008	0,008	0,661
100	0,055	0,154	0,045	0,011	0,011	0,656
125	0,069	0,178	0,052	0,011	0,012	0,776
150	0,077	0,172	0,056	0,015	0,015	0,657
175	0,095	0,204	0,062	0,017	0,018	0,651
200	0,101	0,204	0,074	0,020	0,020	0,651
300	0,155	0,244	0,112	0,031	0,030	0,725

Die Werte für die Extinktion der Chlorhexidindigluconatlösung lagen zwischen 0,004 und 0,155 (Tabelle 9). Für die Eigenextinktion der Chlorhexidindigluconatlösung konnten ab einer Zugabe von 25 µl Blutverdünnung Extinktionswerte gemessen werden. Diese erreichten bei Zugabe von 300 µl Blutverdünnung einen Wert von 0,031. Die Extinktionswerte für Polyhexanid lagen zwischen 0,112 und 0,244. Ein Eigenextinktionswert konnte für Polyhexanid ab einer Zugabe von 50 µl Blutverdünnung gemessen werden. Bei Zugabe von 300 µl Blutverdünnung lag der

Eigenextinktionswert des Polyhexanids bei 0,030. Die Extinktionswerte für Natriumhypochlorit lagen zwischen 0,010 und 0,112. Die Eigenextinktionswerte von Natriumhypochlorit lagen mit Abstand am höchsten zwischen 0,686 und 0,725.

Tab. 10: Bestimmung der Proteinmenge von mit Blutverdünnung (BV in μl) versetzter 1 %iger SDS-Lösung (n = 12), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

BV \ SDS-Lösung	Extinktion	Eigenextinktion
5	n. n.	n. n.
10	0,003	n. n.
25	0,008	n. n.
35	0,016	n. n.
50	0,025	0,003
75	0,029	0,005
100	0,037	0,008
125	0,040	0,009
150	0,049	0,011
175	0,061	0,016
200	0,098	0,018
300	0,140	0,023

Die Werte für die Extinktion der SDS-Lösung lagen zwischen 0,003 und 0,140 (Tabelle 10). Erst ab einer Zugabe von 50 μl Blutverdünnung in die 1 %ige SDS-Lösung konnte ein Eigenextinktionswert (0,003) gemessen werden.

Verdünnungsreihenversuch mit Erhöhung der Blutverdünnungsmenge

Der Versuch wurde noch einmal mit veränderten Mengen der Blutverdünnung (12,5-500 μl) durchgeführt. Die Blutverdünnung bestand erneut aus 1 ml reaktiviertem Heparinblut und 9 ml destilliertem Wasser. Zusätzlich zu den drei bisherigen Testlösungen (Chlorhexidindiglukonatlösung, Polyhexanid, Natriumhypochlorit) wurde das Endo CHX mit in die Untersuchung aufgenommen. Außerdem wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit 100 μl der jeweiligen Testlösung ohne Blutverdünnung untersucht. Die SDS-Lösung wurde insgesamt viermal (mit jeder Testlösung) untersucht. Von den vier Testlösungen wurden jeweils 13 Reagenzgläser untersucht (n = 156).

Chlorhexidindiglukonat

Unterschiedliche Mengen (12,5-500 μl) der Blutverdünnung wurden in 20 ml der 0,2 %igen ChlorhexidindiglukonatLösung sowie in 20 ml der 1 %igen SDS-Lösung pipettiert. Des Weiteren wurde das Chlorhexidin ohne Blutverdünnung untersucht.

Tab. 11: Ergebnisse der Messungen des Chlorhexidins ohne Zusatz von Blutverdünnung, mit Zusatz der Blutverdünnung (BV in μl) und der SDS-Lösung mit Zusatz der Blutverdünnung (n = 39), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

TL \ BV	CHX ohne Blutverdünnung		CHX mit Blutverdünnung		SDS mit Blutverdünnung	
	Extinktion	Eigenextinktion	Extinktion	Eigenextinktion	Extinktion	Eigenextinktion
12,5	0,004	n. n.	0,008	n. n.	n. n.	n. n.
20	0,004	n. n.	0,022	n. n.	0,007	n. n.
25	0,005	n. n.	0,033	n. n.	0,025	n. n.
50	0,005	n. n.	0,047	n. n.	0,038	n. n.
75	0,003	n. n.	0,062	0,005	0,056	0,003
100	0,003	n. n.	0,075	0,007	0,068	0,007
125	0,003	n. n.	0,095	0,011	0,086	0,009
150	0,003	n. n.	0,106	0,014	0,100	0,012
200	0,005	n. n.	0,122	0,018	0,100	0,015
250	0,004	n. n.	0,143	0,019	0,119	0,023
300	0,003	n. n.	0,174	0,032	0,168	0,028
400	0,005	n. n.	0,217	0,039	0,214	0,041
500	0,003	n. n.	0,252	0,057	0,232	0,054

Bei den Messungen der ChlorhexidindiglukonatLösung mit der OPA-Lösung (Extinktion CHX ohne Blutverdünnung) konnte ein Mittelwert von 0,004 ermittelt werden (Tabelle 11). Bei den Messungen mit der 1 %igen SDS-Lösung (Eigenextinktion CHX ohne Blutverdünnung) lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003. Durch die Zugabe von kontinuierlich größer werdenden Mengen der Blutverdünnung in das Chlorhexidindiglukonat waren Extinktionswerte von 0,008 bis 0,252 messbar (Extinktion CHX mit BV). Ab einer Zugabe von 75 μl Blutverdünnung konnte auch ein Eigenextinktionswert bei CHX mit BV gemessen werden (0,005 bis 0,057). Bei der Extinktionsmessung der SDS-Lösung mit BV konnte ab einer Zugabe von 20 μl ein Extinktionswert gemessen werden (0,007). Dieser stieg bei Zugabe von 500 μl bis auf 0,232 an. Bei den Eigenextinktionsmessungen (SDS mit BV) konnte ab einer Zugabe von

75 µl ein Wert gemessen werden (0,003). Dieser stieg bei einer Zugabe von 500 µl Blutverdünnung bis auf 0,054 an.

Polyhexanid

Unterschiedliche Mengen (12,5-500 µl) der Blutverdünnung wurden in 20 ml des 0,04 %igen Polyhexanids sowie in 20 ml der 1 %igen SDS-Lösung pipettiert. Des Weiteren wurde das Polyhexanid ohne Blutverdünnung untersucht.

Tab. 12: Ergebnisse der Messungen des Polyhexanids ohne Zusatz von Blutverdünnung, mit Zusatz der Blutverdünnung (BV in µl) und der SDS-Lösung mit Zusatz der Blutverdünnung (n = 39), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

TL \ BV	Polyhexanid ohne Blutverdünnung		Polyhexanid mit Blutverdünnung		SDS mit Blutverdünnung	
	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.
12,5	0,106	n. n.	0,115	n. n.	n. n.	n. n.
20	0,109	n. n.	0,119	n. n.	0,004	n. n.
25	0,104	n. n.	0,130	n. n.	0,016	n. n.
50	0,104	n. n.	0,147	n. n.	0,038	n. n.
75	0,103	n. n.	0,157	n. n.	0,045	n. n.
100	0,109	n. n.	0,177	0,003	0,064	0,003
125	0,106	n. n.	0,182	0,005	0,069	0,004
150	0,104	n. n.	0,197	0,007	0,085	0,007
200	0,106	n. n.	0,211	0,008	0,098	0,009
250	0,109	n. n.	0,234	0,013	0,112	0,013
300	0,103	n. n.	0,247	0,018	0,144	0,021
400	0,105	n. n.	0,296	0,028	0,198	0,029
500	0,104	n. n.	0,358	0,038	0,243	0,039

Für Polyhexanid (ohne Blutverdünnung) konnte ein durchschnittlicher Extinktionswert von 0,106 (Tabelle 12) gemessen werden. Bei den Eigenextinktionsmessungen lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003. Durch die Zugabe unterschiedlicher Mengen Blutverdünnung in das Polyhexanid konnten Extinktionswerte zwischen 0,115 und 0,358 gemessen werden. Die entsprechende Eigenextinktion (Polyhexanid mit BV) erbrachte Messwerte zwischen 0,003 und 0,038. Durch Zugabe der Blutverdünnung in 1 %ige SDS-Lösung konnten Extinktionswerte zwischen 0,004 (20 µl) und 0,243 (500 µl) gemessen werden.

Die entsprechenden Eigenextinktionsmessungen (SDS mit BV) ergaben Werte zwischen 0,003 und 0,039.

Natriumhypochlorit

Unterschiedliche Mengen (12,5-500 µl) der Blutverdünnung wurden in 20 ml des 1 %igen Natriumhypochlorits sowie in 20 ml der 1 %igen SDS-Lösung pipettiert. Des Weiteren wurde das Natriumhypochlorit ohne Blutverdünnung untersucht.

Tab. 13: Ergebnisse der Messungen des Natriumhypochlorits ohne Zusatz von Blutverdünnung, mit Zusatz der Blutverdünnung (BV in µl) und der SDS-Lösung mit Zusatz der Blutverdünnung (n = 39), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

TL \ BV	NaOCl ohne Blutverdünnung		NaOCl mit Blutverdünnung		SDS mit Blutverdünnung	
	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.
12,5	0,010	0,813	0,015	0,798	n. n.	n. n.
20	0,005	0,799	0,018	0,785	0,005	n. n.
25	0,012	0,822	0,028	0,799	0,017	n. n.
50	0,011	0,812	0,037	0,793	0,029	n. n.
75	0,016	0,801	0,042	0,782	0,042	n. n.
100	0,014	0,803	0,052	0,782	0,053	0,003
125	0,012	0,800	0,060	0,807	0,068	0,006
150	0,014	0,810	0,055	0,794	0,073	0,007
200	0,013	0,807	0,061	0,743	0,086	0,010
250	0,010	0,799	0,074	0,746	0,107	0,016
300	0,015	0,822	0,089	0,744	0,123	0,021
400	0,012	0,804	0,115	0,722	0,171	0,031
500	0,013	0,810	0,126	0,691	0,213	0,041

Bei den Extinktionsmessungen des Natriumhypochlorits (ohne Blutverdünnung) mit der OPA-Lösung konnten Werte zwischen 0,005 und 0,016 (Tabelle 13) gemessen werden. Natriumhypochlorit reagierte als einzige Lösung mit der 1 %igen SDS-Lösung. Der durchschnittliche Eigenextinktionswert betrug hierbei 0,808. Bei Zugabe der Blutverdünnung in Natriumhypochlorit sind mit der OPA-Lösung Extinktionswerte zwischen 0,015 und 0,126 gemessen worden. Bei Messung der Eigenextinktion (NaOCl mit BV) konnten Werte zwischen 0,691 und 0,807 gemessen werden. Bei Zugabe der Blutverdünnungen in 20 ml der 1 %igen

SDS-Lösung (SDS mit BV) konnten Extinktionswerte zwischen 0,005 und 0,213 gemessen werden. Bei den Eigenextinktionsmessungen (SDS mit BV) wurden Werte zwischen 0,003 und 0,041 gemessen.

Endo CHX

Unterschiedliche Mengen (12,5-500 µl) der Blutverdünnung wurden in 20 ml des 2 %igen Endo CHX sowie in 20 ml der 1 %igen SDS-Lösung pipettiert. Des Weiteren wurde das Endo CHX ohne Blutverdünnung untersucht.

Tab. 14: Ergebnisse der Messungen des Endo CHX ohne Zusatz von Blutverdünnung, mit Zusatz der Blutverdünnung (BV in µl) und der SDS-Lösung mit Zusatz der Blutverdünnung (n = 39), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

TL \ BV	Endo CHX ohne Blutverdünnung		Endo CHX mit Blutverdünnung		SDS mit Blutverdünnung	
	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.	Extinktion	Eigenext.
12,5	0,195	n. n.	0,215	n. n.	0,005	n. n.
20	0,193	n. n.	0,224	0,003	0,008	n. n.
25	0,213	n. n.	0,252	0,005	0,025	0,003
50	0,204	n. n.	0,249	0,009	0,039	0,004
75	0,208	n. n.	0,237	0,011	0,053	0,007
100	0,210	n. n.	0,281	0,014	0,062	0,009
125	0,208	n. n.	0,270	0,016	0,075	0,014
150	0,205	n. n.	0,280	0,024	0,094	0,015
200	0,202	n. n.	0,306	0,020	0,097	0,018
250	0,228	n. n.	0,314	0,028	0,127	0,022
300	0,194	n. n.	0,326	0,032	0,151	0,027
400	0,197	n. n.	0,331	0,038	0,203	0,037
500	0,207	n. n.	0,346	0,043	0,255	0,049

Bei den Extinktionsmessungen mit dem Endo CHX (ohne Blutverdünnung) konnten Werte zwischen 0,193 und 0,228 gemessen werden (Tabelle 14). Die Werte für die Eigenextinktion des Endo CHX lagen alle unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003. Bei Zugabe der Blutverdünnung in das Endo CHX konnten Extinktionswerte zwischen 0,215 und 0,346 gemessen werden. Bei den Eigenextinktionmessungen konnten Werte zwischen 0,003 und 0,043 gemessen werden. Bei

Zugabe der Blutverdünnung in die 1 %ige SDS-Lösung erhält man Extinktionswerte zwischen 0,005 und 0,255. Die Werte für die Eigenextinktion liegen zwischen 0,003 und 0,049.

Es wurden Diagramme für alle Testlösungen sowie für die 1 %ige SDS-Lösung erstellt (siehe 11.5, S. 127). Die gemessenen Extinktions- und Eigenextinktionswerte ergaben in diesen Diagrammen Geraden, die jedoch keine Aussage zuließen, ob die Testlösungen Einfluss auf die Probenmessungen im Photometer genommen hatten oder nicht. Es war anhand dieser Diagramme nicht möglich, von einem bestimmten Extinktions- oder Eigenextinktionswert Rückschluss darauf zu führen, wie viel von diesem gemessenen Wert von der Testlösung selbst verursacht wurde. Dieser Wert, der durch die Reaktion der Testlösung mit der OPA- bzw. der 1 %igen SDS-Lösung verursacht wurde, sollte von dem eigentlich gemessenen Wert abgezogen werden, um den Wert zu bestimmen, welcher ausschließlich durch den Proteingehalt der Probenlösung verursacht wurde. Dies war allerdings mit Hilfe der Diagramme nicht möglich.

7.2.4 Ergebnisse zum Ausschluss von Verschleppungen der Testlösungen

Versuche mit Edelstahlplättchen und den Testlösungen

Um Verschleppungen der Testlösungen von einem Reagenzglas in das nächste ausschließen zu können, wurden Edelstahlplättchen für 5 min in die Testlösungen gelegt und anschließend in Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt. Dieser Versuch sollte zeigen, ob die Menge an Testlösung, welche mit dem Edelstahlplättchen in die SDS-Lösung verschleppt wird, ausreichend hoch ist, um eine eigene Extinktion oder Eigenextinktion bei den Probenmessungen zu verursachen. Es wurden sechs Edelstahlplättchen für jede der fünf Testlösungen verwendet (n = 30). Bei den Probenmessungen der SDS-Lösungen lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003.

Versuch mit geringen Mengen der Testlösungen auf den Edelstahlplättchen

Versuchsaufbau I

Um Verschleppungen der Testlösungen von einem Reagenzglas in das nächste ausschließen zu können, wurden verschiedene Mengen der Testlösungen (1-100 µl) auf jeweils zwölf Edelstahlplättchen pipettiert. Nach einer Trocknungszeit von 1 h wurden sie für 5 min in 20 ml 1 %iger

SDS-Lösung gelagert und anschließend für weitere 5 min geschüttelt (n = 60). Bei den Probenmessungen der SDS-Lösungen lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003.

Versuchsaufbau II

Verschiedene Mengen der Testlösungen (1-100 µl) wurden direkt in jeweils 20 ml 1 %ige SDS-Lösung pipettiert und für 5 min geschüttelt. Es wurden erneut für jede der fünf Testlösungen zwölf Reagenzgläser verwendet (n = 60). Bei den Probenmessungen der SDS-Lösungen lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003.

Versuch mit Erhöhung der Testlösungsmenge auf den Edelstahlplättchen

Die Menge der Testlösungen auf den Edelstahlplättchen wurde in einem weiteren Versuch erhöht (150-500 µl, n = 30). Die verschiedenen Mengen wurden auf die Edelstahlplättchen pipettiert, nach einer Trocknungszeit von 1 h wurden sie für 5 min in 20 ml 1 %ige SDS-Lösung gelegt und anschließend für weitere 5 min geschüttelt. Danach erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen. Bei den Extinktionsmessungen der SDS-Lösungen mit der OPA-Lösung lagen alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003. Die Ergebnisse der Eigenextinktionsmessungen sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tab. 15: Ergebnisse der Eigenextinktionsmessungen der SDS-Lösungen nach Eluation der mit Testlösungen versehenen Edelstahlplättchen (n = 30), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

SDS-Lsg. TL	Eigen- extinktion CHX	Eigen- extinktion Polyhexanid	Eigen- extinktion NaOCl	Eigen- extinktion CHX A	Eigen- extinktion CHX B
150	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
200	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
250	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
300	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
400	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
500	n. n.	n. n.	0,003	n. n.	n. n.

Lediglich bei einer Menge von 500 µl Natriumhypochlorit konnte ein Eigenextinktionswert an der Nachweisgrenze von 0,003 ermittelt werden (Tabelle 15). Bei allen anderen Testlösungsmengen lagen die Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003.

Anschließend wurden dieselben Mengen (150-500 µl) der Testlösungen direkt (ohne Edelstahlplättchen) in Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung pipettiert und für 5 min geschüttelt (n = 30). Es wurden sowohl Extinktions- als auch Eigenextinktionsmessungen durchgeführt.

Tab. 16: Ergebnisse der Extinktionsmessungen der SDS-Lösungen mit Zusatz der Testlösungen (n = 30), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

SDS-Lsg. TL	Extinktion CHX	Extinktion Polyhexanid	Extinktion NaOCl	Extinktion CHX A	Extinktion CHX B
150	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
200	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
250	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
300	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
400	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
500	n. n.	n. n.	0,003	n. n.	n. n.

Natriumhypochlorit lag bei einer Menge von 500 µl an der Nachweisgrenze von 0,003 (Tabelle 16). Für alle anderen Testlösungen und Mengen konnten keine Werte ermittelt werden, da sie unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003 lagen.

Tab. 17: Ergebnisse der Eigenextinktionsmessungen der SDS-Lösungen mit Zusatz der Testlösungen (n = 30), n. n. = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003

SDS-Lsg. TL	Eigen- extinktion CHX	Eigen- extinktion Polyhexanid	Eigen- extinktion NaOCl	Eigen- extinktion CHX A	Eigen- extinktion CHX B
150	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
200	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
250	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
300	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
400	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
500	n. n.	n. n.	0,005	n. n.	n. n.

Bei 500 µl Natriumhypochlorit fand eine Reaktion mit der 1 %igen SDS-Lösung statt, so dass ein Eigenextinktionswert von 0,005 gemessen wurde (Tabelle 17). Bei allen anderen Mengen und Testlösungen lagen die Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003.

7.2.5 Ergebnisse zur Ermittlung der Rückgewinnungsraten der Testanschmutzung

Rückgewinnungsrate von mit 10 µl beschmutzten Hedström-Feilen der ISO-Größe 120

Um zu untersuchen, wie viel der applizierten Menge an Testanschmutzung von einer Hedström-Feile der ISO-Größe 120 wieder zu entfernen war, wurde die Rückgewinnungsrate bestimmt. Hierfür wurden zwölf Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 mit jeweils 10 µl Testanschmutzung versehen und 1 h getrocknet (n = 12). Anschließend wurden sie für 5 min in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung gelagert und für 5 min auf den Schüttler gestellt. Nach Entfernung der Hedström-Feilen aus den Gläsern erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen.

Der Mittelwert der Extinktionsmessung lag bei 0,073. Bei der Messung mit der 1 %igen SDS-Lösung (Eigenextinktion) konnte ein Mittelwert von 0,021 gemessen werden (Einzelwerte siehe Tab. 27, S. 122). Nach Abzug der Eigenextinktion von der Extinktion und Umrechnung mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ergibt sich eine Rückgewinnungsrate von Hedström-Feilen, die mit 10 µl Testanschmutzung beschmutzt waren von 0,08 µmol/Instrument.

Rückgewinnungsrate von mit 10 und 50 µl Testanschmutzung beschmutzten Edelstahlplättchen

Die Edelstahlplättchen wurden mit 10 µl (n = 3) sowie mit 50 µl Testanschmutzung (n = 8) beschmutzt und für 1 h getrocknet. Im Anschluss daran wurden sie für 5 min in Reagenzgläser mit jeweils 20 ml 1 %iger SDS-Lösung gelegt und danach für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Nach Entfernung der Plättchen erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen.

Der Mittelwert der Extinktion bei den mit 10 µl beschmutzten Edelstahlplättchen lag bei 0,046. Mit der 1 %igen SDS-Lösung ergab sich ein Mittelwert für die Eigenextinktion von 0,009. Bei den mit 50 µl beschmutzten Edelstahlplättchen lag der Mittelwert der Extinktion bei 0,262. Bei der Messung mit der 1 %igen SDS-Lösung lag der Mittelwert bei 0,047 (Einzelwerte siehe Tab. 28 und Tab. 29, S. 122) Nach Abzug der Eigenextinktion von der Extinktion und Umrechnung mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ergaben sich nachfolgende Proteinkonzentrationen für die Rückgewinnungsraten von den Edelstahlplättchen. Die Rückgewinnungsrate von Edelstahlplättchen mit 10 µl Testanschmutzung beträgt 0,12 µmol/Instrument. Die Rückgewinnungsrate von Edelstahlplättchen mit 50 µl Testanschmutzung beträgt 0,66 µmol/Instrument.

7.2.6 Ergebnisse zur Ermittlung der Grundproteinmenge

Um herauszufinden, wie viel Proteine in einer bestimmten Menge Testanschmutzung sind, wurde die jeweilige Menge der Testanschmutzung direkt in 10 bzw. 20 ml 1 %ige SDS-Lösung pipettiert. Nachdem die Reagenzgläser für 5 min auf den Schüttler gestellt wurden, erfolgten die Probenmessungen der SDS-Lösungen.

Ergebnisse der Extinktionsmessungen

Um herauszufinden, wie viele Proteine (Extinktion) in einer bestimmten Menge Testanschmutzung enthalten sind, musste die SDS-Lösung, die nun eine definierte Menge der Testanschmutzung enthielt, mit der OPA-Lösung gemessen werden.

Mittelwert der Extinktionsmessungen von 10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 12): 0,081

Mittelwert der Extinktionsmessungen von 10 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6): 0,050

Mittelwert der Extinktionsmessungen von 50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 8): 0,260

Die Werte von 10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung lagen zwischen 0,047 und 0,094. Bei Erhöhung der SDS-Lösung auf 20 ml waren die Werte etwas niedriger und lagen zwischen 0,047 und 0,055. Bei 50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung lagen die Werte deutlich höher zwischen 0,246 und 0,282 (Einzelwerte siehe Tab. 30, S. 123).

Ergebnisse der Eigenextinktionsmessungen

Um herauszufinden, wie hoch der Anteil des Extinktionswertes war, welcher durch die Eigenfärbung (Eigenextinktion) des Blutes verursacht wurde, wurden die Proben (SDS-Lösung mit der definierten Menge der Testanschmutzung) mit der 1 %igen SDS-Lösung gemessen. Die Ergebnisse der Eigenextinktionsmessungen sind nachfolgend dargestellt.

Mittelwert der Eigenextinktionsmessungen von 10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 12): 0,008

Mittelwert der Eigenextinktionsmessungen von 10 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6): 0,003

Mittelwert der Eigenextinktionsmessungen von 50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 8): 0,052

Die Werte von 10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung lagen zwischen 0,005 und 0,010. Dieselbe Menge der Testanschmutzung in 20 ml SDS-Lösung ergab Werte zwischen 0,003 und 0,005. Für 50 µl Testanschmutzung in 20 ml SDS-Lösung konnten Werte zwischen 0,044 und 0,059 ermittelt werden (Einzelwerte siehe Tab. 30, S. 123).

Nach Abzug der Eigenextinktion von der Extinktion und Umrechnung mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ergeben sich folgende Werte für die Proteinkonzentration der Grundproteinmenge:

10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung: 0,11 µmol/Instrument

10 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung: 0,14 µmol/Instrument

50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung: 0,64 µmol/Instrument

Da die Hedström-Feilen jeweils in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung und die Edelstahlplättchen aufgrund ihrer Größe in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung eluiert wurden, erfolgte aus Gründen der Vergleichbarkeit die Umrechnung der Einheit der Proteinkonzentrationen von µmol/10 ml bzw. µmol/20 ml in die Einheit µmol/Instrument.

Die Rückgewinnungsrate von einem mit 10 µl Testanschmutzung beschmutzten Edelstahlplättchen beträgt 0,12 µmol/Instrument. Bei einer Grundproteinmenge in 10 µl Testanschmutzung von 0,11 µmol/Instrument liegt damit die Rückgewinnungsrate von einem Edelstahlplättchen, welches mit 10 µl Testanschmutzung versehen war, bei 109 %. Die Rückgewinnungsrate von einem mit 50 µl Testanschmutzung beschmutzten Edelstahlplättchen beträgt 0,66

$\mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Die Grundproteinmenge, die in $50 \mu\text{l}$ Testanschmutzung enthalten ist, beträgt $0,64 \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Dies entspricht einer Rückgewinnungsrate von einem Edelstahlplättchen, welches mit $50 \mu\text{l}$ Testanschmutzung versehen war, von 103% . Die Rückgewinnungsrate von einer mit $10 \mu\text{l}$ Testanschmutzung beschmutzten Hedström-Feile der ISO-Größe 120 beträgt $0,08 \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Die Grundproteinmenge von $10 \mu\text{l}$ Testanschmutzung beträgt $0,11 \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Dies entspricht einer Rückgewinnungsrate von Hedström-Feilen die mit $10 \mu\text{l}$ Testanschmutzung versehen waren von 73% .

In der nachfolgenden Untersuchung (7.2.7) bedeutet eine Restproteinkontamination im Bereich der Konzentration der Rückgewinnung, dass die Reinigungsleistung der Testlösung sehr gering war, da die Testanschmutzung von den Hedström-Feilen zu einem großen Teil erst von der 1% igen SDS-Lösung abgelöst wurde. Eine kleine Restproteinkontamination bedeutet, dass die Reinigungsleistung der Testlösung sehr gut war und nur noch wenig Testanschmutzung an den Hedström-Feilen zurückblieb, die durch die 1% ige SDS-Lösung abgelöst werden konnte.

7.2.7 Ergebnisse zu den Versuchen mit den Testlösungen und den Interim-Ständen

Die Interim-Stände wurden mit jeweils 20 ml der acht Testlösungen befüllt (siehe 6.8, S. 41). Ein Interim-Stand blieb als Kontrolle unbefüllt. Die Hedström-Feilen der ISO-Größe 120, die jeweils mit $10 \mu\text{l}$ reaktiviertem Heparinblut beschmutzt waren, wurden anschließend auf folgende Arten im Interim-Stand bearbeitet:

Bearbeitungsweise 1: Einmal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen

Bearbeitungsweise 2: Dreimal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen

Bearbeitungsweise 3: Fünfmal durch die Schaumstoffscheibe stechen und wieder herausziehen

Bearbeitungsweise 4: 30 s Verweildauer im Interim-Stand

Bearbeitungsweise 5: 60 s Verweildauer im Interim-Stand

Bearbeitungsweise 6: 300 s Verweildauer im Interim-Stand

Die Feilen wurden jeweils soweit durch die Schaumstoffscheibe gestochen, bis der Instrumentengriff der Hedström-Feilen die Schaumstoffscheibe berührte. Anschließend wurden die Feilen in Reagenzgläser mit jeweils 10 ml 1% iger SDS-Lösung überführt, für 5 min darin gelagert und dann für weitere 5 min auf den Schüttler gestellt. Nach Entfernung der Feilen aus den Reagenzgläsern erfolgten die Extinktionsmessungen der SDS-Lösungen zur Ermittlung der

abgelösten Restproteinkontamination, welche sich nach den verschiedenen Bearbeitungsweisen noch an den Feilen befand. Der Versuch wurde dreimal wiederholt (n = 162, Einzelwerte siehe Tab. 31 = Extinktionsmessungen und Tab. 32 = Eigenextinktionsmessungen, S. 124 und 125).

Nach Abzug der gemessenen Eigenextinktionswerten von den Extinktionswerten (Mittelwerte; siehe Tab. 33, Tab. 34 und Tab. 35, S. 126) und nach Umrechnung mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ergaben sich die in Tabelle 18 dargestellten Restproteinkontaminationen. Die Nachweisgrenze der modifizierten OPA-Methode liegt bei einer Extinktion von $\geq 0,003$. Dies entspricht einer Nachweisgrenze für Proteine von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$. Lag die ermittelte Restproteinkontamination unterhalb dieser Nachweisgrenze, so wird dies mit $< 0,05$ angegeben.

Tab. 18: Restproteinkontamination in $\mu\text{mol/Instrument}$ der Hedström-Feilen, ermittelt mit der modifizierten OPA-Methode aus dem SDS-Eluat der Feilen (n = 162),
 $< 0,05$ = Messwert unterhalb der Nachweisgrenze der modifizierten OPA-Methode von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$,

Kontrollgruppe = unbefüllter Interim-Stand

Bearbeitungsweisen 1 bis 6:

1. Feile wurde einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
2. Feile wurde dreimal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
3. Feile wurde fünfmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
4. Feile verblieb 30 s im Interim-Stand
5. Feile verblieb 60 s im Interim-Stand
6. Feile verblieb 300 s im Interim-Stand

Testlösungen	Bearbeitungsweisen (Feilenanzahl n = 162)					
	1	2	3	4	5	6
Isopropanol	0,08	0,09	0,07	0,09	0,05	0,10
Natriumhypochlorit	0,07	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
CHX	0,08	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Kochsalzlösung	0,07	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Endo CHX	0,09	0,06	0,05	0,08	0,05	0,06
Polyhexanid	0,10	0,05	< 0,05	0,08	0,05	< 0,05
CHX A	0,08	0,05	0,05	0,09	0,09	0,05
CHX B	0,09	0,07	0,06	0,06	0,07	0,05
Kontrollgruppe	0,10	0,10	0,05	0,11	0,10	0,10

Für die Rückgewinnung von einer mit $10 \mu\text{l}$ reaktiviertem Heparinblut beschmutzten Hedström-Feile der ISO-Größe 120, konnte eine Proteinkonzentration von $0,08 \mu\text{mol/Instrument}$ ermittelt werden. Bei Bearbeitungsweise 1 (Tabelle 18) lag die Restkontamination aller Feilen im Bereich der Konzentration dieser Rückgewinnung. Das bedeutet, dass fast die gesamte

Testanschmutzung auf den Hedström-Feilen zurück blieb. Unterhalb der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$ lagen bei den Bearbeitungsweisen 2 und 3 die Testlösungen Natriumhypochlorit, 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat sowie Kochsalzlösung. Für Isopropanol, Chlorhexidindiglukonat B und die Kontrollgruppe lagen die Werte bei Bearbeitungsweise 2 allerdings nach wie vor nahe dem Wert für die Rückgewinnung, was bedeutet, dass die Restproteinkontamination gleichbleibend hoch war. Dasselbe konnte bei Bearbeitungsweise 3 beobachtet werden. Einzige Ausnahme war die Kontrollgruppe mit einer Restproteinkonzentration an der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$.

Bei Bearbeitungsweise 4 wurde die höchste Restproteinkontamination wieder für Isopropanol ($0,09 \mu\text{mol/Instrument}$) und die Kontrollgruppe ($0,11 \mu\text{mol/Instrument}$) ermittelt. Aber auch Chlorhexidindiglukonat A erreichte eine hohe Restproteinkontamination von $0,09 \mu\text{mol/Instrument}$. Unterhalb der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$ lag erneut die Kochsalzlösung. Bei Bearbeitungsweise 5 konnte die höchste Restproteinkontamination für die Kontrollgruppe ($0,10 \mu\text{mol/Instrument}$) und Chlorhexidindiglukonat A ($0,09 \mu\text{mol/Instrument}$) ermittelt werden. Unterhalb der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$ lagen erneut 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat, Natriumhypochlorit sowie Kochsalzlösung. Isopropanol lag bei Bearbeitungsweise 5 mit einer Restkontamination an der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$. Bei der Bearbeitungsweise 6 waren noch einmal deutliche Unterschiede zu erkennen. Die höchsten Restkontaminationen erreichten Isopropanol und die Kontrollgruppe ($0,10 \mu\text{mol/Instrument}$). Unterhalb der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$ lagen erneut 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat, Natriumhypochlorit und Kochsalzlösung. Bei Betrachtung aller Bearbeitungsweisen lagen Endo CHX, Polyhexanid sowie Chlorhexidindiglukonat A und B im Mittelfeld der Untersuchung. Am besten schnitten die physiologische Kochsalzlösung, das 0,2 %ige Chlorhexidindiglukonat sowie das Natriumhypochlorit ab. Die unterschiedlichen Restkontaminationen konnten auch optisch an den Hedström-Feilen festgestellt werden (siehe Abb. 9-17).

Die Hedström-Feilen, die im Interim-Stand mit Isopropanol bearbeitet wurden, hatten bei allen Bearbeitungsweisen eine hohe Restproteinkontamination im Bereich der Rückgewinnung (Abb. 9).



Abb. 9: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Isopropanol 70 %

Bei Natriumhypochlorit lag die Restproteinkontamination des SDS-Eluats bei Bearbeitungsweise 1 im Bereich der Rückgewinnung. Bei den Bearbeitungsweisen 2 bis 6 lagen die Werte für Natriumhypochlorit alle unterhalb der Nachweisgrenze von $0,05 \mu\text{mol/Instrument}$ (Abb. 10).



Abb. 10: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Natriumhypochlorit 1 %

Beim 0,2 %igen Chlorhexidindiglukonat lag die Restproteinkontamination bei Bearbeitungsweise 1 im Bereich der Rückgewinnung. Bei den Bearbeitungsweisen 2 bis 6 lagen die Restproteinkontaminationen immer unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ (Abb. 11).



Abb. 11: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Chlorhexidindiglukonat 0,2 %

Bei der physiologischen Kochsalzlösung lag die Restproteinkontamination bei Bearbeitungsweise 1 im Bereich der Rückgewinnung. Bei allen anderen Bearbeitungsweisen lagen die Restproteinkontaminationen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ (Abb. 12).



Abb. 12: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Kochsalzlösung 0,9 %

Beim Endo CHX lagen die gemessenen Werte des SDS-Eluats bei den Bearbeitungsweisen 1 und 4 im Bereich der Rückgewinnung. Bei den Bearbeitungsweisen 2, 3, 5 und 6 konnte eine Restproteinkontamination zwischen 0,05 und 0,06 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ ermittelt werden (Abb. 13).



Abb. 13: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Endo CHX 2 %

Die Feilen, die im Interim-Stand mit Polyhexanid bearbeitet wurden, wiesen bei Bearbeitungsweise 1 eine Restproteinkontamination von 0,10 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ auf. Bei den Bearbeitungsweisen 2 bis 6 lagen die Restproteinkontaminationen zwischen $\leq 0,05$ und 0,08 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ (Abb. 14).



Abb. 14: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Polyhexanid 0,04 %

Die Feilen, die im Interim-Stand mit der Chlorhexidindiglukonatlösung A bearbeitet wurden, wiesen bei den Bearbeitungsweisen 1, 4 und 5 eine Restkontamination im Bereich der Rückgewinnung auf. Bei den Bearbeitungsweisen 2, 3 und 6 lag die Restkontamination jeweils im Bereich der Nachweisgrenze (Abb. 15).



Abb. 15: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Chlorhexidindiglukonat A

Das Chlorhexidindiglukonat B weist ein ähnliches Verhalten wie das Chlorhexidindiglukonat A auf. Die Restproteinkontaminationen lagen bei den Bearbeitungsweisen 1, 2 und 5 im Bereich der Rückgewinnung. Bei den Bearbeitungsweisen 3, 4 und 6 lagen die Restproteinkontamination im Bereich der Nachweisgrenze (Abb. 16).



Abb. 16: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in Chlorhexidindiglukonat B

Die Restkontamination des unbefüllten Interim-Standes (Kontrollgruppe) lag bis auf eine Ausnahme im Bereich der Grundproteinmenge. Bei Bearbeitungsweise 3 lag sie im Bereich der Nachweisgrenze (Abb. 17).



Abb. 17: Hedström-Feile in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in einem unbefüllten Interim-Stand

8. Diskussion

8.1 Methodenkritik

8.1.1 Durchführung der anonymen Befragung

Die Auswahl der Testlösungen, die in dieser Untersuchung verwendet wurden, beruhte auf der Auswertung des anonymen Fragebogens sowie auf gängigen Lehrmeinungen, die immer dieselben Lösungen anführen, die für eine Spülung des Wurzelkanalsystems in Frage kommen. Von den 100 Berliner Zahnärzten schickten 55 den Fragebogen in dem beigelegten frankierten und adressierten Rückumschlag zurück, was einer Beteiligung von 55 % entspricht. Von den 55 Zahnärzten verwendeten 26 einen Interim-Stand, wobei dieser wiederum nur von 15 Zahnärzten befüllt wurde. In neun Fällen wurde Alkohol in den Interim-Stand gefüllt. In jeweils zwei Fällen wurden Chlorhexidin und Wasserstoffperoxid verwendet. In jeweils einem Fall wurde Natriumhypochlorit bzw. ein Flächendesinfektionsmittel verwendet. Dies macht deutlich, dass kein einheitliches Vorgehen existiert, womit ein Interim-Stand befüllt werden sollte. Bei den verwendeten Spüllösungen wurden sehr häufig mehrere genannt. Fast alle Zahnärzte, die sich an der Umfrage beteiligten, verwendeten sowohl Natriumhypochlorit (42 ×) als auch Chlorhexidindigluconat (27 ×) als Spüllösungen für das Wurzelkanalsystem. Fünf Zahnärzte verwendeten zusätzlich Wasserstoffperoxid. In zwei Fällen wurde außerdem Kochsalzlösung genannt. Jeweils einmal wurden EDTA-Lösung, Wasser und Calcinase genannt.

8.1.2 Wahl der Testanschmutzung

Die Testanschmutzung bei dieser Untersuchung sollte annähernd derjenigen entsprechen, welche im Rahmen einer Wurzelkanalbehandlung an den Wurzelkanalinstrumenten haftet. Es wurde in Betracht gezogen, benutzte Wurzelkanalinstrumente zu sammeln, um mit diesen anschließend im Labor die Versuche durchführen zu können. Diese Idee wurde verworfen, da an diesen Wurzelkanalinstrumenten potentiell infektiöses Material anhaftet, was entsprechende Sicherheits- und Dekontaminationsmaßnahmen zur Durchführung der Versuche im Labor erforderlich gemacht hätte. In der Literatur werden zahlreiche unterschiedliche Testanschmutzungen beschrieben. De Bruijn und van Drongelen (2005) untersuchten neun verschiedene Testanschmutzungen (Tabelle 19). Sieben davon entnahmen sie der DIN EN ISO 15883-Teil 1 (2006). Die Testanschmutzungen A und B sind im Handel erhältlich.

Tab. 19: Testanschmutzungen, die von de Bruijn und van Drongelen für ihre Untersuchungen benutzt wurden (2005)

Testanschmutzungen der DIN EN ISO 15883-1	Zusammensetzung der Testanschmutzung
Österreich	Nigrosin, Hafermehl, Ei, dehydrierte Kartoffelflocken, Wasser
Deutschland 1	Schafsblut
Deutschland 2	Gries, Butter, Zucker, Milchpulver
Deutschland 3	Eigelb
Niederlande	Rinderalbumin,- fibrinogen, -thrombin, Schweinemucin
Schweden	Zitriertes Rinderblut, Kalziumchlorid
England	Defibriniertes Pferdeblut, Eigelb, Schweinemucin
Im Handel erhältliche Testanschmutzungen	
Testanschmutzung A	Eigelb, Mucin, Farbstoff
Testanschmutzung B	Albumin, Hämoglobin, Fibrinogen, Thrombin

Nur Deutschland 2, Deutschland 3 sowie die Testanschmutzung Niederlande entsprachen ihren Qualitätskriterien:

1. Nicht entfernbar durch einminütiges Spülen mit kaltem Wasser (20 °C) ohne Reinigungsmittel.
2. Nicht oder nur teilweise entfernbar durch anschließend einminütiges Spülen mit warmen Wasser (45 °C) ohne Reinigungsmittel.
3. Vollständig entfernbar durch anschließend fünfminütiges Reinigen mit einer heißen (60 °C) alkalischen Reinigungslösung.

Diese Qualitätskriterien legten sie selbst fest, da die europäische Norm keine Qualitätskriterien für Testanschmutzungen enthält. Sie favorisierten die Testanschmutzung Deutschland 3 (Eigelb), da sie schwierig zu entfernen ist, geringe Kosten verursacht, einfach zu beschaffen ist und die Gefahr der Übertragung von Zoonosen gering ist.

Köhnlein et al. (2004) verglichen ebenfalls die Tauglichkeit unterschiedlicher Testanschmutzungen, wobei für sie die Praxisrelevanz im Vordergrund stand. Praxisrelevant bedeutete für sie, eine Testanschmutzung aus Blut oder Blutbestandteilen zu präferieren. Des Weiteren homogenisierten sie Schweinehirn, da sie darin ebenfalls, in Bezug auf die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, eine sehr hohe Praxisrelevanz sahen. Den Zusatz oder den alleinigen Einsatz von

Eigelb als Testanschmutzung hielten sie für nicht praxisrelevant. Ebenso stellten Köhnlein et al. (2008) fest, dass die länderspezifischen Prüfanschmutzungen die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zur Untersuchung der Reinigungsleistung von Reinigungs- und Desinfektionsgeräten fraglich erscheinen lässt. Daher wurde 2005 vom Normenausschuss NAMed 063-04-09 der DIN eine Ad-hoc-Gruppe „Prüfanschmutzung und Methoden“ ins Leben gerufen, die als Ziel die Vereinheitlichung der Prüfung und Objektivierbarkeit der Reinigungsleistung hatte. Hierzu wurden als Prüfanschmutzung je 100 µl reaktiviertes heparinisierendes Schafsblut beziehungsweise reaktiviertes zitratisiertes Schafsblut verwendet (DIN NA 063 2005).

In zahlreichen Untersuchungen wurde reaktiviertes heparinisierendes Schafs- oder humanes Blut als Prüfanschmutzung verwendet (Spicher und Peters 1985, Frister und Michels 1994, Pfeifer 1996, Pfeifer 1998, Michels 2000). Die Umwandlung von löslichem Fibrinogen zu unlöslichen Fibrinfasern während der Blutgerinnung stellt eine Herausforderung an die Reinigung dar (Pfeifer 1996). Einen weiteren wichtigen Faktor stellt die Denaturierung der im Blut enthaltenen Proteine bei Temperaturen ab circa 45 °C dar (Pfeifer 1996, Michels 2000). Auch hier erfolgt eine Umwandlung der Proteine in eine wesentlich schlechter lösliche Form.

Da Blut ein Bestandteil der Verschmutzung von Wurzelkanalinstrumenten ist und sich bei Verwendung von Eigenblut das potentielle Infektionsrisiko ausschließen lässt, wurde in der vorliegenden Untersuchung humanes Blut als Testanschmutzung gewählt. Das Blut stammte immer von derselben Person und wurde an jedem Versuchstag frisch entnommen. Zu Beginn der Untersuchung wurde zitratisiertes humanes Blut verwendet, welches nicht reaktiviert war. Da die Gerinnungsfähigkeit des Blutes sich, wie oben bereits erwähnt, als ein wichtiger Faktor in Bezug auf die Reinigung und Wiederaufbereitbarkeit der Instrumente erwies, wurden die weiteren Versuche mit reaktiviertem humanem Blut durchgeführt (Pfeiffer 1996).

Für die Reaktivierung von Zitratblut wird nach DIN ISO/TS 15883-5 Anhang M (2005) Kalziumchloridlösung benötigt. Die erforderliche Menge an Lösung muss mit Hilfe von Titrationsversuchen, die erforderliche Menge an Kalziumionen muss mit Hilfe ionenselektiver Elektrometrie ermittelt werden, weshalb diese Reaktivierung sehr aufwändig ist. Einfacher ist die Reaktivierung von heparinisierendem Blut. Es muss Protaminhydrochlorid zugegeben werden, welches in Brechampullen zu beziehen ist. Nach DIN ISO/TS 15883-5 Anhang A sind zur Reaktivierung von 10 ml heparinisierendem Blut 150 µl Protaminhydrochlorid notwendig. 1 ml Heparinblut wurde daher in Anlehnung an diese Norm mit 15 µl Protaminhydrochlorid reaktiviert. Nach

einer Trocknungszeit von 1 h (geforderte Trocknungszeit in Anlehnung an die „Leitlinie der DGKH, DGSV und AKI“ 2013) war das Blut zwar auf den zu untersuchenden Prüfkörpern angetrocknet, die Gerinnung im Reagenzglas jedoch noch nicht vollständig abgeschlossen. Daher wurde die Protaminhydrochloridmenge zunächst auf 16 μl und anschließend 32 μl erhöht. Ziel war es, die Gerinnung zu beschleunigen, um alle Komponenten von geronnenem, angetrocknetem Blut untersuchen zu können. Bei einer Protaminhydrochloridmenge von 32 μl war die Gerinnung im Reagenzglas nach 8 min abgeschlossen. Daraus resultierte ein zu geringes Zeitfenster, um alle Prüfkörper anschmutzen zu können. Die Protaminhydrochloridmenge wurde daher erst auf 25 μl und anschließend auf 20 μl pro Milliliter heparinisiertem humanen Blut reduziert, woraus eine ausreichend lange Zeit zum Anschmutzen aller Prüfkörper resultierte.

8.1.3 Wahl der Prüfkörper

Im Rahmen der manuellen Wurzelkanalaufbereitung kommen zwei verschiedene Handinstrumente, die als Prüfkörper verwendet werden können, in Frage: sogenannte Reamer, die durch Verwindung eines Drei- oder Vierkantstahls hergestellt werden und sogenannte Hedström-Feilen die durch Fräsen aus einem runden Stahlrohling entstehen (Hellwig et al. 2003). Da Hedström-Feilen mehr Windungen und einen größeren Schneidekantenwinkel aufweisen als Reamer, waren sie für eine Anschmutzung mit Blut besser geeignet als Reamer (Abb. 18). Es wurden Hedström-Feilen der ISO-Größen 15, 20, 30, 50, 60, 70, 80, 120, 130 sowie 140 verwendet.

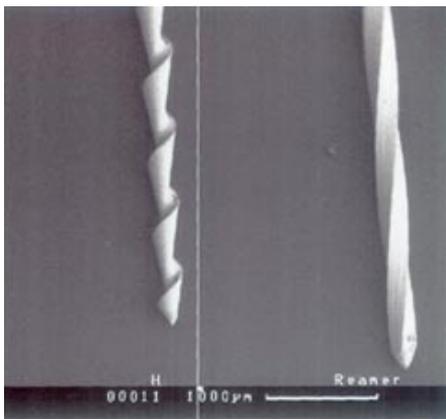


Abb. 18.: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Arbeits- teile einer Hedström-Feile (links im Bild) und eines Reamers (rechts im Bild, Quelle: www.spitta.de)

Zusätzlich zu den Hedström-Feilen wurden für die Untersuchungen Prüfkörper verwendet, die zur Überprüfung der Reinigungsleistung von Reinigungs- und Desinfektionsgeräten benutzt werden (Früh und Pfeifer 2002). Die Prüfkörper können bereits mit einer standardisierten

Testanschmutzung geliefert oder mit einer beliebigen Menge an Testanschmutzung beschmutzt werden. Das Aussehen der Prüfkörper imitiert dabei häufig die zu reinigenden Instrumente (Hohlkörper, Spalten, Windungen etc.). In den vorliegenden Untersuchungen wurden als Prüfkörper Edelstahlplättchen verwendet. Diese sind einfach zu handhaben und relativ preiswert. Die Untersuchungen mit den Edelstahlplättchen waren von besonderer Bedeutung, da mit ihnen die Rückgewinnung der Testanschmutzung und somit die Funktion der Methodik und des Proteinnachweises überprüft werden konnte.

8.1.4 Wahl der Anschmutzmethode

Bei den Edelstahlprüfkörpern war die Kontamination mit Hilfe der Eppendorf-Pipetten problemlos durchführbar. Bei den kleineren ISO-Größen (15 bis 80) der Hedström-Feilen war es jedoch unmöglich, die kleinste applizierbare Menge einer Eppendorf-Pipette (= 10 µl) vollständig und blasenfrei aufzutragen. Der anschließende Versuch, die Hedström-Feilen mit Hilfe eines Bluttauchbades anzuschmutzen, war ebenfalls nicht geeignet. Die Blutmenge auf den Hedström-Feilen war nicht ausreichend reproduzierbar. Zum einen wurde teilweise der Schaft mit eingetaucht und zum anderen ließ das anschließende Wiegen der Hedström-Feilen keinen konstanten Volumenzuwachs erkennen. In der Literatur finden sich ähnliche Methoden, um einen Prüfkörper definiert beschmutzen zu können. Früh und Pfeifer (2002) beschmutzten Edelstahlplättchen ebenfalls mit Hilfe eines Tauchversuches. Sie benutzten dafür allerdings ein Roboter-Dosiersystem, welches reproduzierbare Ergebnisse lieferte. Michels und Schulz-Fincke (2009) beschmutzten zahnärztliche Hand- und Winkelstücke ebenfalls durch Eintauchen in eine Lösung mit Rinderserumalbumin. Es folgten weitere Untersuchungen mit sogenannten Insulin-Spritzen, welche grazilere Kanülen besitzen, um dadurch das Blut exakter auf den Hedström-Feilen applizieren zu können. Es wurde sowohl unverdünntes als auch mit destilliertem Wasser verdünntes Zitratblut verwendet. Es war nicht möglich, eine Internationale Einheit (= Skalierung auf den Insulinspritzen) vollständig auf die Hedström-Feilen der ISO-Größen 15 bis 80 aufzutragen. Das Blut bildete einen Tropfen an der Kanülenspitze, welcher sich nicht auf die Feilen aufbringen bzw. sich nicht von der Kanülenspitze entfernen ließ. Auch die Verwendung von reaktiviertem Heparinblut und Insulin-Spritzen brachte keinen Erfolg. Die Gerinnungsfähigkeit des Blutes hatte bei diesem Versuch keinen Einfluss auf die Applizierbarkeit des Blutvolumens, da dieses mit einer Internationalen Einheit zu groß war, um auf Hedström-Feilen der ISO-Größen 15 bis 80 appliziert werden zu können.

Es wurden weitere Untersuchungen mit Hedström-Feilen der ISO-Größen 120, 130 sowie 140 durchgeführt. Mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten wurden jeweils 10 µl reaktiviertes Heparinblut auf das Arbeitsteil der Hedström-Feilen aufgebracht. Bei allen drei Größen erfolgte die Applikation des Blutes vollständig und blasenfrei. Jedoch werden die ISO-Größen 120, 130 und 140 aufgrund ihrer Größe seltener während einer Wurzelkanalbehandlung verwendet. Daher wurde die kleinste der drei Größen (ISO 120) als Standardgröße für die weiteren Untersuchungen festgelegt.

8.1.5 Interim-Stand und Chairside-Reinigung der Hedström-Feilen

In der Literatur finden sich zahlreiche Untersuchungen, die sich mit der Sauberkeit von wiederaufbereiteten Wurzelkanalinstrumenten befassen (Ferreira et al. 1990, Smith et al. 2002, Linsuwanont et al. 2004, van Eldik et al. 2004, Letters et al. 2005, Smith et al. 2005, Parirokh et al. 2005, Aasim et al. 2006, Sonntag und Peters 2007, Whitworth et al. 2009). In den meisten Fällen konnte jedoch eine Restkontamination an den Wurzelkanalinstrumenten nach Reinigung, Desinfektion und Sterilisation nachgewiesen werden. Es stellt sich somit die Frage, ob eine Reinigung der Wurzelkanalinstrumente noch während der Wurzelkanalbehandlung (sogenannte Chairside-Reinigung) einen positiven Effekt auf den eigentlichen Wiederaufbereitungsprozess der Wurzelkanalinstrumente haben könnte; zum einen durch die feuchte Lagerung der Instrumente in einem Interim-Stand und zum anderen durch den mechanischen Reinigungseffekt der Polyurethanschaumstoffscheibe, in der die Wurzelkanalinstrumente stecken. Einige Studien konnten zeigen, dass die feuchte Lagerung von Instrumenten einen positiven Effekt auf die anschließende Dekontamination von zahnärztlichen Instrumenten hat (Sanchez und MacDonald 1995, Burkhart und Crawford 1997, Linsuwanont et al. 2004, Parashos et al. 2004). Die World Health Organization (2000) schließt sich diesen Meinungen an.

In der Vergangenheit wurden einige Versuche unternommen, die Wurzelkanalinstrumente noch während der Behandlung zu reinigen, da die verschiedenen Wurzelkanalinstrumente während einer Behandlung mehrfach Verwendung finden: entweder innerhalb eines Kanals oder, bei mehrwurzligen Zähnen, innerhalb mehrerer Kanäle (Ingle 1965, Grossman 1974, Levy 1986, Ferreira et al. 1990, Parashos et al. 2004). So besteht die Gefahr, dass man das zuvor abgetragene Material (Debris, Bakterien etc.) erneut in einen Wurzelkanal einbringt.

Ingle (1965) versuchte im klinischen Alltag die Instrumente mit Hilfe von mit Desinfektionsmittel getränkten Watterollen noch während der Wurzelkanalbehandlung zu reinigen, bevor er sie erneut in den Kanal instrumentierte. 1974 beschrieb Grossman eine ähnliche Methode. Entweder sollten die Wurzelkanalinstrumente in das Ende einer Watterolle oder in einen Schwamm aus Schaumgummi (beides mit einer antiseptischen Lösung getränkt) gesteckt werden. Anschließend empfahl er die Sterilisation der Instrumente in einem Salzsterilisator, bevor diese wieder in den Kanal eingeführt wurden. Hubbard et al. (1975) untersuchten ebenfalls unterschiedliche Methoden, die Instrumente noch während der Behandlung zu reinigen. Sie verwendeten kleine sterile Gazetupfer, die mit unterschiedlichen Lösungen (Isopropanol 70 %, steriler Kochsalzlösung, Glutaraldehydlösung 2 %) getränkt waren, trockene Gazetupfer sowie einen trockenen Zellstoffschwamm, mit denen sie die Feilen nach einer definierten Methode abwischten. Als letzte Methode wählten sie das Platzieren der Feilen für 10 s in einem Glaskugelsterilisator bei 218 °C. Die Feilen wurden zuvor mit einer definierten Menge an Sporen von *Bacillus subtilis* sowie Bakterien (*Streptococcus mitis*) beschmutzt. Nach den verschiedenen Dekontaminationstechniken wurden die Feilen mit steriler Kochsalzlösung eluiert. Anschließend brachten sie Eluat jeder Feile auf Agarplatten auf. Nach einer Inkubationszeit von 48 h wurden die koloniebildenden Einheiten der Bakterien ausgezählt. Als Kontrollgruppe dienten Feilen, die nach der Beschmutzung keinen Dekontaminationsprozess durchliefen. Das beste Resultat erbrachte der Glaskugelsterilisator, wobei dieser gegen die Sporen von *Bacillus subtilis* nichts ausrichten konnte. Die Versuche mit den Gazetupfern erbrachten im Schnitt bei allen Varianten eine Reduktion (sowohl bei Bakterien als auch bei Sporen) von 90 %. Der Zellstoffschwamm erbrachte die geringste Reduktionsrate.

Die Verwendung von Sterilisatoren mit geschmolzenem Metall (sog. molten metal sterilizer), Glaskugelsterilisatoren oder die Sterilisation der Instrumente mit heißem Salz wurden jedoch von Sommer et al. (1966) aufgrund der mühsamen und langwierigen Behandlungsdauer (ausreichend lange und für eine effektive Sterilisation ausreichend hohe benötigte Temperatur) verworfen. Untersuchungen von Segall et al. (1977) zur Chairside-Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten mit Hilfe von Watterollen und Gazetupfern (entweder trocken oder in Alkohol getränkt), einem gespannten Gummiband und einem Schaumstoffschwamm erbrachten keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Der Gazetupfer zeigte zwar die größte Reinigungsleistung, jedoch wurde im Elektronenmikroskop sichtbar, dass die Gaze vor allem in den Windungen der Hedström-Feilen kleinste Fusseln hinterließ. Das Gummiband und der Schaumstoffschwamm hinterließen ebenfalls Fremdmaterial auf den Feilen zurück.

Levy hat im Jahr 1986 verschiedene Methoden zur Reinigung der Wurzelkanalinstrumente noch während der Behandlung untersucht. Er wählte drei verschiedene Methoden der Reinigung aus und untersuchte anschließend die Feilen unter dem Elektronenmikroskop. Für die Untersuchung verwendete er Hedström-Feilen der ISO-Größe 20, ein maschinelles Wurzelkanalaufbereitungssystem sowie frisch extrahierte untere Molaren, aus deren Wurzelkanalsystem die Testanschmutzung durch Bearbeitung der Kanalwände gewonnen wurde. Als erste Reinigungsmethode wählte er die sorgfältige Entfernung des Debris mit Hilfe einer Watterolle und Einweichen der Feile für 5 s in einer 5 %igen Natriumhypochlorit-Lösung. Die zweite Variante war eine angefeuchtete Gaze, die über einen sogenannten „clean grip“ (ähnlich wie ein Interim-Stand, der nicht gefüllt ist) gespannt wurde. Die Feilen wurden entweder einmal oder dreimal durch die feuchte Gaze gesteckt. Als dritte Methode wählte er ein sogenanntes „clean set“ (ähnlich wie ein Interim-Stand, der gefüllt ist), in dem sich eine 2,5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung befand und auf den eine Schaumstoffscheibe gespannt wurde. Er führte die Feile einmal durch den Schaumstoff und tränkte sie anschließend für 5 s in der 2,5 %igen Natriumhypochlorit-Lösung. Er kam zu dem Ergebnis, dass das „clean set“ das beste Ergebnis erzielte und unter dem Elektronenmikroskop anschließend kein Debris mehr zu erkennen war.

Ferreira et al. verglichen 1990 verschiedene Methoden zur Reinigung benutzter Wurzelkanalinstrumente. Sie wählten einen Gazetupfer sowie einen Schaumstoffschwamm, die jeweils mit Alkohol getränkt waren. Als dritte Methode kam ein Ultraschallbad mit einer Reinigungslösung zum Einsatz. Die Feilen wurden durch das Bearbeiten von extrahierten Zähnen beschmutzt und anschließend den Reinigungsprozessen unterzogen. Mit Hilfe der Gaze wurden die Feilen zweimal abgewischt. Ebenfalls zweimal wurden die Feilen durch den Schaumstoffschwamm gestoßen. Die dritte Gruppe an Feilen verweilte für 5 min im Ultraschallbad. Hinzu kam, dass ein Teil der Feilen sofort nach dem Beschmutzen diesen Reinigungsprozessen unterzogen wurde, der andere Teil der Feilen erst nach 1 Stunde, d. h. nach Antrocknen des Debris an die Feilen, gereinigt wurde. Die Untersuchung unter dem Elektronenmikroskop ergab, dass sowohl die sofort gereinigten als auch die nach 1 h Verzögerung gereinigten Instrumente nicht frei von Debris waren. Die Reinigung der Instrumente im Ultraschallbad sowie das Abwischen der Feilen mit dem alkoholgetränkten Gazetupfer erbrachten ähnliche Ergebnisse. Die Methode mit dem in Alkohol getränkten Schaumstoffschwamm schnitt am schlechtesten ab. Daraus ließe sich ableiten, dass bei der Reinigung eher der mechanische Abrieb im Vordergrund steht als die Art der verwendeten Lösung, da sowohl die Gaze als auch der Schaumstoffschwamm mit Alkohol

getränkt waren, die Gaze jedoch die besseren Ergebnisse erzielte. Der Schaumstoffschwamm war für eine effiziente mechanische Reinigung der Feilen vermutlich zu weich.

Parashos et al. (2004) untersuchten ebenfalls Methoden, die zur Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten geeignet waren. Hier stand jedoch der gesamte Reinigungs- und Sterilisationsprozess von rotierenden Nickel-Titan-Feilen im Fokus, die zuvor durch Verwendung an extrahierten Zähnen mit Debris beschmutzt wurden. Der erste Reinigungsprozess erfolgte „Chairside“ mit Hilfe kleiner Plastikboxen und verschiedenen darin liegenden Schwämmen (zwei verschiedene Topfreiniger, ein kompakter und ein poröser Schwamm). Die Schwämme waren ihrerseits mit unterschiedlichen Lösungen (CHX 0,2 %, NaOCl 1 %) getränkt. Die Feilen wurden entweder fünfmal oder zehnmal in die Schwämme gesteckt und wieder herausgezogen. Danach erfolgte die Lagerung der Feilen in unterschiedlichen Lösungen (NaOCl 1 %, NaOCl 4 %, EDTA 15%, EmPower Enzym Lösung) für 5, 15 bzw. 30 min und anschließender Ultraschallreinigung (verwendete Lösungen: NaOCl 1 %, EDTA 15 % und EmPower Enzym Lösung; jede Lösung wurde für 5, 10, 15, 30 oder 45 min getestet). Anhand der Ergebnisse war zu erkennen, dass die Schwammart und die unterschiedliche Anzahl, mit der die Feilen in den Schwamm gesteckt wurden (also die Chairside-Reinigung), einen Einfluss auf den gesamten Reinigungsprozess hatten. Parashos et al. fanden heraus, dass die Nickel-Titan-Feilen sowohl visuell als auch unter dem Elektronenmikroskop sauber erschienen, indem folgendes aufwändiges Verfahren angewandt wurde: zehn Stöße in einen mit 0,2 %iger CHX-Lösung getränkten Topfreiniger, 30 min Einweichen in einer Enzymlösung und anschließendes Ultraschallbad für 15 min in dergleichen Enzymlösung, abschließende Spülung mit klarem Wasser für 20 s.

Die Methoden zur Chairside-Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten haben sich über die Jahre hinweg nicht grundlegend geändert. Ausnahmen stellen die Versuche mit den Chairside-Sterilisatoren in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts dar. In allen Untersuchungen wird mit verschiedenen Lösungen und den unterschiedlichsten Materialien (Schwämme, Gaze, Tupfer, Gummibänder, Watte etc.) versucht, das zuvor aus den Wurzelkanälen abgetragene Material wieder von den Instrumenten zu entfernen. Da die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse fast ausschließlich mit licht- oder elektronenmikroskopischen Verfahren untersucht worden sind, sind diese Ergebnisse nicht unmittelbar mit denen dieser Untersuchung vergleichbar, da hier ein Proteinnachweis mit Hilfe der modifizierten OPA-Methode erfolgte. Auch wurden in zahlreichen Untersuchungen Debris oder Mikroorganismen als Testanschmutzung verwendet, wohingegen in dieser Untersuchung ausschließlich Blut als Testanschmutzung verwendet wurde. Die in dieser

Untersuchung verwendete Schaumstoffscheibe könnte ebenfalls, wie von Segall et al. (1977) oder Ferreira et al. (1990) beschrieben wurde, Rückstände auf den Wurzelkanalinstrumenten hinterlassen. Dies muss zu einem späteren Zeitpunkt in elektronenmikroskopischen Untersuchungen geklärt werden.

Die vorliegende Untersuchung gleicht im Aufbau der Untersuchung von Levy (1986). Er verwendete ebenfalls eine Art von Interim-Stand (einen „clean grip“ und ein „clean set“), wobei er den einen befüllt (NaOCl 2,5 %) und den anderen unbefüllt verwendete. In der vorliegenden Untersuchung wurden acht Interim-Stände mit verschiedenen Lösungen befüllt. Zusätzlich wurde in Anlehnung an den anonymen Fragebogen ein unbefüllter Interim-Stand als Kontrollgruppe verwendet. Es wurden sechs unterschiedliche Bearbeitungsweisen der Hedström-Feilen in den Interim-Ständen gewählt. Bei den Bearbeitungsweisen 1, 2 und 3 wurden die Hedström-Feilen unterschiedlich oft (einmal, dreimal sowie fünfmal) durch die Schaumstoffscheibe gestochen und anschließend sofort wieder herausgezogen. Bei den Bearbeitungsweisen 4, 5 und 6 wurden die Hedström-Feilen durch die Schaumstoffscheibe gestochen und erst nach einer gewissen Verweildauer (30 s, 60 s sowie 300 s) in der zu untersuchenden Lösung wieder herausgezogen.

8.1.6 Wahl der Testlösungen

Bei der Auswahl der Testlösungen wurden zum einen Lösungen berücksichtigt, welche im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung als Spüllösung für die Wurzelkanäle in Frage kommen und zum anderen diejenigen, die am häufigsten bei der anonymen Umfrage genannt wurden: Isopropanol 70 %, Chlorhexidindigluconatlösung 0,2 % und 2 % sowie Natriumhypochlorit 1 %. In zwei Fällen wurde in der anonymen Umfrage als Spüllösung für den Wurzelkanal physiologische Kochsalzlösung angegeben. Als weitere Testlösungen wurden das Polyhexanid und das Endo CHX mit in die Untersuchung aufgenommen.

Isopropanol wurde in der anonymen Umfrage als häufigste Lösung für die Befüllung des Interim-Standes genannt. Auch der Hersteller des Interim-Standes nennt auf Nachfrage hin Alkohol als eine Möglichkeit, den Interim-Stand zu befüllen. Wegen der fixierenden (Rosenberg 2001) und toxischen Eigenschaft von Alkohol auf Gewebe wurde davon jedoch in den letzten Jahren Abstand genommen. Prior et al. (2004) konnten ebenfalls zeigen, dass Alkohole (sie untersuchten sowohl Ethanol als auch Isopropanol) Blut und Proteine an Edelmetallinstrumenten

fixiert. Die stärkste fixierende Eigenschaft weist nach der Untersuchung von Prior et al. eine Konzentration von 75 % Ethanol in Wasser auf. Auch die KRINKO und die BfArM-Empfehlung (2012) weist auf die fixierende Eigenschaft von Alkoholen hin. Da Alkohol eine sehr flüchtige Substanz ist, wird er teilweise heute noch als Abschlusspülung im Wurzelkanal verwendet, um eine Trocknung des Kanalsystems zu erreichen (Hellwig et al. 2003). An zweiter Stelle wurde in der anonymen Umfrage das Chlorhexidindiglukonat genannt, welches in Konzentrationen von 0,2 % und 2 % als Wurzelkanalspüllösung Verwendung findet. Chlorhexidin besitzt ein breites antimikrobielles Wirkspektrum sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Bakterien und Pilze (v. a. *Candida albicans*). Chlorhexidindiglukonat besitzt die Fähigkeit, an Hydroxylapatite zu binden, woraus seine verlängerte antimikrobielle Aktivität resultiert (Rölla et al. 1970, Rölla und Melsen 1975). White et al. (1997) konnten zeigen, dass so eine relativ lange, konstante antimikrobielle Wirkung von CHX im Wurzelkanal gewährleistet ist (Depotfunktion). Allerdings stellten Portenier et al. (2002) fest, dass Chlorhexidin im Wurzelkanal durch Dentindebris und andere im Kanal vorkommende Substanzen (auch Blut) inaktiviert wird. Eine abschließende Spülung mit Chlorhexidin könnte aber aufgrund dieser Substantivität, nach vorheriger sorgfältiger Reinigung des Wurzelkanalsystems, klinisch nützlich und hilfreich sein. Siqueira und Sen (2004) und Waltimo et al. (2004) stellten ebenso fest, dass Wurzelkanäle, deren Abschlusspülung mit 2 %igem Chlorhexidindiglukonat durchgeführt wurde, deutlich weniger kultivierbare Mikroorganismen enthielten als die Kontrollgruppe, die ausschließlich mit Natriumhypochlorit gespült wurde. Da Chlorhexidindiglukonat allerdings keine gewebeauflösende Wirkung wie Natriumhypochlorit zeigt (Naenni et al. 2004), kann es dieses als Standardspüllösung bei der Wurzelkanalbehandlung nicht ersetzen.

Das Mittel der Wahl ist daher das in unterschiedlichen Konzentrationen erhältliche Natriumhypochlorit, welches in der anonymen Umfrage an dritter Stelle für eine Befüllung des Interim-Standes genannt wurde. Es erfüllt fast sämtliche Anforderungen (bakterizide Wirkung, geringe Toxizität, niedrige Oberflächenspannung, Entfernung von vitalem oder nekrotischem Gewebe, Hellwig et al. 2003) an eine Spüllösung und wird daher als wässrige Lösung in unterschiedlichen Konzentrationen zwischen 0,5 % und 5,25 % (Siqueira et al. 2000, Gomes et al. 2001) im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung angewendet. Seine Wirkung beruht auf dem Gehalt an undissoziierten HOCL-Molekülen.



Diese haben eine oxydierende und chlorierende Wirkung. Die antibakterielle Wirkung von Natriumhypochlorit ist in den üblich angewendeten Konzentrationsbereichen annähernd gleich gut (Hellwig et al. 2003). Natriumhypochlorit hat ein breites, hoch effizientes Wirkspektrum gegen alle vegetative Bakterienformen, Bakteriensporen, Pilze, Pilzsporen sowie gegen behüllte und unbehüllte Viren (Bloomfield und Arthur 1992).

Siqueira et al. (2000) führten eine *in-vitro*-Untersuchung durch und verglichen die Wirksamkeit von 1 %iger, 2,5 %iger und 5,25 %iger Natriumhypochlorit-Lösung. Sie konnten keinen Unterschied zwischen den Konzentrationen und ihrer antimikrobiellen Wirksamkeit feststellen. Heling et al. (2001) untersuchten ebenfalls die antibakterielle Wirksamkeit sowie die Zytotoxizität von Natriumhypochlorit. Schon geringe Konzentrationen einer Natriumhypochlorit-Lösung konnten *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius* sowie *Streptococcus mutans* abtöten. Ab einer Konzentration von 2,5 % konnte ebenfalls *Enterococcus faecalis* eliminiert werden. Allerdings stellten sie fest, dass Natriumhypochlorit schon ab einer Konzentration von 0,01 % toxisch auf Fibroblasten wirkt. Dies bedeutet, dass mit zunehmender Konzentration auch die Toxizität des Natriumhypochlorits steigt. Gomes et al. (2001) untersuchten fünf verschiedene Konzentrationen von Natriumhypochlorit (0,5 %, 1 %, 2,5 %, 4 % und 5,25 %). Sie konnten zeigen, dass alle Konzentrationen effektiv in der Elimination von *Enterococcus faecalis* waren, wenn auch in unterschiedlichen Zeiten. Am schnellsten gelang dies mit einer 5,25 %igen Natriumhypochlorit-Lösung. Natriumhypochlorit ist ebenfalls bedeutsam bei der Elimination von Pilzen aus dem Wurzelkanalsystem. Dort findet man vor allem *Candida albicans*, der jedoch selten bei der Primärinfektion des Wurzelkanalsystems eine Rolle spielt. Vielmehr kann *Candida albicans* bei persistierenden Infektionen oder bei Sekundärinfektion einer bereits bestehenden Wurzelkanalfüllung im Kanalsystem nachgewiesen werden (Siqueira et al. 2004). Waltimo et al. (1999) konnten nachweisen, dass Natriumhypochlorit (5 % und 0,5 %) in der Lage ist, sämtliche Pilze innerhalb von nur 30 s abzutöten.

Aufgrund seiner guten Gewebeverträglichkeit und seines ähnlichen Wirkspektrums wie das des Chlorhexidins wurde das Biguanid Polyhexanid mit in die vorliegende Untersuchung aufgenommen. Polyhexanid besitzt ein breites antimikrobielles Spektrum gegen grampositive und gramnegative Bakterien (Davies et al. 1968, Davies und Field 1969), Biofilm-bildende Bakterien, Chlamydien, Mykoplasmen und Pilze wie *Candida*- oder *Aspergillus* Spezies (Banovic et al. 2013). Der Pharmarohstoff Lavasept besteht aus Polyhexanid (20 %) und Polyethylenglycol (Macrogolum) 4000 (1 %) in wässriger Lösung. Zur Herstellung der Ge-

brauchslösung werden 1 bzw. 2 ml Lavasept zu 1000 ml Ringerlösung gegeben. Für den Wirkstoff Polyhexanid ergibt sich daher eine Anwendungsverdünnung von 0,2 (0,02 %) bzw. 0,4 mg/ml (0,04 %) (Kramer et al. 1993). Polyhexanid wird als Antiseptikum für Wunden, Haut- und Schleimhäute verwendet. Es spielt im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung bisher keine Rolle. Rosin et al. (2001) konnten jedoch einen antiseptischen Effekt von Polyhexanid auf die bakterielle Plaque in der Mundhöhle nachweisen. Im direkten Vergleich mit einem 0,12 %igen Chlorhexidinpräparat hatte das 0,04 %ige Polyhexanid denselben antimikrobiellen Effekt, jedoch bei niedrigerer Konzentration. Dieser Effekt wurde schon von Addy et al. (1983) beobachtet. Kramer et al. (1993) stellten für Polyhexanid eine höhere therapeutische Breite bei geringerer Toxizität fest.

Es wurde zudem 2 %iges Endo CHX untersucht, welches speziell für die Verwendung in einem Interim-Stand entwickelt wurde. Die Lösung besteht aus 2 %igen Chlorhexidindigluconat mit Tensiden und dient der Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten während der Aufbereitung. Die Tenside sollen die schnelle, rückstandsfreie Ablösung von Dentinresten, der Schmierschicht und sonstigen organischen Rückständen bewirken (EG-Sicherheitsdatenblatt CHX Endo 2 %, 2013). Sie enthalten kationische und nichtionische Anteile in einer Konzentration von unter 10 % (E-Mail Lege artis 2009, siehe 11.3, S. 117). Die Vorzüge dieser Lösung werden wie folgt beschrieben: „Reinigung der Endo-Instrumente während der Wurzelkanalbehandlung, Verminderung der Keimzahl und Erhöhung des Hygieneerfolges, Komplettierung des Spülprotokolls und dadurch zusätzliche Sicherheit“ (Pressemitteilung 2009). Laut Herstellerangaben ist Endo CHX ein Medizinprodukt, aber kein Arzneimittel, da die Zulassung aus Kostengründen nicht beantragt wurde (Quelle: Lege artis, FAQ CHX Endo 2 %, Stand: 06.08.2010). Auffallend war, dass die darin enthaltenen Tenside, vor allem nach wiederholtem Durchstechen der Schaumstoffscheibe mit den Hedström-Feilen, eine starke Schaumbildung verursachten (Abb. 19). Es sollte daher geprüft werden, ob eine Verschleppung dieser Tenside stattfindet und, falls ja, ob diese eine Wirkung im Wurzelkanal oder im periapikalen Bereich ausüben können. Eine derartige Untersuchung steht bislang allerdings noch aus.



Abb. 19: Schaumbildung in einem Interim-Stand gefüllt mit 20 ml Endo CHX 2 % nach mehrmaligem Durchstechen der Schaumstoffscheibe mit einer Hedström-Feile

Sterile, physiologische Kochsalzlösung wurde ebenfalls in der anonymen Umfrage als Spüllösung für die Wurzelkanäle genannt. Sie stellt eine kostengünstige und gewebefreundliche Alternative zu den übrigen Lösungen dar. Allerdings besitzt sie keine antibakterielle Wirkung.

8.1.7 Wahl des Proteinnachweises

Für die Bewertung der Reinigungsleistung eines Reinigungs- und Desinfektionsgerätes gehen Normungsgremien davon aus, dass die vom Patienten stammende und durch Reinigung wieder zu entfernende Verschmutzung proteinhaltig ist (Fengler et al. 2003). Da in dieser Untersuchung Blut als Testanschmutzung verwendet wurde, musste ein Nachweisverfahren gewählt werden, welches proteinsensibel ist. In Anlehnung an die DIN EN ISO 15883-1 (2006) werden nachfolgend die dort aufgeführten Proteinnachweismethoden diskutiert: Ninhydrin-Methode, Biuret-Methode, OPA-Methode

Bei der Ninhydrin-Methode wird mit Hilfe eines Wattestäbchens ein zu untersuchender Prüfkörper abgewischt. Sie stellt ein qualitatives Nachweisverfahren dar und ist laut Fengler et al. (2003) für die Bewertung des Reinigungserfolges bei der Aufbereitung chirurgischer Instrumente nicht geeignet. Teilweise ergeben vorhandene Proteine auf den zum Abwischen benutzten Baumwolltupfern ein falsch negatives (keine Proteine vorhanden) Ergebnis. Die Verfärbung ist zudem auch von der Art der nachgewiesenen Proteine abhängig (Fengler et al. 2003). Michels (2005 Teil 1, 2005 Teil 2) kommt ebenfalls zu dem Schluss, dass die Funktionsfähigkeit der qualitativen Ninhydrin-Methode zum Nachweis einer Restkontamination auf chirurgischen Instrumenten als fraglich anzusehen ist. Für die Probengewinnung bei der Ninhydrin-Methode kommt ausschließlich das Abreiben mit einem Baumwolltupfer/Wattestäbchen in Frage. Dies kann ebenfalls zu falschen Ergebnissen führen, wenn die Verschmutzungen optisch nur schwer oder gar nicht zu erkennen sind (z. B. Schleim, Michels 2005 Teil 1). Da das Abwischen einer

Hedström-Feile mit einem Baumwolltupfer ohnehin nicht möglich ist, kam diese Methode zusätzlich aus diesem Grund als Nachweisverfahren nicht in Frage.

Mit der Biuret-Methode ist ein halb-quantitativer Proteinnachweis möglich. Laut Michels (2005 Teil 1) ermöglicht sie die Zuordnung der vorhandenen Proteine in Mengenbereiche. Der eigentliche Proteinnachweis basiert ebenfalls wie bei der Ninhydrinreaktion auf einem Farbumschlag. Der Restproteingehalt der Probe kann auf Grund der Stärke der Färbung anhand einer Vergleichsskala ermittelt werden (Michels 2005 Teil 1). Da diese Methode bei sehr geringen Proteinmengen zu ungenau ist, wurde sie in dieser Untersuchung nicht verwendet.

Die modifizierte OPA-Methode ist ein quantitatives Proteinnachweisverfahren, welches laut Michels (2005 Teil 1) exakte Werte liefert, deren Genauigkeit durch eine darstellbare Toleranz spezifiziert werden kann. Sie findet schon lange Anwendung bei biochemischen und lebensmittelanalytischen Prozessen sowie in der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Frister et al. 1990). Laut McCormick et al. (2007) hat sich die modifizierte OPA-Methode auch in zahlreichen Studien zur Reinigung chirurgischer Instrumente bewährt. Da die quantitative Erfassung proteinhaltiger Restkontaminationen auf und in chirurgischen Instrumenten laut Frister (2000) ein wesentliches Element der Qualitätssicherung der Reinigungsleistung darstellt, kommt für ihn nur die modifizierte OPA-Methode in Frage. Mit ihr lassen sich schnell, analytisch sicher und mit einer äußerst geringen Nachweisgrenze Proteine, Peptide sowie Aminosäuren nachweisen. Daher wurde in der vorliegenden Untersuchung die modifizierte OPA-Methode als Proteinnachweisverfahren gewählt.

Die Nachweisgrenze ist der Bereich, in dem gerade noch Proteine mit der modifizierten OPA-Methode nachgewiesen werden können. Sie wurde bei der vorliegenden Untersuchung bei einer Extinktion von 0,003 festgelegt (in Anlehnung an die Dissertationen von Schönherr 2005 und Radimersky 2012). Bei einer Extinktion $\leq 0,003$ wird in der vorliegenden Untersuchung von einem „statistischen Rauschen“ ausgegangen, welches zum Beispiel durch das elektrische Rauschen des Spektralphotometers oder durch Fingerabdrücke auf den Küvetten und nicht durch vorhandene Proteine verursacht werden kann.

8.2 Diskussion der Ergebnisse

8.2.1 Edelstahlplättchen

Die in dieser Untersuchung verwendeten 323 Edelstahlplättchen dienten zum Erlernen und Entwickeln der Methodik. Da sie jedoch mit zahnärztlichen Instrumenten nicht vergleichbar sind, wurden sie als Prüfkörper nach Entwicklung der Methodik durch Hedström-Feilen ersetzt.

8.2.2 Extinktionsverhalten der Testlösungen

Im Rahmen der Untersuchungen wurde festgestellt, dass die getesteten Lösungen selbst in der Lage waren, mit der OPA- bzw. der SDS-Lösung zu reagieren. Diese „Reaktionsprodukte“ konnten spektralphotometrisch erfasst werden und es war daher unklar, ob die gemessenen Extinktionswerte der Probenlösungen (mit enthaltener Testanschmutzung) auch tatsächlich nur von den darin enthaltenen Proteinen verursacht wurden oder ob ein Teil des gemessenen Extinktionswertes von den Testlösungen selbst durch ihre Reaktion mit der OPA- bzw. der 1 %igen SDS-Lösung verursacht wurde. Drei Versuche (8.2.2, 8.2.3, 8.2.4) wurden durchgeführt um zu zeigen, dass die Testlösungen keinen Einfluss auf die gemessenen Extinktionswerte der Probenlösungen hatten.

Es wurden sowohl die OPA-Lösung als auch die 1 %ige SDS-Lösung mit jeweils 100 µl der verschiedenen Testlösungen versetzt, um herauszufinden, ob die Testlösungen mit diesen beiden Lösungen reagierten.

Die 1 %ige SDS-Lösung reagierte ausschließlich mit der 1 %igen Natriumhypochlorit-Lösung. Der Mittelwert dieser Eigenextinktion lag bei 0,785. Natriumhypochlorit ist eine helle, klare Lösung, die eine schwache durch undissoziierte HOCL-Moleküle verursachte gelb-grüne Färbung besitzt (Sicherheitsdatenblatt NaOCl, Stand 2013). Daher besteht die Möglichkeit, dass die Eigenextinktionswerte von dieser Färbung verursacht wurden. Eine andere Möglichkeit ist, dass eine Reaktion zwischen dem Natriumhypochlorit und der 1 %igen SDS-Lösung (Sicherheitsdatenblatt Dodecylsulfat Na-Salt, Stand 2011) erfolgte. Laut den Sicherheitsdatenblättern besteht die Möglichkeit von Reaktionen zwischen Natriumhypochlorit und Säuren bzw. SDS und Oxidationsmitteln. Da Natriumhypochlorit eine oxidative Wirkung besitzt und SDS als schwache

Säure vorliegen kann, könnte eine Reaktion der beiden Substanzen miteinander stattgefunden haben.

Die OPA-Lösung reagierte mit den Testlösungen Natriumhypochlorit 1 %, Chlorhexidindiglukonat 0,2 %, Polyhexanid 0,04 %, Endo CHX 2 % sowie mit Chlorhexidindiglukonat A und B. Folgende Extinktionswerte (siehe Tab. 7, S. 53) konnten für die Testlösungen gemessen werden:

Natriumhypochlorit	0,013
Chlorhexidindiglukonat 0,2 %	0,010
Polyhexanid Charité	0,109
Polyhexanid Lavasorb	0,105
Endo CHX	0,171

Bei der Reaktion von Chlorhexidindiglukonat A und B mit der OPA-Lösung erfolgte unverzüglich eine Niederschlagsbildung, was eine weitere Messung am Photometer unmöglich machte. Diese Niederschlagsbildung konnte weder bei dem 0,2 %igen Chlorhexidindiglukonat noch beim 2 %igen Endo CHX festgestellt werden. Es scheint, als ob die Konzentration des Chlorhexidindiglukonats A und B ausschlaggebend für diese Ausflockung war. Beim Endo CHX, welches ebenfalls Chlorhexidin in 2 %iger Konzentration enthält, haben vermutlich die enthaltenen Tenside eine Ausflockung verhindert. Der Niederschlag setzte sich an den Innenwänden der Küvetten nieder und lies sich durch mehrmaliges Spülen mit destilliertem Wasser nicht mehr entfernen. Um weitere Messungen vornehmen zu können, mussten die Küvetten umfangreich gereinigt werden (siehe S. 54).

8.2.3 Verdünnungsreihenversuch zum Extinktionsverhalten der Testlösungen

Hier wurden die Testlösungen untersucht, die entweder mit der OPA-Lösung und/oder mit der 1 %igen SDS-Lösung reagiert hatten (siehe 8.2.2). Das Ziel war die Erstellung von Diagrammen zur Darstellung der Extinktionswerte in Abhängigkeit von ihrer Konzentration. Da die Testlösungen mit der OPA- bzw. der 1 %igen SDS-Lösung reagiert hatten, bestand die Annahme, dass bei den Messungen der Probenlösungen (SDS-Lösung mit abgelöster Testanschmutzung) ein Teil der Reaktion von der Testlösung selbst verursacht wurde und nicht ausschließlich von der darin enthaltenen Testanschmutzung.

Die beschmutzten Prüfkörper lagen zu Beginn der Untersuchung 5 min in Reagenzgläsern, die jeweils 10 ml der verschiedenen Testlösungen enthielten. Die Testlösungen lösten in dieser Zeit unterschiedlich große Mengen von der Testanschmutzung auf den Prüfkörpern ab. Anschließend wurden die Prüfkörper in Reagenzgläser mit 10 ml 1 %iger SDS-Lösung überführt, die zur Eluation der noch vorhandenen Menge an Testanschmutzung auf den Prüfkörpern diente. Nach insgesamt 10 min in der SDS-Lösung wurden die Prüfkörper entfernt, und es erfolgten die Extinktionsmessungen dieser Probenlösungen sowohl mit der OPA- als auch mit der SDS-Lösung. Durch Messung der Probenlösungen mit der OPA-Lösung wurden die enthaltenen Proteine der Testanschmutzung (Blut) in den Probenlösungen detektiert (= Extinktionswert). Durch Messung mit der SDS-Lösung allein wurde die Farbintensität der Probenlösung (verursacht durch das Hämoglobin) detektiert (= Eigenextinktionswert). Da die Testlösungen auch ohne enthaltene Testanschmutzung mit der OPA- und/oder der 1 %igen SDS-Lösung reagierten, ergab sich die Frage, ob ein Teil der gemessenen Werte durch Verschleppung der Testlösung in das Reagenzglas mit der SDS-Lösung verursacht wurde. Wenn dies der Fall gewesen wäre, dann hätten die Werte, die von den Testlösungen verursacht wurden, von den Werten, die mit den Probenlösungen gewonnen wurden, abgezogen werden müssen. Daher wurden die Testlösungen einmal ohne Zusatz verschiedener Mengen an Blutverdünnung und einmal mit Zusatz verschiedener Mengen an Blutverdünnung sowohl mit der OPA- als auch mit der 1 %igen SDS-Lösung untersucht. Es entstanden Diagramme mit vier Geraden. Die Diagramme (siehe 11.5, S. 127) sollten zeigen, welcher Anteil der Extinktion während einer Probenmessung (mit Testanschmutzung) von der Testlösung selbst verursacht wurde. Die Darstellung der Extinktionswerte der Testlösungen in Abhängigkeit der in ihnen enthaltenen Konzentration an Testanschmutzung brachte darüber keinen Aufschluss.

8.2.4 Ausschluss der Verschleppung von Testlösungen

Nachdem der Verdünnungsreihenversuch zum Extinktionsverhalten der Testlösungen (siehe 8.2.3) keine verwertbaren Ergebnisse lieferte, stellte sich die Frage, ob überhaupt eine Verschleppung der Testlösungen von einem Reagenzglas in das andere stattfand. Die beschmutzten Prüfkörper wurden, wie bereits erwähnt, bei den Untersuchungen von Reagenzgläsern, die 10 ml der verschiedenen Testlösungen enthielten, in Reagenzgläser überführt, die 10 ml 1 %ige SDS-Lösung (= Eluationslösung) enthielten. Die Frage war, ob die Menge an Testlösung, die bei der Überführung der Prüfkörper von der Testlösung in die 1 %ige SDS-Lösung verschleppt wurde,

überhaupt groß genug war, um einen Einfluss auf die im Photometer gemessenen Werte nehmen zu können.

Daher wurden in dieser Untersuchung geringe Mengen der Testlösungen (1 μl bis 500 μl), wie sie eventuell an einem Prüfkörper haften könnten, in Reagenzgläser mit jeweils 10 ml 1 %iger SDS-Lösung pipettiert. Mit 100 μl von dieser mit Testlösung versehenen 1 %igen SDS-Lösung wurden anschließend Messungen im Photometer durchgeführt. Bei allen Mengen der Testlösungen lagen die Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze einer Extinktion von 0,003. Es wird daher davon ausgegangen, dass die sehr geringe Menge an Testlösung, die mit einem Prüfkörper aus dem Reagenzglas mit der Testlösung in das Reagenzglas mit der 1 %igen SDS-Lösung verschleppt wird, keinen Einfluss auf das Messergebnis hat. Die gemessenen Extinktionswerte werden ausschließlich von den in der Probenlösung enthaltenen Restproteinkontaminationen verursacht.

8.2.5 Rückgewinnungsrate

Die Rückgewinnungsrate ist die Menge einer Prüfanschmutzung, die im Vergleich zur Ausgangskonzentration von einem Prüfkörper durch Abspülen mit einer geeigneten Eluationslösung (hier 1 %ige SDS-Lösung) wieder zu entfernen ist. Laut Fengler et al. (2003) sollte sie bei über 90 % liegen. Auch laut Michels (1999) sollte die Rückgewinnungsrate für eine Testanschmutzung bei über 80 % liegen; noch besser wäre über 90 %.

Die Grundproteinmenge in 10 μl Testanschmutzung betrug 0,11 μmol . Die Rückgewinnung von Edelstahlplättchen, die mit 10 μl Testanschmutzung versehen waren, betrug 0,12 $\mu\text{mol/Instrument}$. Dies entspricht einer Rückgewinnungsrate von 109 %. Die Grundproteinmenge in 50 μl Testanschmutzung betrug 0,64 μmol . Die Rückgewinnung von Edelstahlplättchen, die mit 50 μl Testanschmutzung versehen waren, betrug 0,66 $\mu\text{mol/Instrument}$. Dies entspricht einer Rückgewinnungsrate von 103 %. Die Rückgewinnung von Edelstahlplättchen mit 10 bzw. 50 μl Testanschmutzung entspricht damit den Anforderungen, welche Michels (1999) an eine Rückgewinnungsrate stellt. Da die Edelstahlplättchen plane, glatte Körper sind, konnte die SDS-Lösung die gesamte Testanschmutzung innerhalb von 10 min sehr gut von den Edelstahlplättchen ablösen. Die überdurchschnittlich guten Rückgewinnungsraten von den Edelstahlplättchen können entweder auf Schwankungen des Proteingehalts im humanen Blut oder auf Messungenauigkeiten des Spektralphotometers zurückgeführt werden.

Die Grundproteinmenge in 10 µl Testanschmutzung betrug, wie oben bereits erwähnt, 0,11 µmol. Bei den Hedström-Feilen die mit 10 µl Testanschmutzung versehen waren, betrug die Rückgewinnung pro Instrument 0,08 µmol. Dies entspricht einer Rückgewinnung von 73 %. Diese geringere Rückgewinnungsrate von nur 73 % bei den Hedström-Feilen gegenüber den Edelstahlplättchen macht deutlich, dass die SDS-Lösung aufgrund der komplexen Feilengeometrie nicht in der Lage war, innerhalb von 10 min die Testanschmutzung weitgehend von den Hedström-Feilen abzulösen. Die Frage ist, ob eine längere Lagerungszeit der beschmutzten Feilen in der SDS-Lösung auf dem Schüttler eine höhere Rückgewinnungsrate hervorgebracht hätte, was jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht überprüft wurde.

Im Vergleich zur Nachweisgrenze der modifizierten OPA-Methode (0,05 µmol) wird ersichtlich, dass die Rückgewinnung von Hedström-Feilen, welche mit 10 µl Testanschmutzung versehen waren (0,08 µmol), nur circa 60 % über der Nachweisgrenze liegt. Die Ursache für diesen geringen Abstand (0,05 µmol vs. 0,08 µmol) liegt vermutlich ebenfalls an der Feilengröße und -geometrie. Hätte mehr Testanschmutzung auf die Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 appliziert werden können, wäre die Rückgewinnung entsprechend größer ausgefallen und der Abstand zur Nachweisgrenze wäre vermutlich deutlich größer gewesen.

8.2.6 Versuch mit den Testlösungen und Interim-Ständen

Mit 10 µl reaktiviertem Heparinblut beschmutzte Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 wurden in acht verschiedenen befüllten und einem unbefüllten Interim-Stand mit sechs unterschiedlichen Bearbeitungsweisen gereinigt. Zur Befüllung der Interim-Stände wurden folgende Testlösungen verwendet:

- Isopropanol
- Natriumhypochlorit
- Chlorhexidindigluconat
- physiologische Kochsalzlösung
- Endo CHX
- Polyhexanid
- Chlorhexidindigluconat A
- Chlorhexidindigluconat B

Der unbefüllte Interim-Stand diente als Kontrollgruppe.

Bei den Bearbeitungsweisen 1, 2 und 3 wurden die Hedström-Feilen unterschiedlich häufig durch die Schaumstoffscheibe gestochen und sofort wieder herausgezogen (einmal, zweimal sowie dreimal). Bei den Bearbeitungsweisen 4, 5 und 6 wurden die Hedström-Feilen einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und verweilten unterschiedlich lange (30 s, 60 s sowie 300 s) hängend in den Testlösungen, bevor sie wieder herausgezogen wurden.

Die Bearbeitungsweisen 1 bis 3 spiegeln die Reinigung der Wurzelkanalinstrumente nach Instrumentierung der Wurzelkanäle wieder. Entsprechend des Verschmutzungsgrades der Wurzelkanalinstrumente werden diese mehrfach zur Reinigung durch die Schaumstoffscheibe gestochen. Die Bearbeitungsweisen 4 bis 6 simulieren die Zwischenablage der Instrumente in einem Interim-Stand. Beide Methoden sind daher als praxisbezogen einzustufen. Die Ergebnisse der unterschiedlichen Restproteinkontaminationen ($\mu\text{mol}/\text{Instrument}$) wurden in Bezug zur durchschnittlichen Rückgewinnungsrate einer mit $10\ \mu\text{l}$ beschmutzten Hedström-Feile der ISO-Größe 120 ($0,08\ \mu\text{mol}/\text{Instrument}$) gesetzt. Die optische Beurteilung erfolgte nur nach dem Kriterium sauber/nicht sauber. Es wurde keine Graduierung vorgenommen. Darüber hinaus wurden keine weiterführenden bildgebenden Untersuchungen (z. B. Elektronenmikroskopie) vorgenommen, da bereits mit bloßem Auge zu erkennen war, dass keine der untersuchten Hedström-Feilen sauber war.

Bei Isopropanol lag die Restproteinkontamination bei Bearbeitungsweise 1 bei $0,08\ \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Bei Bearbeitungsweise 2 bzw. 3 lag sie bei $0,09$ bzw. $0,07\ \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Das mehrmalige Durchstechen der Schaumstoffscheibe erbrachte somit keine Abnahme der Proteinkonzentration, wie bei den anderen Testlösungen (s. u.) zu beobachten war. Bei den Bearbeitungsweisen 4 und 6 lagen die Restproteinkontaminationen bei $0,09$ und $0,10\ \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Nur bei Bearbeitungsweise 5 lag die Restkontamination an der Nachweisgrenze von $0,05\ \mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Vermutlich erfolgte hier tatsächlich eine Reinigung (im Sinne eines Anlösens der Testanschmutzung) der Hedström-Feilen, wohingegen bei der Bearbeitungsweise 4 keine Reinigung aufgrund der zu geringen Einwirkzeit und bei Bearbeitungsweise 6 bereits eine Fixierung der Testanschmutzung stattfand. Aufgrund der sehr nah beieinander liegenden Einzelwerte (Tab. 31 und 32, S. 124 und 125) sind Streuung und Laborfehler eher unwahrscheinlich. Mit Isopropanol findet man somit bei fast allen Bearbeitungsweisen eine Restkontamination im Bereich der Rückgewinnungsrate von

0,08 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$, was bedeutet, dass die gesamte Testanschmutzung an den Hedström-Feilen verblieb. Die Restproteinkontaminationen, die von der SDS-Lösung eluiert werden konnte, erklären jedoch nicht das visuelle Bild der Hedström-Feilen. Visuell erscheint es, als ob die gesamte Testanschmutzung von Isopropanol an den Hedström-Feilen fixiert wurde (siehe Abb. 20, S. 100), was wiederum eine niedrigere Restkontamination bei den Messungen des SDS-Eluats zur Folge hätte haben müssen. Offen bleibt daher die Frage, was durch die SDS-Lösung von der verbliebenen Testanschmutzung abgelöst wurde, wenn, visuell betrachtet, der größte Teil der Testanschmutzung an den Hedström-Feilen fixiert zurückblieb. Wenn nur das im Blut enthaltene Hämoglobin von der SDS-Lösung eluiert worden wäre, dann dürfte das der Hedström-Feile anhaftende Material nicht mehr rot gefärbt sein, da das Fibringerüst selbst keine rote Färbung besitzt. Nakata et al. (2007) kommen zu dem Ergebnis, dass Alkohol Blut auf Edelstahl nachhaltig fixiert und Alkohol daher nicht als Dekontaminationslösung für chirurgische Instrumente vor der Reinigung in Frage kommen soll. Zu demselben Ergebnis kommen Prior et al. (2004), die das Problem der Alkoholfixierung in Hinblick auf eine mögliche Übertragung von Prionen durch chirurgische Instrumente beleuchten. Die KRINKO und die BfArM-Empfehlung (2012) fordert durch die Verfahrensführung bei der Aufbereitung von Medizinprodukten sicherzustellen, dass es nicht zu einer Fixierung von Rückständen (z. B. Blut, Sekrete, Gewebereste) auf Medizinprodukten kommt. Sie weisen in ihrer Empfehlung auf die fixierende Eigenschaft von Alkohol hin. Alkohol darf daher für die Befüllung eines Interim-Standes nicht verwendet werden.

Die Reinigungsleistung im unbefüllten Interim-Stand (Kontrollgruppe) war ähnlich schlecht wie die des Isopropanols. Bei den Bearbeitungsweisen 1, 2, 4, 5 und 6 lagen die ermittelten Restproteinkontaminationen im Bereich von 0,10 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$ und somit im Bereich der Rückgewinnungsrate. Lediglich bei Bearbeitungsweise 3 lag die Restkontamination an der Nachweisgrenze von 0,05 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Indem die Hedström-Feilen dreimal hintereinander durch die Schaumstoffscheibe gestochen wurden, kam es deutlich sichtbar zum Abplatzen der getrockneten und geronnenen Testanschmutzung. Da bei dem unbefüllten Interim-Stand ein mechanischer Abrieb an der trockenen Schaumstoffscheibe stattfand, konnte anschließend im Falle der Bearbeitungsweise 3 weniger Testanschmutzung von der SDS-Lösung eluiert werden, was wiederum die niedrigere Restproteinkontamination zur Folge hatte. Aufgrund der schlechten Reinigungsleistung sollte ein unbefüllter Interim-Stand ebenfalls nicht verwendet werden.

Beim Endo CHX lagen die Restproteinkontaminationen bei den Bearbeitungsweisen 1, 2, 4 und 6 im Bereich der Rückgewinnungsrate. Bei den Bearbeitungsweisen 3 und 5 lagen die Werte an der Nachweisgrenze von 0,05 µmol/Instrument. Für Endo CHX lässt sich eine Reduktion der Proteinkontamination erkennen, je öfter die Hedström-Feilen durch die Schaumstoffscheibe gestochen wurden und je länger die Hedström-Feilen hängend im Endo CHX verweilten. Ein Problem stellte das bereits erwähnte Schäumen der Tenside dar, wenn die Hedström-Feilen mehrmals hintereinander durch die Schaumstoffscheibe gestochen wurden. Es bleibt zu klären, ob Bestandteile der Tenside an den Instrumenten haften bleiben und somit einen Effekt im Wurzelkanal oder im periapikalen Gewebe haben könnten. Bis dahin sollte es nicht in einem Interim-Stand verwendet werden.

Bei Polyhexanid konnte innerhalb der verschiedenen Bearbeitungsweisen eine Abnahme der Restkontaminationen nachgewiesen werden. Bei den Bearbeitungsweisen 1 und 4 lagen die Werte noch im Bereich der Rückgewinnungsrate (0,08 µmol/Instrument). Bei den Bearbeitungsweisen 2 und 5 lagen die Werte an der Nachweisgrenze von 0,05 µmol/Instrument. Bei den Bearbeitungsweisen 3 und 6 lagen die Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 µmol/Instrument. Polyhexanid zeigte bei der Verwendung in einem Interim-Stand eine gute Reinigungsleistung, so dass nur noch wenig Testanschmutzung von der SDS-Lösung eluiert werden konnte. Da Polyhexanid im zahnärztlichen Alltag bisher fast keine Rolle spielt (einzige Ausnahme ist ProntOral der Firma Braun; Mundspüllösung zur MRE-Dekolonisation) sollte für die Befüllung eines Interim-Standes eine Lösung gefunden werden, die bereits in der Zahnheilkunde Verwendung findet.

Die Chlorhexidindiglukonatlösungen A und B schnitten schlechter als das Polyhexanid ab. Das Chlorhexidindiglukonat A lag bei den Bearbeitungsweisen 1, 4 und 5 im Bereich der Rückgewinnungsrate. Bei den Bearbeitungsweisen 2, 3 und 6 lagen die Restkontaminationen an der Nachweisgrenze von 0,05 µmol/Instrument. Ein ähnliches Verhalten zeigte das Chlorhexidindiglukonat B. Bei den Bearbeitungsweisen 1, 2 und 5 lagen die Werte im Bereich der Rückgewinnungsrate (0,08 µmol/Instrument). Bei den Bearbeitungsweisen 3, 4 und 6 lagen die Werte im Bereich der Nachweisgrenze (0,05 µmol/Instrument). Insgesamt betrachtet waren die Reduktionsraten bei den verschiedenen Bearbeitungsweisen nicht so hoch wie beim Endo CHX oder beim Polyhexanid. Auch optisch waren bei den Chlorhexidindiglukonatlösungen A und B sowie dem Endo CHX deutliche Rückstände der Testanschmutzung auf den Hedström-

Feilen nachweisbar, wohingegen optisch bei den Feilen, die in Polyhexanid gelagert wurden, fast keine Testanschmutzung mehr auf den Hedström-Feilen zu sehen war.

Die drei Testlösungen, die in dieser Untersuchung die besten Ergebnisse erzielten, waren Natriumhypochlorit, 0,2 %iges Chlorhexidindiglukonat sowie physiologische Kochsalzlösung. Bei Bearbeitungsweise 1 konnten für diese drei Testlösungen dieselben Restproteinkontaminationen ermittelt werden (NaOCl 0,07 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$, CHX 0,08 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$, NaCl 0,07 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$). Hier lagen die Restproteinkontaminationen wie bei allen anderen Testlösungen auch im Bereich der Rückgewinnungsrate, was bedeutet, dass der Reinigungseffekt beim einmaligen Durchstechen der Schaumstoffscheibe bei allen Testlösungen sehr gering war. Bei den Bearbeitungsweisen 2 bis 6 lagen alle Werte der drei Testlösungen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$. Hier schnitten die anderen Testlösungen deutlich schlechter ab. Bei der visuellen Betrachtung der Hedström-Feilen wurde jedoch deutlich, dass Natriumhypochlorit ebenfalls Teile der Testanschmutzung fixiert (siehe 7.2.7, S. 70, Abb. 10). Daher ergeben sich für Natriumhypochlorit ebenfalls Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 $\mu\text{mol}/\text{Instrument}$, während die beiden anderen Lösungen (Chlorhexidindiglukonat und Kochsalzlösung) die Testanschmutzung besser von den Feilen abgelöst hatten.

In der Literatur lassen sich unterschiedliche Angaben zum Natriumhypochlorit und zum Chlorhexidindiglukonat finden. Nakata et al. (2007) untersuchten 0,5 %iges Natriumhypochlorit und eine 0,1 %ige Chlorhexidindiglukonatlösung als Desinfektionsmittel vor der enzymatischen Reinigung von mit Hämoglobin, Albumin und Fibrin beschmutzten Edelstahlplättchen. Beide Desinfektionsmittel fixierten, wenn auch nur in sehr geringem Maße, Bestandteile der Testanschmutzung auf den Edelstahlplättchen, wogegen die anschließende enzymatische Reinigung machtlos war. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass sowohl mittelstark wirksame Desinfektionsmittel (Natriumhypochlorit) als auch gering wirksame Desinfektionsmittel (Chlorhexidin) vor der Reinigung chirurgischer Instrumente ebenso wie Alkohole aufgrund der Blut fixierenden Eigenschaft nicht zum Einsatz kommen sollten. Vadrot et al. (2006) untersuchten wiederum den Einfluss chemischer Desinfektionsmittel auf die Fixierung von Nervengewebe an wiederverwendbaren Medizinprodukten. Sie fanden mittels eines quantitativen Proteinnachweises heraus, dass ein einstündiges Einweichen von Medizinprodukten, die mit dem Nervengewebe beschmutzt waren, in einer 2 %igen Natriumhypochloritlösung in der Lage war, alle vorher fixierten Proteine vollständig zu entfernen.

Linsuwanont et al. (2004) untersuchten die Reinigung von rotierenden Nickel-Titan-Feilen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass eine feuchte Lagerung der Instrumente während der Behandlung die nachfolgende Reinigung erleichtert. Nach zweistündiger feuchter Lagerung in einem mit 0,1 %iger Chlorhexidindigluconatlösung getränkten Schwamm, anschließendem Bürsten der Feilen mit einer Nylonbürste, zehnmütigem Einweichen der Feilen in Natriumhypochlorit 1 % und anschließenden Ultraschallbädern konnten sie unter dem Elektronenmikroskop keinen organischen Debris mehr nachweisen. Im Gegensatz dazu waren die Feilen, die nach der Verwendung im Wurzelkanal trocken gelagert wurden, nach der Aufbereitung nicht frei von Debris. Auch wenn die von Linsuwanont et al. beschriebene Methode in der Realität wenig praktikabel ist, zeigt sie dennoch, dass eine feuchte Lagerung der Instrumente, zum Beispiel in einem befüllten Interim-Stand, durchaus in der Lage ist, den Reinigungsprozess zu verbessern.

Ein weit größeres Problem könnte jedoch die Interaktion von Chlorhexidindigluconat und Natriumhypochlorit sein, da es bei Kontakt der beiden Lösungen zur Ausfällung eines orange-braunen Niederschlags kommt, der auf die Bildung von Parachloranilin (Basrani et al. 2007) zurückzuführen ist. Bei Verwendung von Chlorhexidindigluconat und Natriumhypochlorit als Spüllösungen im Wurzelkanal muss zwischen den beiden Spülvorgängen entweder auf eine sorgfältige Trocknung der Kanäle geachtet oder eine andere Spüllösung als Zwischenspülung (z. B. Kochsalzlösung) eingesetzt werden. Bei Verwendung von Chlorhexidindigluconat in einem Interim-Stand und Natriumhypochlorit als Spüllösung (oder umgekehrt) besteht die Möglichkeit, dass es durch Reaktion der beiden Lösungen zu einer Niederschlagsbildung im Wurzelkanal oder an den Instrumenten kommt. Da Parachloranilin toxisch ist (Chhabra et al. 1991, Burkhardt-Holm et al. 1999), muss auf eine sorgfältige Trennung der beiden Lösungen geachtet werden.

In der vorliegenden Untersuchung konnte sowohl bei optischer Betrachtung als auch anhand der ermittelten Restproteinkontamination das beste Reinigungsergebnis für die physiologische Kochsalzlösung ermittelt werden. Die nachfolgenden Bilder (Abb. 20, entnommen aus 7.2.7) zeigen noch einmal die Restkontaminationen für die physiologische Kochsalzlösung und das Isopropanol im direkten Vergleich.



Abb. 20: Restkontamination an Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 in 1 %iger SDS-Lösung nach 5 min Lagerung in physiologischer Kochsalzlösung 0,9 % (links) und in Isopropanol 70 % (rechts)

Bei den Hedström-Feilen, die in physiologischer Kochsalzlösung gelagert wurden, konnten bei genauer Betrachtung nur noch geringe Mengen der Testanschmutzung nachgewiesen werden, was bedeutet, dass die physiologische Kochsalzlösung keine fixierende Eigenschaft aufweist. Es sollte jedoch mit den Herstellern von Wurzelkanalinstrumenten geklärt werden, ob die kurzzeitige Lagerung der Instrumente in einer Kochsalzlösung korrosive Veränderungen an den Instrumenten nach sich zieht. Isopropanol fixierte fast die gesamte Testanschmutzung an den Hedström-Feilen und ist daher für eine Befüllung des Interim-Standes nicht geeignet.

Die in dieser Untersuchung verwendeten Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 wurden exemplarisch gewählt, da sich die Testanschmutzung suffizient applizieren ließ. Abschließend stellt sich die Frage, ob die Ergebnisse dieser Untersuchung auch auf Hedström-Feilen kleinerer ISO-Größen übertragbar sind. In der Literatur finden sich häufig keine Hinweise auf die ISO-Größen der untersuchten Instrumente (Smith et al. 2002, Letters et al. 2005). In einigen Fällen wurden Instrumente von nur einer ISO-Größe verwendet (Ferreira Murgel et al. 1990, Parirokh et al. 2005). Auch wenn Angaben zu unterschiedlichen ISO-Größen gemacht wurden, fand jedoch keine Unterscheidung hinsichtlich der verschiedenen ISO-Größen und ihrer Restkontamination statt (Aasim et al. 2006). Einzig van Eldik et al. (2004) untersuchten drei verschiedene Reinigungsmethoden (Thermodesinfektor, Ultraschallbad mit und ohne Behälter) an drei Hedström-Feilen unterschiedlicher ISO-Größen (15, 25 und 35). Eine Instrumenten-Gruppe wurde nicht gereinigt. Die Anschmutzung der Hedström-Feilen erfolgte durch das Bearbeiten von humanen Zähnen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass bei effizienten Reinigungsmethoden (Thermodesinfektor, Ultraschallbad ohne Behälter) kein Unterschied im Verschmutzungsgrad hinsichtlich der

verschiedenen ISO-Größen gefunden werden konnte. Erfolgte jedoch eine Säuberung im Ultraschallbad mit Behälter oder gar keine Reinigung, so konnte ein signifikanter Unterschied im Verschmutzungsgrad zwischen kleinen und größeren Hedström-Feilen festgestellt werden. Die größeren Hedström-Feilen wiesen demnach einen größeren Verschmutzungsgrad auf als die kleineren. Die Erklärung liegt vermutlich im größeren Schneidekantenwinkel der größeren ISO-Größen. Dadurch können größere Feilen mehr Verschmutzung/Testanschmutzung aufnehmen als kleinere ISO-Größen. Demnach ist die Restkontamination bei größeren ISO-Größen und gleichzeitig schlechterer Reinigungsmethode höher als bei kleineren ISO-Größen, die auf dieselbe Weise gereinigt wurden.

Die Reinigungsmethode und die Testanschmutzung in dieser Untersuchung sind nicht mit der Untersuchung von van Eldik et al. vergleichbar. Plausibel erscheint, dass ein größerer Schneidekantenwinkel in der Lage ist, mehr Testanschmutzung (unabhängig welcher Art) aufzunehmen. Bei der in dieser Untersuchung verwendeten Reinigungsmethode könnte es daher durchaus möglich sein, dass bei einer geringeren Schichtstärke der Testanschmutzung auf Hedström-Feilen kleinerer ISO-Größen der befüllte Interim-Stand einen besseren Reinigungseffekt hat und die Restkontamination dadurch geringer ist. Vermutlich wären aber auch Hedström-Feilen kleinerer ISO-Größen nach der Bearbeitung in einem befüllten Interim-Stand aufgrund der komplexen Feilen-Geometrie nicht vollständig dekontaminiert. Letztlich können die Ergebnisse dieser Untersuchung keine eindeutige Aussage im Hinblick auf die Übertragbarkeit auf kleinere ISO-Größen zulassen, da Hedström-Feilen kleinerer ISO-Größen nicht Bestandteil der Untersuchung mit den befüllten Interim-Ständen waren.

Die in der Zielstellung (siehe 3.7, S. 19) formulierten Fragen lassen sich damit wie folgt beantworten:

1. Mit Hilfe von Eppendorf-Pipetten konnte eine definierte Menge der Testanschmutzung reproduzierbar auf Prüfkörper aufgebracht werden.
2. Reinigungslösungen, welche für die Befüllung eines Interim-Standes in Frage kommen, dürfen keine fixierenden Eigenschaften besitzen. Daher dürfen Alkohol, Natriumhypochlorit sowie Chlorhexidindigluconat nicht verwendet werden. Reinigungslösungen, wie z. B. die physiologische Kochsalzlösung, die keine fixierenden Eigenschaften besitzen, sind für eine Befüllung des Interim-Standes geeignet. Sie bewirken eine effiziente Vorreinigung der Instrumente.

3. Die unterschiedlichen Bearbeitungsweisen der Instrumente in einem befüllten Interim-Stand haben einen Einfluss auf die Reinigungsleistung und somit auch auf die Sauberkeit der Instrumente, wenn die im Interim-Stand enthaltene Reinigungslösung keine fixierende Eigenschaft besitzt. Die Restkontamination an den Instrumenten war umso geringer, je öfter die Instrumente durch die Schaumstoffscheibe gestochen wurden und je länger die Verweildauer der Instrumente im befüllten Interim-Stand war.

9. Schlussfolgerung

In der zahnärztlichen Praxis ist die Verwendung eines Interim-Standes während der Wurzelkanalbehandlung äußerst praktikabel. Er dient hierbei der Zwischenablage der Wurzelkanalinstrumente, wenn diese vorübergehend nicht benötigt werden. Die Instrumente können dadurch schnell und sicher wieder gegriffen werden, was das Verletzungsrisiko minimiert. Durch die Befüllung des Interim-Standes erfolgt zusätzlich zu der mechanischen Reinigung durch die Schaumstoffscheibe auch eine chemische Reinigung der Instrumente, wenn der Interim-Stand mit einer entsprechenden Reinigungslösung befüllt wird. Alkohol darf hierfür nicht verwendet werden. Auch schwach wirksame Desinfektionslösungen wie Chlorhexidindigluconat oder Natriumhypochlorit dürfen nicht für die Befüllung verwendet werden. Kostengünstig und für die Befüllung am besten geeignet ist sterile, physiologische Kochsalzlösung. Da Kochsalzlösung jedoch eine korrosive Aktivität besitzt, sollte mit den Herstellern geklärt werden, ob die kurzzeitige Lagerung der Instrumente in physiologischer Kochsalzlösung Materialveränderungen nach sich zieht. Beim Bearbeiten der Wurzelkanalwände wird Material (Debris) entfernt, welches dann an den Instrumenten haftet. Würde dieses nicht von den Instrumenten z. B. mit Hilfe eines befüllten Interim-Standes entfernt werden, so würde man es wieder in den Kanal einbringen, was einer Rekontamination des Wurzelkanalsystems gleichkommt. Die Chairside-Reinigung von Wurzelkanalinstrumenten bewirkt, dass diese weniger Restkontaminationen aufweisen und damit der Erfolg der Wurzelkanalbehandlung gesteigert werden kann.

In der vorliegenden Untersuchung konnte auch gezeigt werden, dass Wurzelkanalinstrumente mit Hilfe eines befüllten Interim-Standes und den angewandten Methoden nicht vollständig dekontaminiert werden konnten. In der Literatur (siehe 8.1.5) finden sich ebenfalls zahlreiche Belege dafür, dass Wurzelkanalinstrumente trotz eines teilweise immensen Arbeitsaufwandes nicht vollständig dekontaminiert werden konnten. Die Konsequenz sollte sein, dass Wurzelkanalinstrumente nicht wiederaufbereitet, sondern wie es in einigen europäischen Ländern bereits Pflicht ist, als Einmalinstrumente verwendet werden.

10. Literaturverzeichnis

- Aasim S A, Mellor A C, Qualtrough A J: The effect of pre-soaking and time in the ultrasonic cleaner on the cleanliness of sterilized endodontic files. *Int Endod J* 39:143-149 (2006)
- Addy M, Willis L, Moran J: Effect of toothpaste rinses compared with chlorhexidine on plaque formation during a 4-day period. *J Clin Periodontol* 10:89-99 (1983)
- Babb J R: Reinigungs- und Desinfektionsverfahren. *Zentr Steril* 1:227-237 (1993)
- Banovic F, Bozic F, Lemo N: In vitro comparison of the effectiveness of polihexanide and chlorhexidine against canine isolates of *Staphylococcus pseudointermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. *Vet Dermatol* 24:409-413 (2013)
- Basrani B R, Manek S, Sodhi R N, Fillery E, Manzur A: Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 33:966-969 (2007)
- Blanquet-Grossard F, Szadovitch V, Jean A, Deslys J P, Dormont D, Hauw J J, Marion D, Brown P, Cesbron J Y: Prion protein is not detectable in dental pulp from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Dent Res* 79:700 (2000)
- Bloomfield S F, Arthur M: Interaction of *Bacillus subtilis* spores with sodium hypochlorite, sodium dichloroisocyanurate and chloramine-T. *J Appl Bacteriol* 72:166-172 (1992)
- Bruce M E, McConnell I, Will R G, Ironside J W: Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 358:208-209 (2001)
- Burkhart N W, Crawford J: Critical steps in instrument cleaning: removing debris after sonication. *J Am Dent Assoc* 128:456-463 (1997)
- Burkhardt-Holm P, Oulmi Y, Schroeder A, Storch V, Braunbeck T: Toxicity of 4-chloroaniline in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*): II. Cytopathology and regeneration of liver and gills after prolonged exposure to waterborne 4-chloroaniline. *Arch Environ Contam Toxicol* 37:85-102 (1999)
- Chaufour X, Deva A K, Vickery K, Zou J, Kumaradeva P, White G H, Cossart Y E: Evaluation of disinfection and sterilization of reusable angioscopes with the duck hepatitis B model. *J Vasc Surg* 30:277-282 (1999)
- Chhabra R S, Huff J E, Haseman J K, Elwell M R, Peters A C: Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 29:119-124 (1991)

- Davies A, Bentley M, Field B S: Comparison of the action of vantocil, cetrimide and chlorhexidine on Escherichia coli and its spheroplasts and the protoplasts of gram positive bacteria. J Appl Bacteriol 31:448-461 (1968)
- Davies A, Field B S: Action of biguanides, phenols and detergents on Escherichia coli and its sphereoplasts. J Appl Bacteriol 32:223-243 (1969)
- De Bruijn A C P, Orzechowski T J H, Wassenaar C: Validierung des Ninhydrin-Wischtests zum Überprüfen des Reinigungserfolgs bei medizinischen Instrumenten. Zentr Steril 9:235-247 (2001)
- De Bruijn A C P , van Drongelen A W: EN ISO 15883: Norm prima, Testanschmutzung eher nicht. Zentr Steril 13:330-333 (2005)
- Deutsches Arzneibuch: Sammlung anerkannter pharmazeutischer Regeln über die Qualität, Prüfung, Lagerung, Abgabe und Bezeichnung von Arzneimitteln und den bei ihrer Herstellung verwendeten Stoffen. Herausgegeben vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI) und dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart (2012)
- DGHM Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie: Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren. mhp-Verlag, Wiesbaden (2002)
- DIN EN ISO 15883-1: Reinigungs- und Desinfektionsgeräte - Teil 1: Allgemeine Anforderungen, Begriffe und Prüfverfahren (ISO 15883-1:2006); Deutsche Fassung EN 15883-1:2009. Beuth Verlag, Berlin
- DIN ISO/TS 15883-5: Reinigungs-Desinfektionsgeräte - Teil 5: Prüfanschmutzungen und -verfahren zum Nachweis der Reinigungswirkung (ISO/TS 15883-5:2005); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 15883-5:2005. Beuth Verlag, Berlin
- DIN EN ISO 17664: Sterilisation von Medizinprodukten - Vom Hersteller bereitzustellende Informationen für die Aufbereitung von resterilisierbaren Medizinprodukten (ISO 17664:2004); Deutsche Fassung EN ISO 17664:2004. Beuth Verlag, Berlin
- DIN NA 063 Normenausschuss Medizin (NAMed): NA 063-04 FB Fachbereich Sterilisation, Desinfektion, Sterilgutversorgung; Untergremium 063-04-09: Reinigungs- und Desinfektionsgeräte (2005)
- EG-Sicherheitsdatenblatt und Fachinformation CHX-Endo 2 %, Firma Lege artis (2013)
- E-Mail der Firma Lege artis vom 02.04.2009 (siehe 11.3)
- E-Mail der Firma VDW vom 20.01.2014 (siehe 11.2)

- Engström B: The significance of Enterococci in root canal treatment. *Odontol Revy* 15:87-106 (1964)
- Fengler T W, Pahlke H, Roth K, Michels W: Was ist sauber, was ist rein? *Forum S.* 10-19 (2003)
- Ferreira Murgel C A, Walton R E, Rittman B, Pécora J D: A comparison of techniques for cleaning endodontic files after usage: a quantitative scanning electron microscopic study. *J Endod* 16:214-217 (1990)
- Frister H: Quantitatives Protein-Monitoring mit der modifizierten OPA-Methode am Eluat - Validierung des Verfahrens. *Forum S.* 20 (2000)
- Frister H, Meisel H, Schlimme E: OPA method modified by use of N,N-dimethyl-2-mercaptoethylammonium chloride as thiol component. *Fresenius Z Anal Chem* 330:631-633 (1988)
- Frister H, Meisel H, Schlimme E: Einsatzmöglichkeiten der modifizierten OPA-Methode in der Proteinanalytik. *Ernährungs-Umschau* 37:442-445 (1990)
- Frister H, Michels W: Vergleichende Bewertung und Optimierung der Reinigungsleistung maschineller Dekontaminationsverfahren. *Hyg Med* 19:673-688 (1994)
- Früh B, Pfeifer M: Effiziente Überprüfung der Reinigungswirkung in Reinigungs- und Desinfektionsgeräten (RDG) im Routinebetrieb. *Zentr Steril* 11:41-52 (2002)
- Früh R, Pfeifer M: Vergleich der TOSI[®]-Testanschmutzung mit Humanblut. *ZSV-Spiegel* Ausgabe 01/02 (2002)
- Glick M, Trope M, Bagasra O, Pliskin M E: Human immunodeficiency virus infection of fibroblasts of dental pulp in seropositive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71:733-736 (1991)
- Gomes B P, Ferraz C C, Vianna M E, Berber V B, Teixeira F B, Souza-Filho F J: In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 34:424-428 (2001)
- Grossman L I: *Endodontic Practice.* 8:199-200, Lea & Febiger, Philadelphia (1974)
- Haapasalo M, Ranta H, Ranta K T: Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. *Acta Odontol Scand* 41:19-22 (1983)
- Head M W, Ritchie D, McLoughlin V, Ironside J W: Investigation of PrPres in dental tissues in variant CJD. *Br Dent J* 195:339-343 (2003)
- Head M W, Ritchie D, Smith N, McLoughlin V, Nailon W, Samad S, Masson S, Bishop M, McCardle L, Ironside J W: Peripheral tissue involvement in sporadic, iatrogenic, and variant

- Creutzfeldt-Jakob disease: an immunohistochemical, quantitative, and biochemical study. *Am J Pathol* 164:143-153 (2004)
- Heeg P, Roth K, Reichl R, Cogdill C P, Bond W W: Decontaminated single-use devices: an oxymoron that may be placing patients at risk for cross-contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 22:542-549 (2001)
- Heeg P, Setz J: *Praxishygiene - Probleme und Lösungen*. Thieme Verlag, Stuttgart (1994)
- Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D: Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *J Endod* 27:278-280 (2001)
- Hellwig E, Klimek J, Attin T: *Einführung in die Zahnerhaltung* (3. Auflage), Urban & Fischer Verlag, München (2003)
- Herzog C, Rivière J, Lescoutra-Etcheagaray N, Charbonnier A, Leblanc V, Salès N, Deslys J P, Lasmézas C I: PrPTSE distribution in a primate model of variant, sporadic, and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Virol* 79:14339-14345 (2005)
- Hilger R: *Arbeitssystematik und Infektionsprävention in der Zahnmedizin - Praxisgestaltung, Teamarbeit und Hygiene*. Quintessenz, Berlin (2007)
- Hubbard T M Jr, Smyth R N, Pelleu G B Jr, Tenca J I: Chairside decontamination of endodontic files. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 40:148-152 (1975)
- Ingle J I: *Endodontics*. p. 188, Lea & Febiger, Philadelphia (1965)
- Ingrosso L, Pisani F, Pocchiari M: Transmission of the 263K scrapie strain by the dental route. *J Gen Virol* 80:3043-3047 (1999)
- Ironside J W, McCardle L, Horsburgh A, Lim Z, Head M W: Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *APMIS* 110:79-87 (2002)
- Koller W: Vergleich verschiedener Reinigungs- und Desinfektionsverfahren an automatischen Steckbeckenreinigern. *Hyg Med* 22:126 (1997)
- Kramer A: Mitteilung der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene DGHK. *Hyg Med* 20:52-53 (1995)
- Kramer A, Adrian V, Adam C: Vergleich der Toxizität von Lavasept® und ausgewählten Antiseptika. *Hyg Med* 18:9-16 (1993)
- KRINKO: *Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene: Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 49: 375-394 Springer Verlag, München (2006)

- KRINKO, BfArM: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM): Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 55:1244-1310 Springer Verlag, München (2012)
- Köhnlein J, Glasmacher R, Heide V, Kunde D, Mohr M, Otto D, Roth K, Staffeldt J, Tiarks P, Wagenknecht S, Werner H-P, Michels W: Ringversuch zur Standardisierung einer praxisrelevanten Prüfanschmutzung zur vergleichenden quantitativen Bewertung der Reinigung in Anlehnung an DIN EN ISO 15883. Zentr Steril 16:424-435 (2008)
- Köhnlein J, Schmidt V, Staffeldt J, Werner H-P: Analyse unterschiedlicher Prüfanschmutzungen zum Nachweis der Reinigungsleistung. Hyg Med 29:13-19 (2004)
- Krüger S: Überprüfung der Reinigungswirkung in Dekontaminationsanlagen (Teil 2). Zentr Steril 7:180-188 (1999)
- Kutter D: Schnelltests in der klinischen Diagnostik. Urban und Schwarzenberg Verlag, München (1976)
- Leitlinie von DGKH, DGSV und AKI zur Validierung der manuellen Reinigung und manuellen chemischen Desinfektion von Medizinprodukten. mhp-Verlag, Wiesbaden (2013)
- Letters S, Smith A J, McHugh S, Bagg J: A study of visual and blood contamination on reprocessed endodontic files from general dental practice. Br Dent J 199:522-525 (2005)
- Levy G: Étude comparative des possibilités de nettoyage extemporané des limes d'Hedstroëm au cours de la préparation canalaire. Actual Odontostomatol 40:761-769 (1986)
- Linsuwanont P, Parashos P, Messer H H: Cleaning of rotary nickel-titanium endodontic instruments. Int Endod J 37:19-28 (2004)
- Martiny H: Reinigung, Desinfektion und Sterilisation. Zahnarzt, Wirtschaft, Praxis 4:76-79 (2000)
- McCormick P J, Kaiser J J, Schoene M J, Shlitz D L, Norton S E: A designed experiment for evaluation of the OPA method for cleaning studies of medical devices. Biomed Instrum Technol 41:324-331 (2007)
- Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV): Verordnung über das Errichten, Betreiben und Anwenden von Medizinprodukten. BGBl I 61:3397-3404 (2002)
- Medizinproduktegesetz (MPG): Gesetz über Medizinprodukte. BGBl I 58:3147-3164 (2002)
- Michels W: Welche Prüfmöglichkeiten der Reinigung sind in der klinischen Praxis möglich? Forum 99 Instrumenten-Aufbereitung S. 19, mhp-Verlag, Wiesbaden (1999)

- Michels W: Blutdenaturierung durch Temperatur und deren Einfluss auf die Reinigung maschineller Aufbereitungsverfahren. *Krh.-Hyg. und Inf.verh.* 22:115-117 (2000)
- Michels W: Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis - Teil 1. *Aseptica* 11(2):19-21 (2005)
- Michels W: Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis - Teil 2. *Aseptica* 11(3):17-18 (2005)
- Michels W: Detektionsmethoden der prEN ISO 15883 für die Reinigungsprüfung in der Praxis - Teil 3. *Aseptica* 11(4):18-19 (2005)
- Michels W, Frister H: Die modifizierte OPA-Methode mit alternativer Thiolkomponente. *Zentr Steril* 12:115-116 (2004)
- Michels W, Frister H, Pahlke H, Fery R: Überprüfung der Reinigung minimalinvasiver Instrumente nach maschineller Dekontamination. *Hyg Med* 21:324-330 (1996)
- Michels W, Schulz-Fincke D: Kontamination und Aufbereitung zahnärztlicher Übertragungsinstrumente sowie rotierender Instrumente. *Aseptica* 15:3-6 (2009)
- Naenni N, Thoma K, Zehnder M: Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod* 30:785-787 (2004)
- Nakata S, Fushimi R, Hanamura R, Noguchi S, Umeshita K, Takashina M, Kawamoto T: Vordesinfektion von Instrumenten erschwert eine wirksame Reinigung. *Zentr Steril* 15:438-448 (2007)
- Ojajärvi J: Grundlagen der Dekontamination. *Zentr Steril* 1:277-282 (1993)
- Palacios-Sánchez B, Esparza-Gómez G C, Campo-Trapero J, Cerero-Lapiedra R: Implications of prion diseases for dentistry: an update. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 105:316-320 (2008)
- Parashos P, Linsuwanont P, Messer H H: A cleaning protocol for rotary nickel-titanium endodontic instruments. *Aust Dent J* 49:20-27 (2004)
- Parirokh M, Asgary S, Eghbal M J: An energy-dispersive X-ray analysis and SEM study of debris remaining on endodontic instruments after ultrasonic cleaning and autoclave sterilization. *Aust Endod J* 31:53-58 (2005)
- Pfeifer M: Standardisierte Testanschmutzung zur Überprüfung der Reinigungswirkung von Desinfektionsspülmaschinen. *Zentr Steril* 4:292-295 (1996)
- Pfeifer M: Blut als Anschmutzung chirurgischer Instrumente - Chemisches Verhalten, Reinigung, Nachweis. *Zentr Steril* 6:304-310 (1998)
- Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M: Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against

- Enterococcus faecalis by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod* 28:634-637 (2002)
- Pressemitteilung "Endo gut - Alles gut!" Firma Lege artis (2009)
- Prior F, Fernie K, Renfrew A, Heneaghan G: Alcoholic fixation of blood to surgical instruments - a possible factor in the surgical transmission of CJD? *J Hosp Infect* 58:78-80 (2004)
- Pschyrembel: Klinisches Wörterbuch (158. Auflage). De Gruyter Verlag, Berlin (1998)
- Radimersky L: Thermische Reinigung zahnärztlicher Hand- und Winkelstücke in einem Reinigungs- und Desinfektionsgerät. Dissertation Charité - Universitätsmedizin Berlin (2012)
- Rölla G, Melsen B: On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J Dent Res* 54:57-62 (1975)
- Rölla G, Loe H, Schiott C R: The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontol Res* 5:90-95 (1970)
- Rosenberg U: Bestimmung der Leistung maschineller Reiniger für die Instrumentenaufbereitung. *Zentr Steril* 9:413-424 (2001)
- Rosin M, Welk A, Bernhardt O, Ruhnau M, Pitten F A, Kocher T, Kramer A: Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol* 28:1121-1126 (2001)
- Sanchez E, Macdonald G: Decontaminating dental instruments: testing the effectiveness of selected methods. *J Am Dent Assoc* 126:359-62 (1995)
- Schneider K, Korkmaz Y, Addicks K, Lang H, Raab W H: Prion protein (PrP) in human teeth: an unprecedented pointer to PrP's function. *J Endod* 33:110-113 (2007)
- Schönherr P: Die Reinigung von zahnärztlichen Winkelstücken - geprüft mit der modifizierten OPA-Methode in zwei Reinigungs- und Desinfektionsgeräten. Dissertation Charité - Universitätsmedizin Berlin (2005)
- Segall R O, del Rio C E, Brady J M, Ayer W A: Evaluation of débridement techniques for endodontic instruments. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 44:786-791 (1977)
- Sicherheitsdatenblatt Dodecylsulfate Na-Salt, Firma Serva Heidelberg (2011)
- Sicherheitsdatenblatt Natriumhypochlorit-Lösung 1 %, Firma Hedinger Stuttgart (2013)
- Simons S S Jr, Johnson D F: Ethanethiol: a thiol conveying improved properties to the fluorescent product of o-phtalaldehyde and thiols with amines. *Anal Biochem* 82:250-254 (1977)

- Siqueira J, Rôças I N, Favieri A, Lima K C: Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1 %, 2,5 %, and 5,25 % sodium hypochlorite. *J Endod* 26:331-334 (2000)
- Siqueira J F, Sen B H: Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97:632-641 (2004)
- Smith A, Dickson M, Aitken J, Bagg J: Contaminated dental instruments. *J Hosp Infect* 51:233-235 (2002)
- Smith A, Letters S, Lange A, Perrett D, McHugh S, Bagg J: Residual protein levels on reprocessed dental instruments. *J Hosp Infect* 61:237-241 (2005)
- Smith A J, Martin M V: Managing patients with TSE's. *Br Dent J* 189:62 (2000)
- Sommer R F, Ostrander F D, Crowley M C: *Clinical Endodontics*, pp. 73-74, W. B. Saunders Company, Philadelphia (1966)
- Sonntag D, Peters O A: Effect of prion decontamination protocols on nickel-titanium rotary surfaces. *J Endod* 33:442-446 (2007)
- Spicher G, Peters J: Eine Methode zur Kontamination von Testobjekten mit gerinnendem Blut. *Zbl Bakt Hyg B* 182:89-94 (1985)
- Sundqvist G: Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 78:522-530 (1994)
- Task Force vCJK, Abschlussbericht der Task Force vCJK: Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) Epidemiologie, Erkennung, Diagnostik und Prävention unter besonderer Berücksichtigung der Risikominimierung einer iatrogenen Übertragung durch Medizinprodukte, insbesondere chirurgische Instrumente. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 45:376-394 (2002)
- Vadrot C, Branchu B, Vermillard V, Sinègre M, Darbord J C: Einfluss von chemischen Desinfektionsmitteln auf die Fixierung von Nervengewebe an wiederverwendbaren Medizinprodukten. *Zentr Steril* 14:22-29 (2006)
- VAH Verbund für angewandte Hygiene: Liste der von der Desinfektionsmittel - Kommission im Verbund für angewandte Hygiene (VAH) e. V. in Zusammenarbeit mit den Fachgesellschaften bzw. Berufsverbänden DGHM, DGKH, GHUP und BVÖGD auf der Basis der Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren geprüften und als wirksam befundenen Verfahren für die prophylaktische Desinfektion und die hygienische Händewaschung (Internetfassung Stand 1. Januar 2014)

- Van Eldik D A, Zilm P S, Rogers A H, Marin P D: A SEM evaluation of debris removal from endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. *Aust Dent J* 49:128-135 (2004)
- Vickery K, Pajkos A, Cossart Y: Evaluation of the effectiveness of decontamination of dental syringes. *Br Dent J* 189: 620-624 (2000)
- Walker J T, Dickinson J, Sutton J M, Raven N D, Marsh P D: Cleanability of dental instruments - implications of residual protein and risks from Creutzfeldt-Jakob disease. *Br Dent J* 203:395-401 (2007)
- Waltimo T M, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J: Clinical aspects related to endodontics yeast infections. *Endodontic Topics* 9:66-78 (2004)
- Waltimo T M, Sirén E K, Torkko H L, Olson I, Haapasalo M P: Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J* 30:96-101 (1997)
- Waltimo T M, Orstavik D, Sirén E K, Haapasalo M P: In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J* 32:421-429 (1999)
- White R R, Hays G L, Janer L R: Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod* 23:229-231 (1997)
- Whitworth C L, Davies K, Palmer N O: Can protein contamination be removed from hand endodontic instruments? *Prim Dent Care* 16:7-12 (2009)
- World Health Organization: Communicable Disease Surveillance and Control. Infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies (2000)
<http://www.who.int/csr/resources/publications/bse/whocdscsrph2003.pdf>
Stand: 23.03.2010

11. Anhang

11.1 Anschreiben und Fragebogen der anonymen Befragung



CharitéCentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Campus Benjamin Franklin, CharitéCentrum 3 für ZMK
Aßmannshäuser Str. 4-6, 14197 Berlin

Zahnarztpraxis

Anrede, Titel

Vorname, Nachname

Straße

PLZ, Ort

Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Abteilung für Zahnärztliche Prothetik, Alterszahnmedizin
und Funktionslehre
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang B. Freesmeyer

Tel. 030/450 562702
Fax 030/450 562912
prothetik@charite.de
www.charite.de/zahnklinik/prothetik

Berlin, 01.04.2008

Anonyme Befragung zur Vorgehensweise bei der Wurzelbehandlung

Sehr geehrte Damen und Herren,

im Rahmen unserer Promotionsarbeit führen wir eine anonyme Befragung durch, die sich auf die Vorgehensweise bei der Wurzelkanalbehandlung bezieht.



In den studentischen Kursen der Universitäten wird während der Wurzelkanalbehandlung ein sogenannter Interim-Stand (siehe Abbildung) zur Zwischenablage der Wurzelkanalinstrumente verwendet. Dieser wird in der Regel, zur Reinigung und Desinfektion der Wurzelkanalinstrumente, mit einer Lösung befüllt. Unsere Studie befasst sich mit der Fragestellung, ob in den Praxen ein solcher Interim-Stand während der Wurzelkanalbehandlung verwendet wird und wenn ja, mit welcher Lösung dieser befüllt wird.

Darüber hinaus würden wir Sie bitten, uns die von Ihnen verwendeten Spüllösungen, die Sie zur Desinfektion des Wurzelkanalsystems verwenden, zu nennen.

Wir bitten Sie daher den nachfolgenden Fragebogen anonym zu beantworten und diesen mit dem beiliegenden frankierten Rückumschlag an uns zurück zu senden.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit.

C. Gerner
Zahnärztin

S. Dietrich
Zahnärztin

Fragebogen	Ja	Nein
1. Verwenden Sie in Ihrer Praxis einen Interim-Stand Während der Wurzelkanalbehandlung?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wenn ja, wird dieser befüllt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Welche Lösung verwenden Sie zu dessen Befüllung?		
Alkohol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Chlorhexidin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Natriumhypochlorit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wasserstoffperoxid	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Flächendesinfektionsmittel	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bohrerbad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Sonstiges (z. Bsp. Kochsalzlösung etc.)

3. Welche Lösung verwenden Sie als Desinfektionslösung für das Wurzelkanalsystem?

Chlorhexidin

Natriumhypochlorit

Wasserstoffperoxid

Sonstiges (z. Bsp. Kochsalzlösung etc.)

11.2 E-Mail der Firma VDW (20.01.2014)

Gesendet: Montag, 20. Januar 2014 09:03

Betreff: AW: Ihre Anfrage bzgl. VDW Interim-Stand

Sehr geehrte Frau Gerner,

vielen Dank für Ihre freundliche Anfrage und das damit verbundene Interesse an unseren Produkten.

CHX, Alkohol und NaClO sind die bevorzugten Desinfektionsmittel für den Interim-Stand.

Zur Unterstützung bei künftigen Bestellungen gebe ich Ihnen gerne einen Link zum Download unseres aktuellen Kataloges:

<http://www.vdw-dental.com/service/infomaterial/kataloge-und-broschueren.html>

Bei aufkommenden Fragen stehe ich Ihnen gerne weiterhin zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen



VDW GmbH, Munich, Germany

Tel +49 (089) 627 34 – 207 | Fax +49 (089) 627 34 – 274

NEU: unser Customer Care-Team berät Sie gern unter der Service-Rufnummer für

Deutschland: 0800-839 33 68 (kostenfrei aus dem deutschen Festnetz)

Von: VDW Kontaktformular [<mailto:noreply@vdw-dental.com>]

Gesendet: Sonntag, 19. Januar 2014 13:58

An: MunichDEU-VDW-info-1

Betreff: [VDW-DENTAL] Neue Kontaktanfrage

Anrede Frau
Vorname Carolin
Nachname Gerner
Firma Zahnarztpraxis Gerner & Noetzel
E-Mail info@gernernoetzel.de
Rückrufnummer
Nachricht Sehr geehrte Damen und Herren,

welche Flüssigkeit empfehlen Sie für die Befüllung des Interim-Standes während der Wurzelkanalbehandlung?

Mit freundlichen Grüßen

C. Gerner

11.3 E-Mail von der Firma Lege artis (02.04.2009)

Von: [REDACTED]
An: Carolin Gerner Caro.Gerner@gmx.de
Kopie:
Betreff: AW: ihre Anfrage zu CHX-Endo 2 %
Datum: 02.04.2009 14:46:24

-----Ursprüngliche Nachricht-----

Von: Carolin Gerner [<mailto:Caro.Gerner@gmx.de>]
Gesendet: Donnerstag, 2. April 2009 10:38
An: [REDACTED]
Betreff: Re: ihe Anfrage zu CHX-Endo 2 %

Sehr geehrter Herr [REDACTED], Sehr geehrte Frau Gerner,

die Apotheke der Charité stellt uns das 0,2 %ige CHX her und das auch komplett ohne Zusatzstoffe und alkoholfrei. Ist sicher besser geeignet als eine Mundspüllösung, aber in vielen Fällen noch zu niedrig konzentriert für die Endo-Problemkeime. Falls Sie noch eine Flasche 2 %iges CHX entbehren könnten, würde ich Ihr Angebot gerne annehmen. Das haben wir nicht standardmässig, würden Ihnen aber zu Vergleichszwecken (mit/ohne Tensid) auch zur Verfügung stellen. Der Unterschied liegt dann zwischen diesen beiden nur in den Tensiden? Ja. Und können Sie mir sagen, was das für Tenside sind? Es handelt sich bei CHX-Endo um kationische und nichtionische Tenside in einer Konzentration unter 10 %. Müssen Einwirkzeiten eingehalten werden? CHX-Endo 2 % ist gedacht für die Reinigung und Keimzahlverminderung während der Behandlung, deshalb ist hier keine Mindesteinwirkzeit vorgeschrieben.

11.4 Tabellenanhang

Tab. 20: Einzelwerte der Extinktionsmessungen von Edelstahlplättchen und 10 µl Testanschmutzung, n. n. = Wert lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003 (n = 6)

Proben Isopropanol	Extinktion	Eigenextinktion
1	0,041	0,003
2	0,045	0,003
3	0,042	n. n.
4	0,048	0,003
5	0,047	0,003
6	0,043	0,003

Tab. 21: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen von Edelstahlplättchen und 50 µl Testanschmutzung. Die Messung der Eigenextinktion erfolgte exemplarisch anhand der Proben 1, 4, 7 und 10, n. n. = Wert lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003 (n = 60)

Probe	Extinktion					Eigenextinktion				
	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung
1	0,213	0,065	0,140	0,045	0,014	0,049	0,017	0,021	n. n.	n. n.
2	0,210	0,062	0,130	0,036	0,024					
3	0,213	0,048	0,083	0,051	0,025					
4	0,223	0,081	0,096	0,042	0,034	0,054	0,019	0,011	n. n.	n. n.
5	0,218	0,076	0,086	0,048	0,030					
6	0,257	0,084	0,044	0,052	0,047					
7	0,095	0,056	0,172	0,055	0,057	0,056	0,028	0,040	0,011	0,011
8	0,128	0,040	0,099	0,061	0,052					
9	0,091	0,051	0,108	0,070	0,070					
10	0,175	0,051	0,102	0,065	0,059	0,057	0,018	0,024	0,013	0,012
11	0,313	0,045	0,096	0,047	0,079					
12	0,152	0,058	0,120	0,035	0,078					

Tab. 22: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen von Edelstahlplättchen und 50 µl Testanschmutzung, nachdem die Edelstahlplättchen aus den Reagenzgläsern entfernt wurden. Die Eigenextinktion wurde exemplarisch anhand der Proben 1 und 4 ermittelt (n = 90)

Probe	Extinktion					Eigenextinktion				
	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung
1	0,190	0,067	0,192	0,044	0,065	0,036	0,010	0,040	0,008	0,012
2	0,180	0,067	0,152	0,036	0,046					
3	0,195	0,078	0,132	0,051	0,033					
4	0,182	0,072	0,127	0,056	0,070	0,034	0,014	0,027	0,011	0,014
5	0,170	0,077	0,077	0,051	0,038					
6	0,232	0,087	0,060	0,057	0,047					
7	0,155	0,042	0,078	0,037	0,026					
8	0,173	0,046	0,088	0,016	0,019					
9	0,173	0,042	0,080	0,030	0,032					
10	0,151	0,044	0,070	0,029	0,024					
11	0,175	0,043	0,091	0,020	0,022					
12	0,159	0,048	0,080	0,029	0,015					
13	0,180	0,053	0,091	0,071	0,048					
14	0,199	0,063	0,091	0,065	0,047					
15	0,231	0,056	0,117	0,059	0,056					
16	0,208	0,058	0,075	0,045	0,048					
17	0,229	0,069	0,080	0,045	0,057					
18	0,206	0,052	0,082	0,047	0,038					

Tab. 23: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen der Testlösungen A,

n. n. = Wert lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003 (n = 90)

Probe	Extinktion					Eigenextinktion				
	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Chlor- hexidin	Poly- hexanid	Kochsalz- lösung
1	n. n.	0,027	0,166	0,241	0,226	n. n.	0,721	0,031	0,023	0,039
2	n. n.	0,017	0,152	0,336	0,209	n. n.	0,734	0,027	0,040	0,040
3	n. n.	0,020	0,164	0,332	0,180	n. n.	0,736	0,029	0,038	0,036
4	n. n.	0,022	0,126	0,309	0,185	n. n.	0,725	0,032	0,035	0,036
5	n. n.	0,020	0,138	0,311	0,169	n. n.	0,728	0,026	0,034	0,040
6	n. n.	0,024	0,158	0,311	0,213	n. n.	0,736	0,033	0,034	0,038
7	n. n.	0,015	0,180	0,280	0,215	n. n.	0,764	0,050	0,037	0,050
8	n. n.	0,025	0,160	0,309	0,211	n. n.	0,755	0,041	0,046	0,049
9	n. n.	0,023	0,159	0,311	0,211	n. n.	0,766	0,039	0,046	0,049
10	n. n.	0,020	0,212	0,312	0,217	n. n.	0,767	0,053	0,048	0,051
11	n. n.	0,019	0,171	0,313	0,210	n. n.	0,761	0,042	0,046	0,048
12	n. n.	0,023	0,193	0,319	0,218	n. n.	0,763	0,044	0,049	0,052
13	n. n.	0,039	0,168	0,310	0,188	n. n.	0,744	0,037	0,044	0,042
14	n. n.	0,033	0,179	0,306	0,218	n. n.	0,744	0,042	0,045	0,048
15	n. n.	0,035	0,195	0,335	0,196	n. n.	0,743	0,040	0,049	0,045
16	n. n.	0,044	0,182	0,352	0,225	n. n.	0,763	0,047	0,051	0,051
17	n. n.	0,041	0,169	0,325	0,219	n. n.	0,760	0,039	0,046	0,048
18	n. n.	0,045	0,202	0,354	0,237	n. n.	0,764	0,042	0,047	0,050

Tab. 24: Einzelwerte der Extinktionsmessungen der Testlösungen,

n. n. = Wert lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003,

nicht messbar = Niederschlagsbildung in der Küvette, die eine Messung nicht möglich machte

Probe	Extinktion								
	Iso- propanol (n = 12)	Natrium- hypochlorit (n = 12)	Polyhexanid Charité (n = 6)	Polyhexanid Lavisorb (n = 12)	Kochsalz- lösung (n = 12)	CHX A (n = 6)	CHX B (n = 6)	Chlor- hexidin (n = 12)	Endo CHX (n = 6)
1	n. n.	0,023	0,109	0,108	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,016	0,180
2	n. n.	0,009	0,109	0,102	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,005	0,189
3	n. n.	0,006	0,108	0,100	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,010	0,163
4	n. n.	0,006	0,109	0,107	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,005	0,142
5	n. n.	0,005	0,108	0,099	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,010	0,174
6	n. n.	0,007	0,108	0,110	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	0,009	0,178
7	n. n.	0,005		0,105	n. n.			0,004	
8	n. n.	0,007		0,110	n. n.			0,007	
9	n. n.	0,005		0,103	n. n.			0,008	
10	n. n.	0,010		0,104	n. n.			0,009	
11	n. n.	0,009		0,105	n. n.			0,006	
12	n. n.	0,015		0,109	n. n.			0,007	

Tab. 25: Eigenextinktion der Testlösungen,

n. n. = Wert lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,003,

nicht messbar = Niederschlagsbildung in der Küvette, die eine Messung nicht möglich machte

Probe	Eigenextinktion								
	Iso- propanol	Natrium- hypochlorit	Polyhexanid Charité	Polyhexanid Lavisorb	Kochsalz- lösung	CHX A	CHX B	Chlor- hexidin	Endo CHX
	n. n.	0,785	n. n.	n. n.	n. n.	nicht messbar	nicht messbar	n. n.	nicht messbar

Tab. 26: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen der gereinigten Küvetten, Referenzküvetten = fabrikneue Küvetten

	Probe	Extinktion			Probe	Extinktion	
		Chlorhexidin	Natriumhypochlorit			Chlorhexidin	Natriumhypochlorit
gereinigte Küvetten (n = 7)	1	0,011	0,020	Referenzküvetten (n = 7)	1	0,007	0,018
	2	0,009	0,015		2	0,007	0,016
	3	0,009	0,022		3	0,006	0,016
	4	0,009	0,018		4	0,006	0,015
	5	0,009	0,017		5	0,006	0,016
	6	0,007	0,018		6	0,005	0,015
	7	0,008	0,017		7	0,007	0,014

Tab. 27: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen der Rückgewinnung von Hedström-Feilen, die mit 10 µl Testanschmutzung versehen waren (n = 12)

Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Extinktion	0,042	0,084	0,067	0,081	0,081	0,056	0,075	0,086	0,070	0,073	0,084	0,074
Eigenextinktion	0,020	0,018	0,020	0,030	0,021	0,025	0,017	0,018	0,020	0,023	0,027	0,018

Tab. 28: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen der Rückgewinnung von Edelstahlplättchen, die mit 10 µl Testanschmutzung versehen waren (n = 3)

Probe	1	2	3
Extinktion	0,044	0,046	0,048
Eigenextinktion	0,009	0,008	0,010

Tab. 29: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen der Rückgewinnung von Edelstahlplättchen, die mit 50 µl Testanschmutzung versehen waren (n = 8)

Probe	1	2	3	4	5	6	7	8
Extinktion	0,261	0,278	0,250	0,256	0,259	0,278	0,254	0,256
Eigenextinktion	0,048	0,050	0,047	0,042	0,058	0,049	0,041	0,048

Tab. 30: Einzelwerte der Extinktions- und Eigenextinktionsmessungen zur Ermittlung der Grundproteinmenge von 10 bzw. 50 µl Testanschmutzung in 10 bzw. 20 ml 1 %iger SDS-Lösung

Probe	Extinktion			Eigenextinktion		
	10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 12)	10 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6)	50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6)	10 µl Testanschmutzung in 10 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 12)	10 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6)	50 µl Testanschmutzung in 20 ml 1 %iger SDS-Lösung (n = 6)
1	0,085	0,047	0,252	0,009	0,003	0,046
2	0,094	0,052	0,251	0,007	0,003	0,059
3	0,091	0,053	0,278	0,008	0,003	0,059
4	0,088	0,055	0,282	0,005	0,004	0,059
5	0,093	0,046	0,246	0,009	0,003	0,044
6	0,047	0,047	0,252	0,008	0,003	0,046
7	0,052			0,007		
8	0,078			0,009		
9	0,080			0,010		
10	0,093			0,005		
11	0,084			0,008		
12	0,090			0,008		

Tab. 31: Einzelwerte der Extinktionsmessungen vom Versuch mit den Testlösungen und den Interim-Ständen

Bearbeitungsweisen 1 bis 6:

1. Feile wurde einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
2. Feile wurde dreimal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
3. Feile wurde fünfmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
4. Feile verblieb 30 s im Interim-Stand
5. Feile verblieb 60 s im Interim-Stand
6. Feile verblieb 300 s im Interim-Stand

Kontrollgruppe = unbefüllter Interim-Stand

Testlösungen	Versuch	Bearbeitungsweisen					
		1	2	3	4	5	6
Isopropanol	1	0,060	0,050	0,062	0,076	0,042	0,086
	2	0,056	0,069	0,067	0,096	0,059	0,065
	3	0,084	0,080	0,032	0,041	0,040	0,068
Natriumhypochlorit	1	0,050	0,024	0,005	0,037	0,030	0,012
	2	0,047	0,017	0,011	0,047	0,017	0,015
	3	0,052	0,020	0,017	0,035	0,022	0,017
CHX 0,2 %	1	0,058	0,020	0,028	0,014	0,009	0,004
	2	0,062	0,033	0,028	0,018	0,004	0,004
	3	0,084	0,032	0,025	0,046	0,031	0,011
Kochsalzlösung	1	0,058	0,012	0,006	0,014	0,011	0,005
	2	0,060	0,043	0,021	0,032	0,026	0,019
	3	0,055	0,030	0,028	0,028	0,024	0,039
Endo CHX	1	0,072	0,048	0,039	0,063	0,040	0,043
	2	0,070	0,047	0,030	0,063	0,044	0,043
	3	0,081	0,052	0,049	0,062	0,048	0,041
Polyhexanid	1	0,081	0,038	0,019	0,060	0,041	0,020
	2	0,070	0,035	0,024	0,066	0,039	0,028
	3	0,091	0,040	0,028	0,055	0,045	0,032
CHX A	1	0,064	0,039	0,038	0,073	0,076	0,034
	2	0,063	0,030	0,032	0,072	0,076	0,030
	3	0,065	0,048	0,044	0,076	0,071	0,039
CHX B	1	0,073	0,057	0,043	0,049	0,052	0,040
	2	0,076	0,055	0,039	0,047	0,051	0,044
	3	0,071	0,062	0,048	0,052	0,054	0,045
Kontrollgruppe	1	0,080	0,079	0,036	0,084	0,079	0,069
	2	0,078	0,075	0,031	0,079	0,075	0,078
	3	0,084	0,083	0,040	0,088	0,082	0,074

Tab. 32: Einzelwerte der Eigenextinktionsmessungen vom Versuch mit den Testlösungen und den Interim-Ständen

Bearbeitungsweisen 1 bis 6:

1. Feile wurde einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
2. Feile wurde dreimal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
3. Feile wurde fünfmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
4. Feile verblieb 30 s im Interim-Stand
5. Feile verblieb 60 s im Interim-Stand
6. Feile verblieb 300 s im Interim-Stand

Kontrollgruppe = unbefüllter Interim-Stand

Testlösungen	Versuch	Bearbeitungsweisen					
		1	2	3	4	5	6
Isopropanol	1	0,020	0,014	0,005	0,011	0,013	0,015
	2	0,022	0,013	0,011	0,018	0,012	0,006
	3	0,007	0,008	0,009	0,011	0,010	0,012
Natriumhypochlorit	1	0,016	0,008	0,007	0,015	0,014	0,005
	2	0,014	0,015	0,010	0,009	0,011	0,006
	3	0,011	0,010	0,013	0,012	0,010	0,011
CHX 0,2 %	1	0,018	0,009	0,005	0,005	0,008	0,002
	2	0,022	0,016	0,006	0,017	0,008	0,002
	3	0,006	0,003	0,003	0,006	0,007	0,002
Kochsalzlösung	1	0,016	0,009	0,003	0,012	0,007	0,004
	2	0,008	0,006	0,003	0,004	0,005	0,008
	3	0,012	0,008	0,003	0,010	0,006	0,005
Endo CHX	1	0,016	0,009	0,007	0,012	0,009	0,004
	2	0,018	0,012	0,011	0,018	0,011	0,004
	3	0,016	0,008	0,006	0,012	0,008	0,008
Polyhexanid	1	0,014	0,005	0,003	0,009	0,006	0,003
	2	0,015	0,011	0,006	0,013	0,010	0,004
	3	0,013	0,006	0,003	0,008	0,005	0,003
CHX A	1	0,012	0,007	0,008	0,016	0,015	0,004
	2	0,014	0,006	0,009	0,020	0,016	0,003
	3	0,009	0,010	0,005	0,018	0,020	0,008
CHX B	1	0,016	0,011	0,006	0,008	0,008	0,009
	2	0,014	0,017	0,008	0,010	0,011	0,012
	3	0,017	0,012	0,005	0,007	0,008	0,009
Kontrollgruppe	1	0,014	0,014	0,003	0,013	0,011	0,010
	2	0,020	0,019	0,006	0,018	0,011	0,010
	3	0,015	0,014	0,003	0,012	0,016	0,014

In den folgenden drei Tabellen (33, 34 und 35) gelten dieselben Bearbeitungsweisen 1 bis 6:

1. Feile wurde einmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
2. Feile wurde dreimal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
3. Feile wurde fünfmal durch die Schaumstoffscheibe gestochen und wieder herausgezogen
4. Feile verblieb 30 s im Interim-Stand
5. Feile verblieb 60 s im Interim-Stand
6. Feile verblieb 300 s im Interim-Stand

Der unbefüllte Interim-Stand diente als Kontrollgruppe.

Tab. 33: Mittelwerte der Extinktionsmessungen mit Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 und 10 µl Testanschmutzung

Testlösungen	Bearbeitungsweisen (Feilenanzahl n = 162)					
	1	2	3	4	5	6
Isopropanol	0,067	0,067	0,053	0,071	0,047	0,073
Natriumhypochlorit	0,050	0,020	0,011	0,040	0,023	0,015
CHX 0,2 %	0,068	0,028	0,027	0,026	0,015	0,006
Kochsalzlösung	0,058	0,028	0,018	0,025	0,020	0,021
Endo CHX	0,074	0,049	0,039	0,063	0,044	0,042
Polyhexanid	0,081	0,038	0,024	0,060	0,042	0,027
CHX A	0,064	0,039	0,038	0,074	0,073	0,034
CHX B	0,073	0,058	0,043	0,049	0,052	0,045
Kontrollgruppe	0,081	0,079	0,036	0,084	0,079	0,074

Tab. 34: Mittelwerte der Eigenextinktionsmessungen mit Hedström-Feilen der ISO-Größe 120 und 10 µl Testanschmutzung

Testlösungen	Bearbeitungsweisen (Feilenanzahl n = 162)					
	1	2	3	4	5	6
Isopropanol	0,016	0,012	0,008	0,013	0,012	0,011
Natriumhypochlorit	0,014	0,011	0,010	0,012	0,012	0,007
CHX 0,2 %	0,015	0,009	0,005	0,009	0,008	0,002
Kochsalzlösung	0,012	0,008	0,003	0,009	0,006	0,006
Endo CHX	0,017	0,010	0,008	0,014	0,009	0,005
Polyhexanid	0,014	0,007	0,004	0,010	0,007	0,003
CHX A	0,012	0,008	0,007	0,018	0,017	0,005
CHX B	0,016	0,013	0,006	0,008	0,009	0,010
Kontrollgruppe	0,016	0,016	0,004	0,014	0,013	0,011

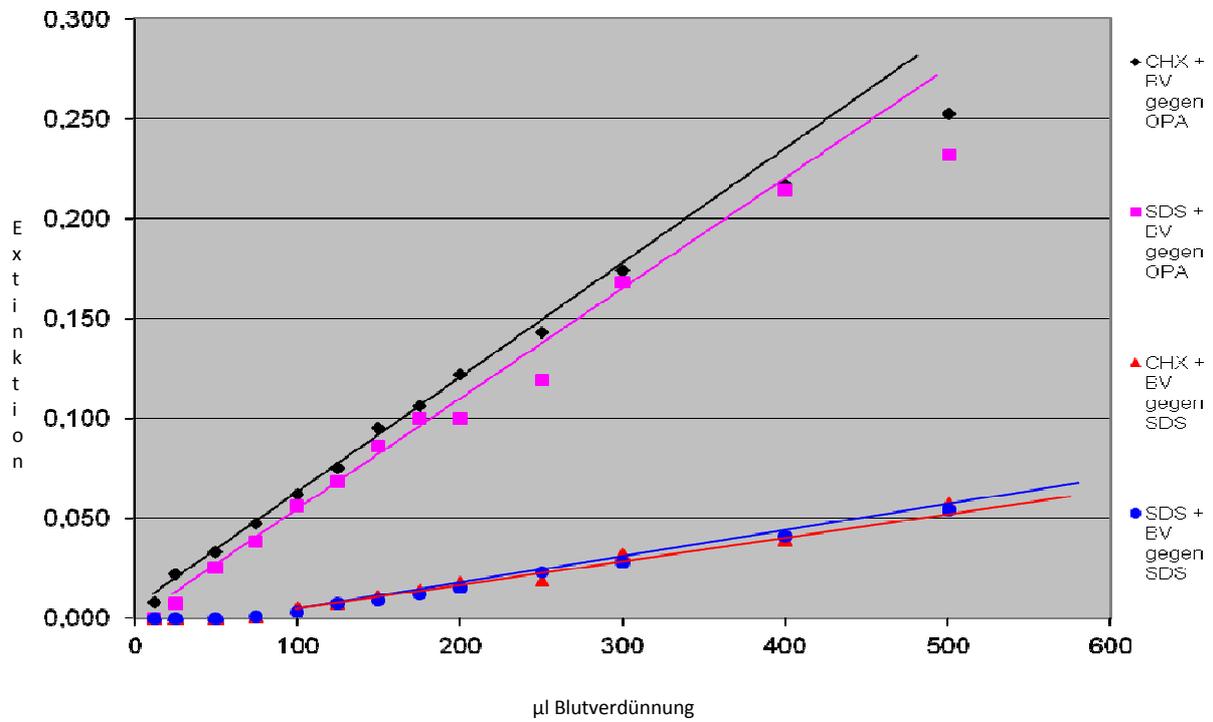
Tab. 35: Extinktionswerte nach Abzug der Eigenextinktion von der Extinktion

Testlösungen	Bearbeitungsweisen (Feilenanzahl n = 162)					
	1	2	3	4	5	6
Isopropanol	0,051	0,055	0,045	0,058	0,035	0,062
Natriumhypochlorit	0,036	0,009	0,001	0,028	0,011	0,008
CHX 0,2 %	0,053	0,019	0,022	0,017	0,007	0,004
Kochsalzlösung	0,046	0,020	0,015	0,016	0,014	0,015
Endo CHX	0,057	0,039	0,031	0,049	0,035	0,037
Polyhexanid	0,067	0,031	0,020	0,050	0,035	0,024
CHX A	0,052	0,031	0,031	0,056	0,056	0,029
CHX B	0,057	0,045	0,037	0,041	0,043	0,035
Kontrollgruppe	0,065	0,063	0,032	0,070	0,066	0,063

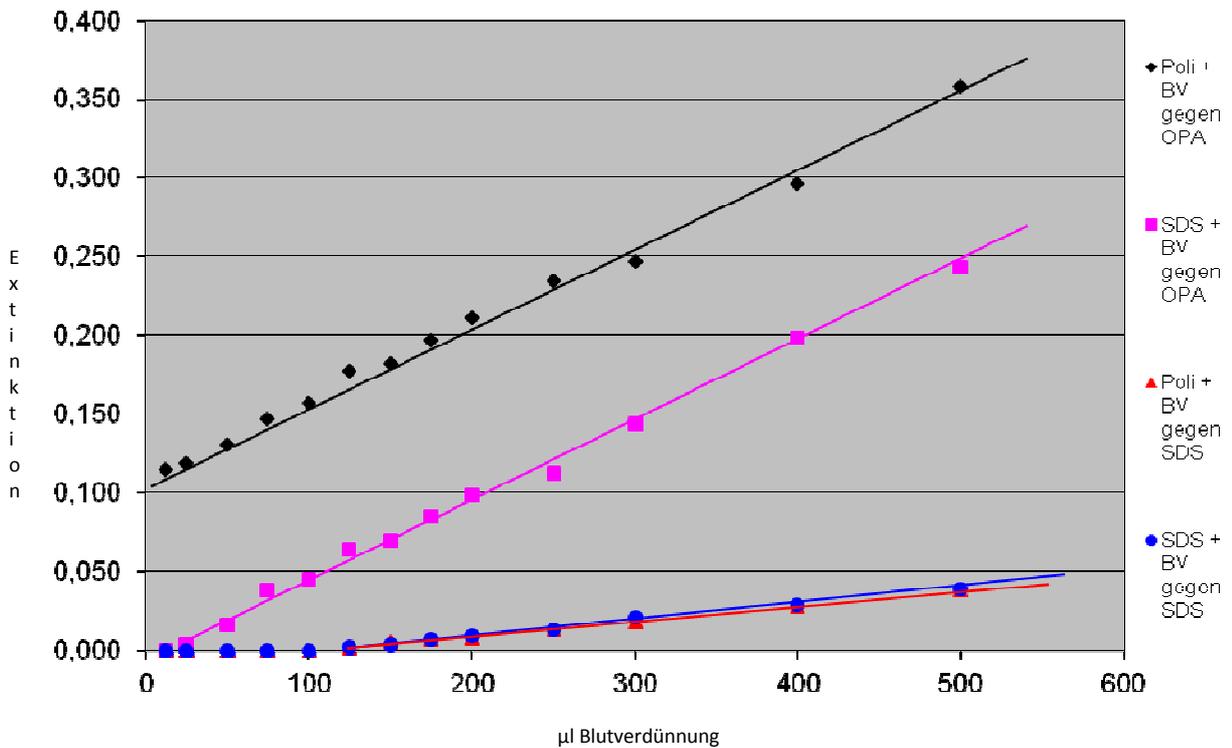
Mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes läßt sich aus den Extinktionswerten in Tabelle 35 die Proteinkonzentration in µmol/Instrument (siehe 7.2.7, Tab. 18, S. 68) der jeweiligen Probe errechnen.

11.5 Diagramme zum Verdünnungsreihenversuch (siehe 7.2.3)

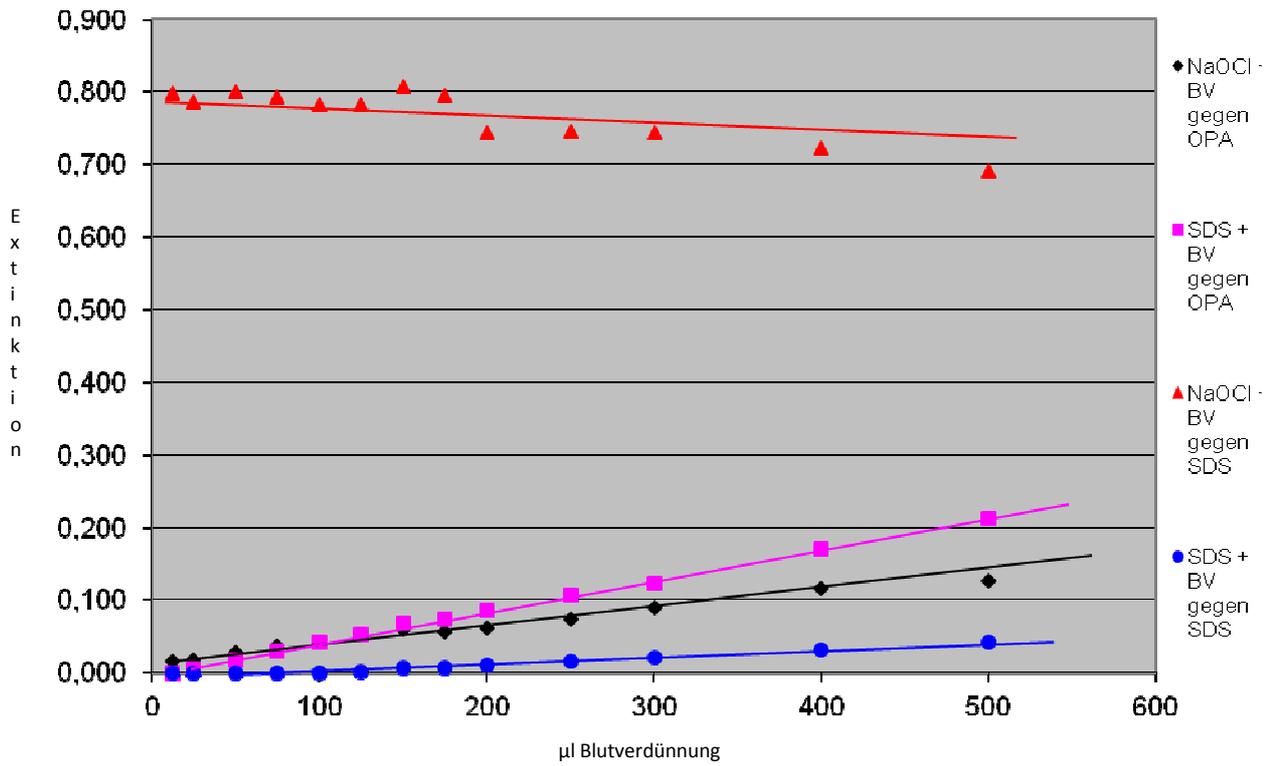
CHX



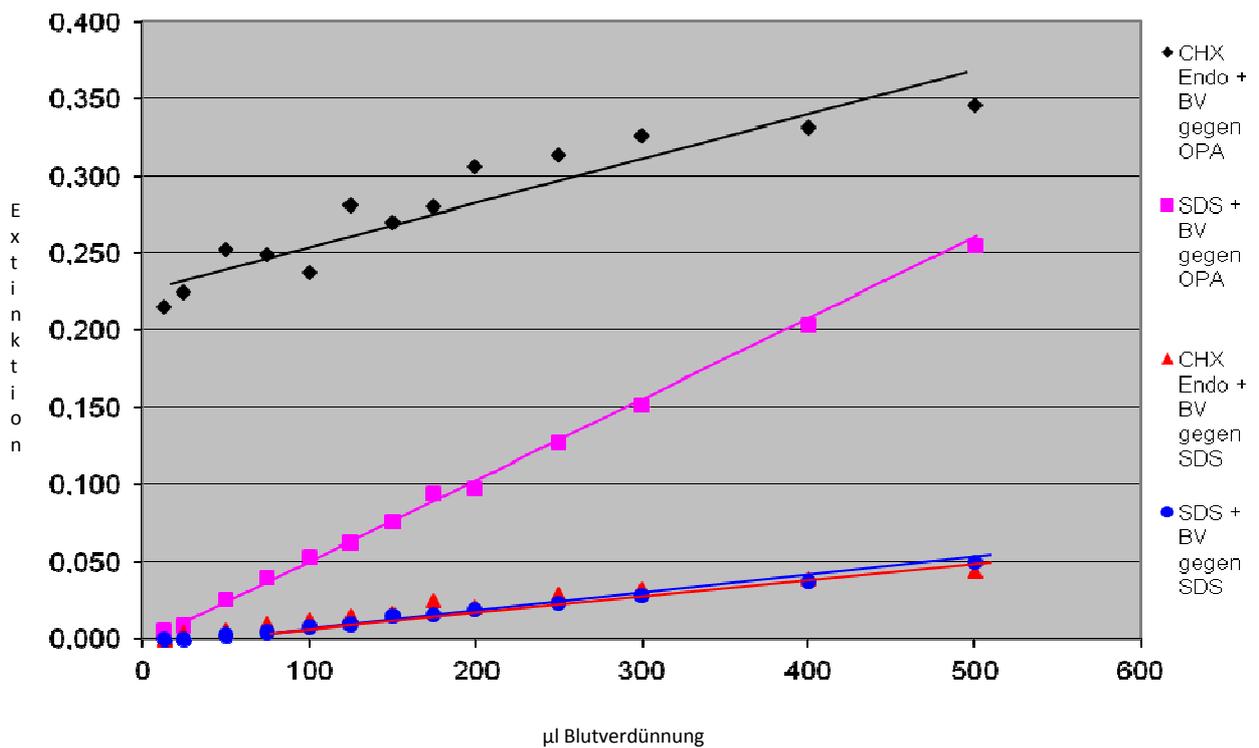
Polyhexanid



Natriumhypochlorit



Endo CHX



12. Eidesstattliche Versicherung

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

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

Datum

Carolin Gerner

13. Lebenslauf

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

14. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei denjenigen zu bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ein herzliches Dankeschön an...

Herrn Prof. Dr. Wolfgang B. Freesmeyer (†) für die Betreuung der Dissertation.

Frau Priv.-Doz. Dr. Ingrid Peroz für die Übernahme des Themas, die hilfreichen Anmerkungen und das Korrekturlesen der Arbeit.

Frau Dr. Anette Simonis und Frau Prof. Dr. Heike Martiny für die Erarbeitung des Themas, die hilfreichen Ratschläge und ihre unermüdliche Unterstützung und Motivation während der gesamten Zeit.

meine Freundin und Kollegin Dr. Susann Dietrich für die großartige Zusammenarbeit in den letzten Jahren. Danke für Deine Ideen, Deinen Ehrgeiz und Deine Motivation.

Herrn Dr. Jörn Noetzel für die täglichen Blutabnahmen, die hilfreichen Hinweise während des Schreibens und das Korrekturlesen der Arbeit.