

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. Axel Kramer)
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald

**Überprüfung eines neuen Verfahrens zur Dekontamination des wasserführenden
Systems von Zahnarzteinheiten im laufenden Betrieb**

Inaugural – Dissertation
zur
Erlangung des akademischen
Grades eines
Doktors der Zahnmedizin
(Dr. med. dent.)
der
Universitätsmedizin
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2011

vorgelegt von:
Lisa-Dorothea Taube

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

1. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Kramer

2. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Exner

Ort, Raum: Greifswald, Vorlesungssaal des Zentrums für Zahn-, Mund- und
Kieferheilkunde

Tag der Disputation: 21.09.2011

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen.....	5
1. Einleitung und Problemstellung.....	6
1.1 Problemstellung.....	6
1.2 Quellen/Pfade der Kontamination.....	6
1.3 Anforderungen an die Trinkwasserqualität (TrinkwV).....	7
1.4 Gesundheitliche Risiken bei Nichteinhaltung der Trinkwasserqualität in der zahnärztlichen Turbine.....	8
1.5 Möglichkeiten der Desinfektion des Trinkwasserführenden Systems der Zahnärztlichen Einheit (ZE).....	13
2. Eigene Untersuchungen.....	19
2.1 Methode.....	19
2.1.1 Darstellung des Desinfektionsverfahrens mittels POTO CLEAN®.....	19
2.1.2 Versuchsdurchführung.....	20
2.2 Ergebnisse.....	30
2.2.1 Redoxwerte.....	30
2.2.2 Mikrobielle Belastung.....	38
2.3 Diskussion.....	48
2.3.1 Methodische Aspekte und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.....	48
2.3.2 Ergebnisse.....	49
2.4 Weiterführende Überlegungen und Schlussfolgerung.....	52
2.5 Zusammenfassung/ Summary.....	54
Literatur.....	57
Elektronische Medien.....	64
Anhang.....	65
Eidesstattliche Erklärung.....	i
Danksagung.....	ii

Abkürzungen

Beh.	Behandlung
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
d	Tag
DIN	Deutsches Institut für Normung
E. coli	Escherichia coli
Fa.	Firma
GKZ	Gesamtkoloniezahl
h	Stunde
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HACCP	hazard analysis and critical control points
ISO	Internationale Organisation für Normung
KbE/ml	Koloniebildende Einheiten in 1 ml Wasser (Maß für die allgemeine mikrobielle Belastung des Trinkwassers)
l	Liter
L. pneumophila	Legionella pneumophila
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
NaCl	Natriumchlorid
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
ppm	parts per million
Redoxwert	Reduktions-Oxidationswert
RKI	Robert Koch-Institut
s	Sekunde
SOP	Standardarbeitsanweisung (Standard Operating Procedure)
spp.	Spezies
TrinkwV	Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung)
UBA	Umweltbundesamt
WHO	World Health Organization
WSP	Wassersicherheitsplan
ZE	Zahnarztinheit

1. Einleitung und Problemstellung

1.1 Problemstellung

Ein häufiges Problem in wasserführenden Systemen von Zahnarzteinheiten (ZE) ist die Entstehung eines Biofilms und die damit verbundene mikrobielle Kontamination des Wassers. Sowohl die Entfernung des Biofilms als auch die Prävention seiner erneuten Entstehung sind medizinisch von Bedeutung insbesondere im Hinblick auf die steigende Anzahl immunsupprimierter Patienten. Es gilt somit, effektive Mechanismen zu identifizieren, die die Zahl der Mikroorganismen im wasserführenden System der ZE reduzieren.

Vor diesem Hintergrund wurden verschiedene Lösungsansätze in der Praxis beschrieben (z.B. Purching, Chlorung, Desinfektion mit Wasserstoffperoxid oder Chlordioxid etc.). In der Regel ist jedoch für keinen der Ansätze ein ausreichender Effekt gewährleistet.

Viele Hersteller nehmen zwar eine sichere Wirkung der eigenen Verfahren für sich in Anspruch, die jedoch einer genauen Überprüfung in der Regel nicht standhalten (Kramer persönl. Zitat, 2009).

Vor diesem Hintergrund sollte ein neues Verfahren auf der Basis der sog. anodischen Oxidation unter Praxisbedingungen geprüft werden. Anlass für diese Prüfung war die Überschreitung der Grenzwerte laut Trinkwasserverordnung (TrinkwV) in der zahnärztlichen Turbine einer Zahnarztpraxis in Greifswald.

1.2 Quellen/Pfade der Kontamination

Der Ort, an dem es hauptsächlich in einer Zahnarztpraxis zur Kontamination kommt, sind die wasserführenden Systeme der ZE. Die dünnen, feuchten Schläuche und Rohre bieten ein ideales Milieu zur Biofilmbildung.

Als eine unvermeidbare Ursache der Kontamination sind die Wasserleitungen (öffentliches Wassersystem) zu sehen. Dieser Aspekt wird als „Hintergrund“-kontamination bewertet.

Ohne dass eine systemische Kontamination des Hauswassersystems vorliegt, können auch lediglich die Wasserentnahmestellen eine eigenständige Infektionsquelle sein (Reuter et al. 2002).

Aber auch die Patienten selbst, von deren mikrobieller Flora Vertreter beispielsweise über undichte Ventile oder den Rücksaugeffekt an der Turbine in die Schläuche gelangen können, können zur Kontamination der wasserführenden Systeme der ZE beitragen.

Das Personal bietet zusätzlich eine Kontaminationsquelle, wenn es die Hygienevorschriften nicht einhält. Hier spielt die retrograde Kontamination durch Wasserspritzer aus dem Waschbecken, Kontakte mit Händen oder Putzutensilien eine Rolle. Dabei ist vor allem in Strahlbegrenzern eine langfristige Vermehrung von Pseudomonaden möglich (Reuter et al. 2002).

1.3 Anforderungen an die Trinkwasserqualität (TrinkwV)

Laut TrinkwV ist die mikrobiologische Qualität des Trinkwassers zu analysieren, wenn in Gebäuden erwärmtes Trinkwasser an die Öffentlichkeit gelangt (Epid Bull 2007).

Die Höchstkoloniezahl für den Mindestqualitätsstandard von Trinkwasser - im Gegensatz zu Reinigungs- und Brauchwasser - darf nicht mehr als 100 KBE/ml betragen. Allerdings dürfen in 100 ml keine Coliforme Bakterien (=laktosefrei), E. coli, Enterokokken oder Clostridium perfringens vorhanden sein (Tab. 1).

Tab. 1 Allgemeine Anforderungen an Wasser für den menschlichen Gebrauch

Parameter	Grenzwert (KbE/100 ml)
E. coli	0
Enterokokken	0
Coliforme Bakterien	0

Auch bei *P. aeruginosa*, *Legionella* spp. und Pilzen sollen 0 KbE/ml nicht überschritten werden (Dyck et al. 2007). Dyck et al. (2007) erarbeiteten einen sog. WSP (Wassersicherheitsplan) für Krankenhäuser im Sinne einer primären Prävention. Dafür sollten die WHO-Empfehlungen bezüglich der Umsetzung des HACCP (hazard analysis and critical control points) Konzepts aus der Lebensmittelindustrie im Bereich der Trinkwasserhygiene umgesetzt werden. Zum Einen wird die Probenahme in Bezug auf das Patientenrisiko abgestimmt, indem in drei Risikobereiche aufgeteilt wird. Zum anderen werden - um auf die TrinkwV einzugehen – drei weitere limitierende Faktoren für eine sofortige risikoadaptierte Reaktion definiert (Warnung, Alarm und schlimmster Fall). Der WSP ermöglicht eine sofortige Reaktion im Falle einer Kontamination und ist neben dem ethischen Aspekt kosteneffektiv.

1.4 Gesundheitliche Risiken bei Nichteinhaltung der Trinkwasserqualität in der zahnärztlichen Turbine

Das Vorhandensein eines Biofilms in den Schläuchen der ZE ist einer der zentralen Faktoren, der für eine hohe Zahl an Bakterien verantwortlich ist (Barbeau et al. 1996).

Durch den besonderen Bau der ZE (teilweise Totleitungen; kein Ringleitsystem) werden die mikrobielle Kontamination und das Vorhandensein eines Biofilms begünstigt (Szymańska et al. 2008). Aus dem komplexen Aufbau der zahnärztlichen Einheit resultiert die Stagnation des Wassers in den Wasserleitungen, weshalb Bakterien proliferieren können (Carlson u. Hässelbarth 1968). Wasserstagnation wird also als ein Grund für die mikrobielle Population gesehen, woraus die Kolonisation zu Biofilmen in den Wasserleitungen folgt (Whitehouse et al. 1991, Robert et al. 1994).

Über den Weg der rotierenden Handstücke und Multifunktionsspritzen werden die Mikroorganismen als Aerosole in die Mundhöhle der Patienten übertragen. Es sind die Anzahl der Bakterien, das Vorhandensein von potentiellen Pathogenen und die Mikroflora im Mund des Patienten, aber nicht die Präsenz der Bakterien per se, die das Infektionsrisiko bestimmen (Szymańska et al. 2008).

Bakterien haben in einem natürlichen wässrigen Milieu die Tendenz, mit Oberflächen zu interagieren (Whitehouse et al. 1991). Die dunklen, feuchten und warmen Schläuche der ZE sind somit ein idealer Inkubator für die Proliferation von Mikroorganismen (Mills u. Karpay 2002, Kettering et al. 2002, Mills 2003, Miller u. Palenik 2005).

Die Anwesenheit verschiedener Mikroorganismen ist die Voraussetzung für die potentielle Kontamination dentaler Aerosole. Dadurch ist eine potentielle Gefährdung sowohl der Patienten als auch des Personals gegeben (Szymańska 2003).

Im Folgenden werden die Mikroorganismen in ihrer Bedeutung als Krankheitserreger dargestellt. Mikroorganismen variieren in ihrer Resistenz gegenüber chemischer und thermischer Desinfektion. Gramnegative Bakterien, wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) oder *Achromobacter*, sind weniger sensitiv gegenüber Desinfektionsmitteln als andere (z.B. *Enterobacteriaceae*) (Hoffmann et al. 2004).

Pathogenität und Resistenzbildung gegenüber Desinfektionsmitteln korrelieren nicht mit der chemischen oder thermischen Inaktivierbarkeit. Es ist nicht belegt, dass Bakterien mit

multiplen Resistenzen gegen Antibiotika deutlich weniger empfindlich gegen chemische Desinfektionsmittel sind (Hoffmann et al. 2004).

Hefen

Hefen sind einzellige Pilze, die sich durch Sprossung oder Teilung (Spaltung) vermehren. Es werden aber auch Entwicklungsstadien anderer Pilze als Hefen bezeichnet.

Pilze sind ein eigenständiges Reich, zu dem sowohl Einzeller wie die Backhefe, als auch Vielzeller wie die Schimmelpilze und die Speisepilze gehören.

Die Übertragung von Hefen auf den Menschen wird überwiegend durch die Aufnahme von Nahrungsmitteln verursacht. Aufgrund des Kommensalismus stellt diese nur unter besonderen Bedingungen ein Gefahrenpotential in Form einer Mykose dar (Hahn et al. 2009).

Ist die Immunität eines Organismus beispielsweise geschwächt, bieten opportunistische Infektionen durch Pilze ein gesundheitliches Risiko (Szymańska 2003). Bei der ZE stellen mit Hefen kontaminierte Aerosole eine potentielle Gefährdung der Patienten dar (Szymańska 2003).

Die Wasserkontamination durch Pilze kann nicht nur durch die städtische-/ Gemeindewasserzufuhr hervorgerufen werden, sondern auch durch Zurücksaugen des Patientenspeichels durch mangelnde Ventilfunktion bzw. negativen Druck (Panagakos et al. 2001). Pederson et al. (2002) merken an, dass in Wasserleitungen der ZE gefundene Candida Spezies, die zu der normalen bekannten Mundflora gehören, höchstwahrscheinlich vom Zurücksaugen abgeleitet werden können.

Pilze und Pilzsporen sind aquatisch „leicht empfindlich“ gegen chemische und „empfindlich“ gegen thermische Inaktivierung durch Desinfektion (Hoffman et al. 2004). Nach 10 min bei 65°C werden vegetative Zellen von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen abgetötet (Kramer u. Assadian 2008).

Coliforme/ E. coli

Diese Bakterien gehören zu den (gramnegativen) Proteobakterien, genauer zu den Enterobakterien.

Die "Fäkalindikatoren" E. coli und Coliforme sind ein Hinweis auf eine Belastung des Wassers durch Darmkeime (z. B. Risiko der Trinkwasserinfektion durch Salmonellen).

Fäkalstreptokokken dürfen in 100 ml nicht nachweisbar sein (TrinkwV 2001). In trinkbarem Wasser präsentieren Coliforme ab einer Konzentration von >1 Coliforme/100 ml eine fäkale Kontamination (Pankhurst u. Coulter 2007).

Allerdings werden Coliforme normalerweise nur unter unnatürlichen Umständen in den Wasserleitungen der dentalen Einheiten festgestellt (Pankhurst u. Coulter 2007).

E. coli und coliforme Bakterien gehören zu den weniger resistenten Bakterien und können im Vergleich zu Mykobakterien, manchen Viren oder Oozysten von *Cryptosporidium parvum* sehr viel leichter z.B. durch Chlor abgetötet werden. Ein bestimmter Level an fäkalen Indikatorbakterien allein ist also kein verlässlicher Anzeiger für mikrobielle Wassersicherheit. Für die Aussagekraft der Desinfektionswirksamkeit sind *E. coli* und Coliforme also nur u.U. geeignet (WHO 2008). Watanabe et al. (2008) fanden z. B. weder *E. coli* noch Coliforme bei ihren Untersuchungen, obwohl sie eine speziell dafür sensible Methode (PetrifilmTM EC) anwandten.

Pseudomonas aeruginosa

Diese gramnegative, stäbchenförmige Species gehört zur Familie der Pseudomonadaceae (Gattung: *Pseudomonas*) und wird den Proteobakterien zugeordnet. Sie ist aerob, d.h. sie braucht Sauerstoff zum Wachsen, und nutzt den oxidativen Energiestoffwechsel mit Sauerstoff als Elektronenakzeptor.

Überall dort, wo genügend Feuchtigkeit vorhanden ist, findet man Pseudomonaden beispielsweise an Waschbecken, Toiletten, Spülmaschinen sowie im Badewasser und selten auch im Trinkwasser (Schaal u. von Graevenitz 1988). Der Erreger kann sich leicht vermehren, da seine Wachstumsansprüche gering sind (RKI 2002).

Unverständlicher Weise ist in der TrinkwV zum zulässigen Vorkommen von *P. aeruginosa* keine Regelung getroffen worden. Experten haben aktuell auf diese untragbare Situation hingewiesen. Exner et al. (2010) fordern aus klinisch-epidemiologischer, hygienisch-mikrobiologischer und risikoregulatorischer Sicht die Einführung des technischen Maßnahmewertes von < 1 KBE *P. aeruginosa*/ 100 ml. Als einer der wichtigsten durch Trinkwasser übertragenen Erreger nosokomialer Infektionen hat die Relevanz von *P. aeruginosa* laut UBA seit 2006 zugenommen. Daher fordern Exner et al. (2010) die Prävention antibiotikaresistenter, wasserassoziierter Pseudomonaden durch Kontrollmaßnahmen als Teil eines effektiven gesundheitspolitischen Vorgehens, da durch simple Empfehlungen auch aufgrund des hohen Kostendrucks die Sicherheit nicht

gewährleistet werden kann und den Gesundheitsämtern rechtlich die Hände gebunden sind. Das Vorkommen des fakultativ pathogenen Keims in Kaltwasserleitungen als ökologische Besonderheit, die Persistenz (auch durch das nicht sichere Indizieren über mikrobiologische Parameter) und die starke Resistenz gegenüber Desinfektionsmaßnahmen (Chlor bzw. Chlordioxid oder Hitze) machen den Keim nach Exner et al. (2010) gefährlich.

Gramnegative Bakterien - wie *P. aeruginosa* – sind in größeren Konzentrationen die Hauptquelle von Endotoxinen, ein wichtiger Faktor bei Entzündungen (Szymańska 2005).

Der Erreger kann entzündliche Erkrankungen in verschiedensten Organen auslösen. Deshalb sind schon kleine Konzentrationen im Trinkwasser als gesundheitlich kritisch zu sehen.

Diese Bakterien gelten als opportunistische Krankheitserreger. Besonders betroffen sind immunsupprimierte Patienten, Ältere oder Säuglinge. Außerdem sind sie an nosokomialen Infektionen beteiligt (RKI 2002). Bis zu 50% der Pseudomonasinfektionen sind wasserassoziiert (Daten durch Genotypisierung abgesichert) (Trautmann et al. 2001, Trautmann et al. 2004, Blanc et al. 2004, Valles et al. 2004, Vianelli et al. 2006).

Eine Studie von Barbeau et al. (1996) zeigt, dass bewegliche gramnegative Stäbchen, von denen eine Mehrheit zur Familie der Pseudomonadaceae gehört, im Wasser von ZE überwiegen. In 24 % der Wasserproben aus den ZE wurden *P. aeruginosa* nachgewiesen. Das mit diesen Bakterien kontaminierte Wasser zeigte eine deutlich höhere Gesamtzahl an Bakterien im Vergleich zu Wasserleitungen von ZE, die frei von diesen bakteriellen Spezies waren.

Weitere Studien belegen die Präsenz von *P. aeruginosa* (Barbeau 2000, Monarca et al. 2002, Pankhurst et al. 1998, Sacchetti et al. 2006, Walker et al. 2004).

Es fällt auf, dass oft die größte Kontamination an dem Schlauch der Turbine stattfindet, wie z.B. in den Recherchen von Sacchetti et al. (2006) in 11,1%, während *P. aeruginosa* nur in einer der Proben der anderen Wasseranschlüsse in sehr geringer Menge festgestellt wurde. Auch Monarca et al. (2002) fanden vor allem größere Mengen an *P. aeruginosa* im Turbinenwasser.

Pitten et al. (2001) untersuchten sog. „Trinkwasser“ (nach DIN Vorschrift entnommen) und „Stagnationswasser“ (Entnahme unmittelbar nach Öffnung des Wasserhahns) im Krankenhaus. Bei rund einem Fünftel aller Stagnationswasserproben konnten >500 *Pseudomonas* spp./ml nachgewiesen werden. Ursachen für die erhöhten Werte sind eine ungeeignete Konstruktion der Wasserentnahmestelle und/oder mangelhafte Reinigung. Ein weiteres Problem ist die Vernachlässigung der Entkalkung der Druckminderer und

Wasserhahnausgänge. Dies begünstigt die Ansiedlung gramnegativer Feuchtkeime wie *Pseudomonas* spp. innerhalb eines sich nachhaltig bildenden Biofilms.

P. aeruginosa sind gegenüber Desinfektionsmitteln u. U. hoch resistent (RKI 2002). Die Sanierung von mit *P. aeruginosa* kontaminierten Hausinstallationssystemen durch Temperaturen von $>90\text{ °C}$ sind nur bedingt nachhaltig (Exner et al. 2005, Exner et al. 2006).

Legionella spp.

Die stäbchenförmige Gattung der Legionellen (*Legionella*) gehört der Familie der Legionellaceae an. Sie sind im Wasser lebende gramnegative nicht sporenbildende Proteobakterien, die durch eine oder mehrere polare oder subpolare Flagellen (Geißeln) beweglich sind. Die natürlichen Vorkommen von Legionellen sind im Süßwasser (Grundwasser und Oberflächenwasser) (RKI 2007).

Alle Legionellen sind als potenziell humanpathogen anzusehen. Die Legionärskrankheit, eine seltene atypische Pneumonie, ist ein typisches Beispiel. Im Jahr 2006 gab es laut RKI (2007) 571 Legionellose in Deutschland. 84,6% (483) der Betroffenen litten dabei unter der Legionärskrankheit. Folglich liegt die Inzidenz in Deutschland bei 5,9 Erkrankungen/1 Mio. Einwohner. Risikogruppen sind auch bei den Legionellen immunsupprimierte, ältere und an chronischen Lungenerkrankungen leidende Personen (RKI 2007).

Nach einem aufgezeichneten Legionellose-Fall eines Oralchirurgen (Pankhurst u. Coulter 2007) wurde geschlossen, dass die dentale Einheit die Quelle der Infektion war. Die dominierenden Spezies, die aus den dentalen Behandlungseinheiten isoliert werden, sind gramnegative Bakterien, die eine potentielle Quelle von Zellwand - Endotoxinen darstellen. Eine Konsequenz der Exposition mit Endotoxinen im Raum kann das Auslösen von Asthmaanfällen sein (Pankhurst u. Coulter 2007).

Eine hohe hygienische Gefahr stellen Legionellen in weitreichenden Wasserleitungen bei 25 bis 45 °C als ideale Vermehrungstemperatur dar. Prädestinierte Bereiche für die Wasserkontamination durch Legionellen sind daher ältere, mit Biofilm und Ablagerungen besetzte Wasserleitungen von Zahnarztpraxen.

Auch eine Wasserstagnation kann die Koloniezahl in die Höhe treiben (RKI 2007).

Wie eine Studie der University of Louisville, Kentucky (Behring 2004), belegt, wurden *Legionella* spp. mittels PCR in 68 % der untersuchten Wasserproben in 28 zahnärztlichen Einrichtungen in 6 US Staaten festgestellt, speziell *L. pneumophila* in 8%. Bei *Legionella*

spp. lagen 19% der Proben in der Kategorie 10.000 Organismen/ml oder mehr. Falls *L. pneumophila* vorhanden war, fand man nie Konzentrationen ≥ 1.000 /ml.

Außerdem wurde mittels mikroskopischer Untersuchung mit fluoreszierenden Antikörpern herausgefunden, dass die Kontamination eher in den Wasserleitungen der zahnärztlichen Einheit stattfindet als in den Handstücken.

Ein weiteres Target der Wasserkontamination durch Legionellen ist das zahnärztliche Personal. Hier wurden höhere Raten an Seropositivität für Legionellen festgestellt als bei der restlichen Bevölkerung, was annehmen lässt, dass die von den ZE abgegebenen Aerosole eine Quelle für die Exposition von *Legionella* spp. darstellen (Paszko-Kolva et al. 1993). Eine Infektion durch Legionellen kann beim Zahnarztstuhl vor allem durch Inhalation (Aerosol) von kontaminiertem Wasser erfolgen (RKI 2007).

Die ausgeprägte Resistenz der Legionellen gegen Desinfektionsmittel ist in dem parasitischen, intrazellulären Vorkommen in Protozoen begründet (RKI 2007).

Erst durch das Anheben der Wassertemperatur auf deutlich über 55 °C lässt sich der Krankheitserreger in Warmwasserleitungen sicher unter Kontrolle bringen (Exner et al. 2006).

1.5 Möglichkeiten der Desinfektion des Trinkwasserführenden Systems der ZE

Eine permanente Desinfektion kann mit dafür zugelassenen Chemikalien durchgeführt werden; dabei sind Grenzwerte und die Bildung von Desinfektionsnebenprodukten zu beachten (siehe Liste des Umweltbundesamtes zu §11 Trinkwasserverordnung Teil Ic). Als Dauerlösung haben sich Chemikalien jedoch als nicht erfolgreich erwiesen (Behring 2004). Die auf chemischer Basis arbeitenden Desinfektionsverfahren haben unter Berücksichtigung der TrinkwV keine Empfehlung zur Bekämpfung von Legionellen (siehe DVGW-Arbeitsblatt W 551 2003 (Bezug auf §4 TrinkwV)). Die Widerstandsfähigkeit und Persistenz von Mikroorganismen im Wasser gegenüber Desinfektionsverfahren liegt in der Befähigung zur Biofilmbildung und in der Persistenz von Amöben (Exner et al. 2005, Anaissie et al. 2002, Sabria u. Yu 2002).

Nach § 11 der TrinkwV (2001) ist in Deutschland nur die Desinfektion mit Chlor, Chlordioxid, Ozon oder die UV-Bestrahlung erlaubt. Die zur Dekontamination infrage kommenden Zusatzstoffe (bei der Desinfektion mit Chlor, Chlordioxid, Chlor abspaltenden

Mitteln und Ozon) müssen in einer vom Bundesministerium für Gesundheit geführten Liste enthalten sein. Das sind für den Normalfall Chlor in anorganischen Verbindungen und Ozon. Soll Natriumhypochlorit verwendet werden, muss auf den Bromatgehalt geachtet werden (<10 mg/l wird – auf das Handelsprodukt bezogen – vorgeschlagen).

Bei Zusatz von Chlor oder Hypochlorit sind bis zu 6 mg/l Cl₂ erlaubt. Restgehalte bis 0,6 mg/l Cl₂ bleiben nach der Aufbereitung außer Betracht, wenn die Desinfektion nur so gewährleistet ist (Kramer u. Assadian 2008).

Folgende Desinfektionsstrategien sind relevant:

Chlorung

Die Desinfektion mit Chlor (Chlorung) ist das gängigste Verfahren zur Trinkwasserdesinfektion (Kramer u. Assadian 2008). Das Halogen Chlor ist als chemische Methode zur Desinfektion von Trink- und Badewasser geeignet (Groß 2006). Aufgrund seiner geringen Toxizität und der hohen (oxidativen) Wirksamkeit gibt es für Badewasser keine Alternative.

Die Wirkung von Chlor, das in Gasform zum Wasser gegeben wird, bezieht sich bei großen Mengen nicht nur auf Viren, Pilze und Bakterien, sondern auch auf bakterielle Sporen (RKI 2003). Laut RKI-Liste (Bundesgesundheitsblatt 2007) dient Chlor zur Abtötung von vegetativen Bakterien einschließlich Mykobakterien sowie Pilzen einschließlich Pilzsporen und ist zur Inaktivierung von Viren geeignet (Wirkungsbereiche A und B). Es dient der Wäschedesinfektion, der Flächendesinfektion (Wischdesinfektion) und der Desinfektion von Ausscheidungen (Bundesgesundheitsblatt 2007).

Nachteile bei der Desinfektion mit Chlor sind die stark korrodierende und stark reizende Wirkung (Hahn et al. 2009) und die Bildung von Haloformen im Badewasser.

Die nachhaltige Eliminierung von Mikroorganismen im Trinkwasser, die sich in Biofilmen befinden, ist nur über lange Einwirkzeiträume erreichbar. Oft kommt es daher nach Reduktion oder Beendigung der Chlordesinfektion zur Wiederverkeimung (Exner et al. 2007).

Otte et al. (2004) sowie Exner et al. (2005) fanden heraus, dass mittels der nach TrinkwV (2001) zulässigen Chlordesinfektionsmittelkonzentrationen erst nach 70-160 d eine Reduktion der Koloniezahl eines Biofilms auf den zulässigen Bereich möglich ist.

Anodische Oxidation

Physikalisch-chemisch betrachtet handelt es sich um eine elektrolytische Desinfektion. Dieses Verfahren wird von Anbietern als Anlage für kontinuierliche Desinfektionsverfahren (Ziel:

dauerhafte und sichere Bakterienreduzierung; fester Bestandteil des jeweiligen Systems) vermarktet (Gollnisch et al. 2003). Bei der Elektrolyse handelt es sich um ein elektrochemisches Desinfektionsverfahren. Ionen wandern im Gleichspannungsfeld zu den jeweils entgegengesetzt geladenen Elektroden.

Bei der Elektrolyse in NaCl haltigem Wasser entstehen außer freiem Chlor als größter Mengenanteil zusätzlich Chlordioxid, Wasserstoffperoxid und andere Oxidantien, die kurzlebig sind (Kramer u. Assadian 2008). Mit dem sog. MIOX-Verfahren zeigte Venczel et al. (1997), dass das elektrolytisch hergestellte Gemisch im Vergleich zu alleinigem freiem Chlor eine höhere Desinfektionswirkung aufweist.

Laut TrinkwV (§ 11, UBA 2006) ist die elektrolytische Herstellung von Chlor in einer Anlage vor Ort erlaubt.

Vorteile dieses Desinfektionsverfahrens sind die geringen Kosten, die Möglichkeit der Herstellung vor Ort, das breite Spektrum antimikrobieller Aktivität - darunter sporozide Wirkung - aber auch die geringe Toxizität (McDonnell 2007).

Ein Nachteil, der auch in der unten vorgestellten Studie auftrat, ist die schädigende Wirkung auf Oberflächenmaterialien. Die Korrosion von Metallen wie rostfreiem Stahl kann begünstigt oder Polyurethane können über mehrere Anwendungen beschädigt werden (McDonnell 2007).

Ein weiteres Problem ist die variable Zusammensetzung der entstehenden Reaktionsprodukte auf Grund der unterschiedlichen Trinkwasserqualität.

Kohlendioxid

Kohlendioxid (CO₂) zur Desinfektion macht sich die Industrie vor allem im sog. überkritischen Zustand zunutze: Erhitzt man Flüssigkeiten oder Gase unter Druck, geraten sie schließlich oberhalb ihrer jeweiligen kritischen Temperatur und ihres kritischen Drucks in den so genannten überkritischen Zustand. Dieser zeichnet sich gegenüber echten Flüssigkeiten nicht nur durch die geringere Dichte, viel niedrigere Viskosität und viel höhere Diffusionskoeffizienten aus, sondern vor allem durch ein hervorragendes Lösungsvermögen. Des Weiteren ist vorteilhaft, dass das Lösungsmittel durch Reduzieren des Drucks einfach entfernt werden kann (McDonnell 2007).

CO₂ beispielsweise hat eine geringe kritische Temperatur (ca. 31°C) und kritischen Druck (ca. 7,300 kPa) und wird als sicher (ungiftig, nichtentzündbar) bewertet.

Diese überkritischen Flüssigkeiten werden besonders für die Extraktion und Purifikation von verschiedenen Chemikalien einschließlich Öle, Düfte, Pigmente und Lipide verwendet. Sie

werden außerdem für die Präzisionsreinigung von komplizierten oder komplexen Materialien bei industriellen Anwendungen genutzt (McDonnell 2007).

Vorteile der überkritischen Flüssigkeiten sind, dass es sich um „trockene“ Prozesse mit einer guten Reinigungsaktivität handelt. Sie benötigen relativ kurze Einwirkungszeiten (5-15 min) für Präzisionsanwendungen und die Behandlungskosten sind gering (McDonnell 2007).

Vergleichsweise hoch sind die Ausstattungskosten. Nachteilig ist außerdem die Inkompatibilität mit bestimmten Kunststoffen (McDonnell 2007).

Studien über die antimikrobielle Wirkung des überkritischen CO₂ zeigten eine langsame bakterizide, fungizide und sporizide Aktivität (McDonnell 2007).

Zur Inaktivierung von bakteriellen Sporen nutzten Watanabe et al. (2003) eine Hochdruckbehandlung mit CO₂. Zusätzlich verglichen sie diese in ihrer Studie mit anderen Sterilisationsmethoden wie Hitze und Druckbehandlung. Alle bakteriellen Sporen bis auf hoch Hitze- und Druck resistente *G. stearothermophilus* Sporen konnten durch die Hitzebehandlung bei 95°C inaktiviert werden. Letztere waren aber nicht die resistentesten gegenüber der CO₂ Behandlung. Des Weiteren wurde herausgefunden, dass o.g. Sporen effektiver mit der Kombination aus Temperatur- (95°C) und CO₂ Behandlung zu eliminieren waren als nur durch die Temperaturbehandlung.

Auch für die Desinfektion in der Textilbranche spielt die flüssige CO₂ Behandlung eine neue, umweltfreundliche Rolle. Schmidt et al. (2005) berichten von einem Versuch mit *E. coli* auf Textilien als kontaminiertes Material. Pures flüssiges CO₂ bei 20°C und 70 bar hat nur einen geringfügigen Desinfektionseffekt. Dieser wird durch die Kohlensäure, die in Gegenwart des natürlichen Wassergehalts der Baumwolle erzeugt wird, und durch das CO₂ hervorgerufen. Durch die Befeuchtung der Textilien mit Wasser und die anschließende Behandlung mit flüssigem CO₂ kann *E. coli* komplett zerstört werden. Allerdings ist die flüssige CO₂-Behandlung bisher nicht in ZE eingesetzt worden.

Laut Schmidt et al. (2005) werden die besten Ergebnisse in Wasser mit 1 Vol.% Peressigsäure erzielt.

Bei breiterer Anwendung von CO₂ ist allerdings der Einfluss auf den Treibhauseffekt zu beachten.

Wasserstoffperoxid

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) hat seine Bedeutung zur Antiseptik verloren (Kramer et al. 2008). Die Vorteile von H_2O_2 als antimikrobieller Wirkstoff sind die fungizide, sporozide, bakteriozide und virozide Wirkung. Nachteilige Eigenschaften sind vor allem die mögliche destruierende Wirkung gegenüber Materialien, die Zytotoxizität für Wunden und die Instabilität (Hoffmann et al. 2004).

H_2O_2 und Peroxide (letztere bilden in Wasser H_2O_2) dürfen für Trinkwasser nur zur Oxidation, nicht aber zur Desinfektion genutzt werden, da sie im Vergleich zu Chlor, Chlordioxid oder Ozon eine viel weniger desinfizierende Wirkung haben. Lediglich die Desinfektion von außer Betrieb genommenen Brunnen, Anlagen und Rohrleitungen, die nachträglich gespült werden, ist zulässig (lediglich bei der Stoßdesinfektion dürfen auch Desinfektionsmittel eingesetzt werden, die nicht vom UBA gelistet sind, wie beispielsweise H_2O_2).

Die Wirkung der Peroxide beruht vermutlich auf der Zerstörung von Biofilmen (Grohmann 2002).

Purgen

Das sog. Purgen (engl.: to purge = reinigen, säubern, eliminieren) wurde als effektiver Desinfektionsprozess in einer Studie am Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (ZZMK) der Ernst-Moritz-Arndt Universität in Greifswald genutzt (Bachfeld 2009). Prüfeinheiten waren mikrobiell kontaminierte ZE der Firma Sirona. In Übereinkunft mit dem Hersteller wurde eine neue Aufbereitungsabfolge konzipiert: Am Anfang und Ende jedes Arbeitstags fand das Durchströmen der wasserleitenden Teile für 20 min statt. Zusätzlich wurden die zeitlichen Abstände für die Intensivdekontamination von vier auf zwei Wochen verkürzt. Das Ergebnis war eine starke Reduktion der Gesamtkoloniezahl bei der ZE von Sirona. Lediglich die Pilzkontamination konnte zwar auch reduziert, jedoch nicht vollständig eliminiert werden. Das war allerdings auch in ZE anderer Hersteller (KaVo) im ZZMK Greifswald der Fall. In sich anschließenden Untersuchungen nach der systemischen Komplettsanierung wurden jedoch die Anforderungen der TrinkwV (Henninghausen 2001) von allen ZE erfüllt.

Die Desinfektion der Sirona Einheiten wurde mit dem Produkt HUWA-SAN® durchgeführt. Hierfür ist die Wirksamkeit zur Biofilmreduzierung nachgewiesen (Scheel et al. 2006, Szymanska 2006).

Zusammenfassung

Insgesamt ist bei allen dargestellten Desinfektionsmitteln und -methoden festzustellen, dass die Effektivität von Hersteller zu Hersteller bzw. von Verfahren zu Verfahren unterschiedlich zu bewerten ist und von der Dosierung abhängt. Dabei kann eine zu hohe Dosierung zu Materialschäden führen und die Gesundheit des Patienten gefährden (TrinkwV von 2001). Auch in Bezug auf die Wirkung gegenüber verschiedenen mikrobiellen Organismen variieren die oben dargestellten Desinfektionsmittel und -methoden. Die Kosten sind ein weiterer Faktor, der bei den vorgestellten Möglichkeiten stark schwankt.

Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, ein effektives, einfach herzustellendes, kostengünstiges und Material schonendes Desinfektionsmittel zu identifizieren, das die Anforderungen der TrinkwV erfüllt. Dieses Anliegen sollte in der im Folgenden dargestellten Studie untersucht werden.

2. Eigene Untersuchungen

2.1 Methode

2.1.1 Darstellung des Desinfektionsverfahrens auf Basis von PTOCLEAN®

Prinzip des Herstellungsverfahrens ist das Membran-Elektrolyseverfahren (Diaphragmale, ECA). Mittels einer Elektrolysezelle, die als Trennung zwischen Anode und Kathode ein Diaphragma besitzt, lässt sich aus Salzwasser durch selektiven Ionenaustausch an der Anode das hoch oxidative PTOCLEAN® (Anolyt) und an der Kathode die reduzierende Katholytlösung herstellen (WaterClean GmbH 2009). Der Anolyt hat ein hohes Oxidationspotential mit einem Redoxpotential von ca. 1,100 mV. Durch die Erzeugung von verfügbarem Chlor (hauptsächlich Hypochlorsäure) ist er antimikrobiell hoch wirksam (McDonnell 2007).

Andere bei der Elektrolyse von Kochsalz oxygenierte und antimikrobielle Substanzen wie gelöster Sauerstoff, Ozon und Superoxidradikale tragen zu der gesamten antimikrobiellen Effektivität des Anolyts bei (McDonnell 2007).

Durch die hohe Konzentration an aktivierten Molekülen in der Elektrolysezelle kann das PTOCLEAN® mit Wasserpathogenen reagieren. Nach gewisser Zeit tritt die Rekombination zu Salz und Wasser ein (WaterClean GmbH 2009).

Nach Angaben des Herstellers Xen Med AG (2007) (Lieferant: WaterClean GmbH) ist das Produkt PTOCLEAN® eine verdünnte wässrige Lösung mit folgender chemischer Zusammensetzung:

Natriumchlorid	< 1%
Natriumhypochlorit	0,02%
Ozon	0,009%
Wasserstoffperoxid	0,00005%
Sauerstoff	0,0013%.

In Bezug auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften ist PTOCLEAN® eine farblose Flüssigkeit mit leichtem Chlorgeruch und einem pH Wert von ca. 3.

PTOCLEAN® wird bis auf Spuren von NaCl rückstandsfrei abgebaut. Des Weiteren sind keine toxischen Substanzen nachweisbar; die Flüssigkeit ist entsprechend der DIN EN 901, Tabelle1 §11 TVO, zugelassen.

Das Verfahren selbst ist genehmigt nach DVGW, Arbeitsblatt W229 (Abschnitt 6.5.2) (WaterClean GmbH 2009).

Die Methode der Membranzellenelektrolyse mit elektrochemischer Aktivierung zur Herstellung neutralen Natriumhypochlorits, ist ein neues Verfahren und seit August 2007 in die Liste zu §11 TrinkwV 2001 Teil II aufgenommen.

Das Produkt kann mit Wasser verdünnt entsorgt werden.

Die Behälter sollten kühl und trocken gelagert werden.

Da es sich bei dem wasserführenden System der ZE um vergleichsweise geringe Durchmesser der Leitungen handelt, war ein Herstellungsverfahren mit eigenem Gerät vor Ort nicht durchführbar. Deshalb wurde in wöchentlichen Abständen von der Vertriebsfirma geliefertes PTOCLEAN® aus 17 l bzw. 5 l-Einheiten eingesetzt.

Diese Vorgehensweise wurde bereits anderweitig erfolgreich praktiziert (RKI 2002).

2.1.2 Versuchsdurchführung

Versuchdauer und Messintervalle:

Über einen Zeitraum von 7 Monaten wurde wöchentlich das Wasser der Turbinen von drei zahnärztlichen Behandlungsstühlen und des Wasserhahns des Patienten-WC einer Praxis in Greifswald untersucht, deren Wasserleitungen im Ergebnis einer Praxiskontrolle des Gesundheitsamts der Stadt Greifswald, Abteilung Gesundheit vom Landesamt für Gesundheit und Soziales Mecklenburg-Vorpommern, kontaminiert waren.

Tab. 2 Prüfbericht des Gesundheitsamts der Stadt Greifswald (02.10. bzw. 09.10.2008)

ZE	Probenahme	Parameter	Analyseverfahren	Grenzwert	Messwert	Einheit
1¹	Mundspülflüssigkeit	Koloniezahl, 36°C	TrinkwV a.F.	100	780	KbE/1ml
		Pseudomonas aeruginosa	DIN EN 12780	0	0	KbE/100 ml
1	Turbine	Koloniezahl, 36°C	TrinkwV a.F.	100	310	KbE/1ml
		Pseudomonas aeruginosa	DIN EN 12780	0	0	KbE/100 ml
		Legionella species	Empfehlung des UBA		0	KbE/100 ml
3	Mundspülflüssigkeit	Koloniezahl, 36°C	TrinkwV a.F.	100	0	KbE/1ml
		Pseudomonas aeruginosa	DIN EN 12780	0	0	KbE/100 ml
3	Turbine	Koloniezahl, 36°C	TrinkwV a.F.	100	0	KbE/1ml
		Pseudomonas aeruginosa	DIN EN 12780	0	0	KbE/100 ml
		Legionella species	Empfehlung des UBA		0	KbE/100 ml

¹ grau unterlegt = Überschreitung der Grenzwerte der Trinkwasserverordnung

Das Gesundheitsamt untersuchte im Behandlungsraum 1 und 3 stichprobenartig die Mundspülflüssigkeit auf Koloniezahl (36 °C; KbE/1ml) und *P. aeruginosa* (KbE/100ml) sowie die Turbine auf Koloniezahl (36 °C; KbE/1ml), *P. aeruginosa* (KbE/100ml) und *Legionella species* (KbE/100ml) (Witte 2008). Untersuchungsumfang war die TrinkwV von 2001 (Tab. 2).

Vor Beginn der Prüfperiode mit Einsatz von POTOCLEAN® (13.12.2008-10.06.2009) wurden im Zeitraum 29.10.-13.12.2008 drei weitere Proben gezogen, um repräsentative Ausgangswerte zu erhalten (Tab. 3).

Tab. 3 Übersicht über Probenahmen und Analysen der 3 ZE für die Ausgangswerte vor der Prüfperiode

Termin (Tag Nr.)	Mikrobiologie
29.10.2008 (0)	1, 2, 3*
05.11.2008 (7)	1, 2, 3
13.12.2008 (45)	1, 2, 3

* 1 = ZE 1; 2 = ZE 2; 3 = ZE 3

Tab. 4 Übersicht über Probenahmen und Analysen für die 4 Beprobungseinheiten (3 ZE und 1 Waschbecken (Patienten-WC)) in der Prüfperiode

Termin (Tag Nr.)	Redoxpotential	Gesamtchlorgehalt	Mikrobiologie
19.12.2008** (51)	1, 2, 3, WC*		1, 2, WC
22.01.2009 (85)			1, 2, 3, WC
02.02.2009** (96)	1, 2, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
04.02.2009 (98)	1, 2, 3, WC		1, 2, 3, WC
06.02.2009 (100)	1, 2, 3, WC		1, 2, 3, WC
09.02.2009 (104)	1, 2, 3, WC		1, 2, 3, WC
11.02.2009 (106)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
19.02.2009 (114)		1, 2, 3	1, 2, 3, WC
25.02.2009 (120)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
04.03.2009 (127)		1, 2, WC	1, 2, WC
11.03.2009 (134)	1, 2, WC		1, 2, WC
18.03.2009 (141)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
24.03.2009 (147)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, WC
25.03.2009** (148)	1, 2, 3, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
01.04.2009 (155)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
08.04.2009 (162)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
16.04.2009 (170)	1, 2, 3, WC		1, 2, 3, WC
22.04.2009 (176)	1, 2, WC		1, 2, WC
29.04.2009 (183)	1, 2, WC		1, 2, WC
06.05.2009 (190)	1, 2, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
13.05.2009 (197)	1, 2, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
20.05.2009 (204)	1, 2, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
27.05.2009 (211)	1, 2, WC	1, 2, WC	1, 2, WC
03.06.2009 (218)	1, 2, WC		1, 2, WC
10.06.2009 (225)	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC
23.02.2010***	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC	1, 2, 3, WC

* 1 = ZE 1; 2 = ZE 2; 3 = ZE 3; WC = Patienten-WC

** Stoßdesinfektion

*** Kontrollmessung

Die Installation der Dosieranlage für das POTO CLEAN® fand am 13.12.2008 am Eingang des gesamten Trinkwassernetzes der Praxis hinter dem Enthärter statt.

An drei zusätzlichen Terminen wurden Stoßdesinfektionen in einem Zeitraum von je ca. 2,5 h durchgeführt. Hierzu wurde die Impulszahl der Pumpe von 1 auf 60 Impulse erhöht. Die Konzentration von POTO CLEAN® wurde also von 5% auf 30% pro Liter um den Faktor 6 erhöht. Der Zapfstopp fand nach Erreichen max. mV-Werte (~ 720 mV) statt.

Anschließend wurden die hohen Konzentrationen durch Spülung wieder aus dem Leitungsnetz entfernt, bis sich laut Redox- und Chlormessungen wieder die ursprünglichen Werte einstellten. Während der Maßnahme durfte kein Trinkwasser entnommen werden.

Nach Installation der Dosieranlage wurden 25 Proben gezogen. 8 Monate nach der letzten Probenahme wurde eine letzte Kontrollmessung am 23.02.2010 durchgeführt (Tab. 4).

Zur Beprobung standen 3 ZE zur Verfügung, die sich insbesondere im Hinblick auf ihr Alter und ihre Bauweise unterscheiden (Totleitungen, Materialien etc.). Es wurde sichergestellt, dass alle 3 ZE gleichmäßig frequentiert waren. Zusätzlich wurde Wasser aus dem Handwaschbecken (Wasserhahn) des Patienten WC entnommen.

Probenahme

Die Wasserproben wurden aseptisch nach Wischdesinfektion der Turbinenaufsätze und des WC-Wasserhahns (70%iges Ethanol) den Wasserschläuchen der Turbinen und dem Wasserhahn des Patienten-WCs nach 30 s Wasserlaufzeit entnommen. Die Entnahme erfolgte direkt in thermosterilisierte, gekühlte Behälter mit Natriumthiosulfat zum Transport in die Hygiene Nord GmbH Greifswald. Natriumthiosulfat dient der Neutralisation des restlichen Chlors im Probenwasser, um die Wirkung des Chlors zu stoppen.

Die Menge des abgefüllten Probenwassers betrug anfangs 1000 ml Probenwasser, später 50 ml Probenwasser (letzteres entspricht SOP 2-03 2007).

Mikrobiologische Diagnostik

Die mikrobiologische Diagnostik erfolgt nach DIN 38411, Teil I (1983), DIN EN ISO 6222 (1999), DIN EN ISO 9308-1 (2001) und der TrinkwV (1990).

Die Bearbeitung der Trinkwasserproben erfolgt unverzüglich nach Probenannahme, spätestens innerhalb von 1 h.

Gemessen wurden die Parameter Gesamtkoloniezahl (GKZ/ml) bei 20 °C und 36 °C Bebrütung, Hefen [KbE/10ml], Coliforme/ E.coli/ P. aeruginosa [KbE/100ml] und Legionella spp. [KbE/1000ml].

Ab dem 01.04.2009 (Tag 155) werden die GKZ Befunde zur besseren Abschätzung von Tendenzen konkret angegeben und nicht mehr bei den üblichen 300 KbE/ml gedeckelt.

Bezüglich der Hefen [KbE/10ml] beschreiben die im Diagramm angegebenen 300 KbE/10ml einen Mindestwert (also >300 KbE/10ml), der teilweise weit über diesen Wert hinausging.

Es wurde ca. acht Monate nach der letzten Messung eine Kontrollmessung am 23.02.2010 durchgeführt, um eventuelle Veränderungen der Chlor-, Redox- und Mikrobiologiewerte festzustellen. Diese Werte sind nicht in den Abbildungen enthalten. Sie werden im Text kommentiert (s. Kapitel 2.2.2). Insgesamt fanden keine auffälligen Abweichungen statt.

Die Bestimmung der GKZ bei 20 und 36 °C erfolgte entsprechend der Anlage 1 Nr. 5 TrinkwV von 1990 (SOP 2-03 2007).

Die prolongierte Inkubation (Untersuchung nach 24 bzw. - falls dann noch kein Ergebnis vorliegt - nach 48 h) bei unterschiedlichen Temperaturen (20 bzw. 36 °C) ermöglicht das Wachstum eines großen Bakterienspektrums, da jede Spezies ihr eigenes Optimum hat.

Zur Bestimmung der GKZ wurde je 1 Gussplatte (10 ml DEV Agar, 48 °C, 1 ml Wasser) gegossen; die aerobe Inkubation findet bei 20 ± 2 °C und 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h statt. Die GKZ wurde ermittelt, indem die Zahl der mit 6- bis 8facher Lupenvergrößerung sichtbaren Kolonien der bei 20 ± 2 °C bzw. 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h bebrüteten DEV Agar-Platten bestimmt wurde.

Die Bestimmung von E. coli und Coliformen erfolgte nach dem Membranfiltrationsverfahren laut DIN EN ISO 9308-1 (2001). Bei dem Nachweis und der Zählung unterscheidet man den Standardtest (Referenzverfahren) und den optionalen Schnelltest. Der bei der Analyse angewandte Standardtest verläuft wie folgt: 100 ml Probe werden durch eine Membran

filtriert, die mit einer sterilen Pinzette entnommen und auf Lactose-TCC-Agar ohne Einschluss von Luftblasen gelegt wird. Das Medium wird mit der Membran für 21 ± 3 h bei 36 ± 2 °C inkubiert. Eine Verlängerung entfällt. Alle gelben Kolonien auf der Unterseite der Membran werden als Lactose-positiv gewertet. Bestätigt wird das durch Oxidasereaktion und Indoltest. Ist der Reaktionsausfall fraglich, werden Subkulturen der typischen Kolonien auf CSA (Casein-Sojamehl-Pepton-Agar) und in Tryptophan-Bouillon angelegt. CSA wird bei 36 ± 2 °C über 21 ± 3 h inkubiert. Der Oxidase Test wird mit den gewachsenen Kolonien durchgeführt. Bei dem Gebrauch von Tryptophan Bouillon für den Indoltest wird bei $44 \pm 0,5$ °C über 21 ± 3 h inkubiert und mit 0,2 bis 0,3 ml Kovac's Reagenz untersucht (positiv bei kirschroter Farbentwicklung an der Oberfläche). Alle Kolonien mit negativer Oxidase-Reaktion werden unabhängig von der Indolreaktion als Coliforme und alle Kolonien mit negativer Oxidase-Reaktion bei positivem Indol-Test als *E. coli* gewertet. Bei der Auswertung erfolgt die Angabe als Coliforme/ *E. coli*/ GKZ entsprechend der Ergebnisse der Identifizierungsreaktionen.

Für die Ergebnisübermittlung gilt die SOP 02-03 der Hygiene Nord GmbH (2007) (s. Anhang).

Da es für die Bestimmung von Hefen und Pilzen im Trinkwasserbereich keine Norm gibt, wurde die Filtration analog zu *E. coli* und Coliformen gemacht. Das Filter wurde aber auf Malzextrakt-Agar (MEA) aufgelegt und bei 30 °C bis zu 5 d bebrütet. Anschließend wurden die Kolonien gezählt. Weitere Differenzierungs- oder Bestätigungsreaktionen sind für die globale Aussage 'Hefen oder Pilze' nicht nötig.

Die Untersuchung von *P. aeruginosa* erfolgt mit Hilfe des Membranfiltrationsverfahrens nach DIN EN 12780. Eine 100 ml Probe wird membranfiltriert. Das Filter wird auf Pseudomonas Selektivagar, dem Cetrimid-Agar (CN-Agar), aufgebracht und die Platten bei 36 ± 2 °C über 44 ± 4 h inkubiert. Nach 22 ± 2 h und nach 44 ± 4 h werden die Membranfilter visuell auf Koloniewachstum untersucht und alle blau-grünen Kolonien als *P. aeruginosa* gewertet und gezählt. Unter UV-Licht werden die Membranfilter untersucht. Die nicht Pyocyanin produzierenden fluoreszierenden Kolonien werden als verdächtige *P. aeruginosa* gezählt. Nach Anzucht in Acetamid-Nährlösung wird das bestätigt. Werden rotbraune Kolonien ohne Fluoreszenz nachgewiesen, können diese als verdächtige *P. aeruginosa* durch Oxidase-Test, Acetamid-Nährlösung und Subkultur auf King's B Medium bestätigt werden, indem Subkulturen der Kolonien von CN-Agar auf Nähragar angelegt und bei 36 ± 2 °C über 22 ± 2

h inkubiert werden. Der Oxidase-Test dient zur Prüfung der Kolonien auf der Nähragarplatte. Ein Oxidase positives Ergebnis deutet auf vorhandene *P. aeruginosa* hin. Es folgt die Subkultivierung der Kolonien auf King B Agar und die Inkubation von 36 ± 2 °C bis zu 5 d unter UV-Licht. Bei Auftreten von Fluoreszenz wird positiv gewertet. Die Subkulturen werden von der Nähragarplatte in Röhrchen mit Acetamid-Nährlösung angelegt und bei 36 ± 2 °C über 22 ± 2 h inkubiert, um die Bildung von Ammoniak zu prüfen. Werden 1-2 Tropfen Nessler's Reagenz hinzugegeben, erfolgt die Produktion von Ammoniak. Bei Auftreten eines gelblich bis ziegelroten Farbstoff wird *P. aeruginosa* bestätigt. Zusammenfassend können *P. aeruginosa* bei der Auszählung aller Kolonien bestätigt werden, die Pyocyanin bilden oder Oxidase positiv sind und unter UV-Licht und aus Acetamid Ammoniak bilden (Tab. 5).

Tab. 5: Bestätigungsschritte nach DIN EN 12780 für auf CN-Agar gewachsene Kolonien

Beschreibung der Kolonien auf CN-Agar	NH₃-Bildung aus Acetamid	Oxidase positiv	Fluoreszenz auf King B's Medium Agar	bestätigt als <i>P. aeruginosa</i>
<i>Blaugrün</i>	nb*	nb	Nb	ja
<i>Fluoreszierend</i>	+	nb	Nb	ja
<i>Rötlich braun</i>	+	+	+	ja
<i>Andersfarben</i>	Nb	nb	Nb	nein

* nicht bestimmt

Derzeit gibt es in Deutschland kein genormtes Verfahren zum Legionellennachweis. Daher gelten die Empfehlungen des UBA von 2006. 1000 ml Wasserprobe werden filtriert, auf deren Filter Säurepuffer (HCl/KCl-Puffer, pH 2,2) aufgetropft wird. Dieser wirkt über 5 min ein, wird dann über dem Filter abgesaugt und schließlich mit 10 ml sterilem destilliertem Wasser gespült. Auf dem Legionellen-Selektivagar, dem Glycin-Vancomycin-Polymyxin B-Cycloheximid-Agar (GVPC-Agar), werden die Filter aufgelegt und über 7 d unter microaerophilen Bedingungen (10% CO₂-Anteil, z.B. im Kunststoffbeutel) bebrütet. Visuell werden die Kolonien nach 48 h Bebrütung und anschließend täglich auf typisches Koloniewachstum untersucht. Eine Subkultivierung verdächtiger Kolonien wird auf

Columbia-Blutagarplatten (5% Schlafblutzusatz) durchgeführt. Sollte ein ausschließliches Wachstum auf Legionellen-Selektivagar der Fall sein, wird der Latexagglutinationstest (Agglutination mit spezifischen Antiseren auf Objektträgern) durchgeführt. Die Ablesung erfolgt visuell.

Fäkalstreptokokken („Enterokokken“) werden nach DIN EN ISO 7899-2 mit dem Membranfiltrationsverfahren nachgewiesen. Eine 100 ml Probe wird bei 36 ± 2 °C über 44 ± 4 h inkubiert, nachdem sie auf Slanetz-Bartley Agar aufgebracht wurde. Verdächtig gewertet werden diejenigen Kolonien, die eine rote, kastanienbraune oder rosa Färbung aufweisen. Um das zu bestätigen und zu zählen, werden Membranfilter von Slanetz-Bartley Agar auf Galle-Äsculin-Azid-Agar überführt und bei $44 \pm 0,5$ °C über 2 h inkubiert. Als intestinale Enterokokken werden alle Kolonien mit gelbbrauner bis schwarzer Färbung im umgebenden Medium gezählt.

Elektrochemische Diagnostik

Zusätzlich zur mikrobiologischen Diagnostik wurden ebenfalls wöchentlich Redox- und Chlorwerte gemessen.

Chlorwerte werden überprüft, um nachvollziehen zu können, wie viel anteiliges Chlor aus dem eingespeisten POTO CLEAN® über die Wasserleitungen an den Enden der Leitungen (Turbine, Multifunktionsspritze, Mundspülwasser, Wasserhähne, etc.) ankommt und ob sich die Chlorwerte innerhalb der von dem UBA festgelegten Grenze befinden. Um das sicherzustellen wurde der im Folgenden beschriebene LANGE Küvetten-Test LCK310 (HACH LANGE GmbH, Düsseldorf) angewandt. Für die Gesamtchlorwerte muss pro Probe 4 min gerechnet werden. Ein mit DPD (N,N-Diethyl-p-phenylendiamin) bestücktes Reagenzglas wird mit dem Probenwasser bis 1 cm unterhalb des Glasrands gefüllt, mit einem Pfropfen verschlossen und 2 min geschüttelt. Das Reaktionsprinzip besteht darin, dass Chlor N,N-Diethyl-p-phenylendiamin (DPD) in schwach saurer Lösung zu einem roten Farbstoff vom Typ „Wursters Rot“ oxidiert. Es entstehen Reaktionsprodukte mit semichinoider Struktur (HACH LANGE GmbH 2007). Dazu werden drei Tropfen Kaliumiodid aus einem separaten Gefäß gegeben und wieder wird 2 min geschüttelt. Das Kaliumiodid setzt das gebundene Chlor frei und der Gesamtchlorgehalt kann gemessen werden. Der Anteil gebundenes Chlor ist die Differenz zwischen Gesamtchlor und freiem Chlor, das vor der Zugabe von Kaliumiodid bestimmt wurde (HACH LANGE GmbH 2007). In unserer Studie handelt es sich beim freien Chlor hauptsächlich um Natriumhypochlorit. Anschließend wird

der Gesamtchlorwert [mg/ml] mit dem LASA 100 (HACH LANGE GmbH, Düsseldorf) mit Reagenzien für den Messbereich von 0,05 - 2 mg/l gemessen.

Die Redoxwerte (Kurzbezeichnung für Reduktions-Oxidations-Werte) [mV] werden mit einer geeichten Messelektrode ermittelt. Das in diesen Untersuchungen genutzte Gerät war ein GPRT 1400 AN (GREISINGER electronic GmbH, Regenstauf). Das Redoxsystem ist ein System aus Elektronenaufnahme und -abgabe (Oxidations- und Reduktions-Mittel). Die Redoxmittel reagieren bis zur Einstellung eines Gleichgewichts miteinander. Die Oxidationskraft wird durch das Redoxpotential ausgedrückt. Je höher dieses Maß für das Oxidations- bzw. Reduktionsvermögen eines Redoxsystems ist, desto höher die Oxidationskraft. Redoxwerte werden – wie bei dieser Studie - durch Messung der Spannung oder kolorimetrisch mit sog. Redoxindikatoren (z.B. Neutralrot) bestimmt (de Gruyter 2002). Der in reinem POTO CLEAN® gemessene Redoxwert beträgt ca. 1200 mV, in unbehandeltem Turbinenwasser 250 mV.

Dosierung von POTO CLEAN®

Die Arbeitsweise der Pumpe funktioniert folgendermaßen: Während des täglichen Praxisbetriebs läuft die Pumpe auf 1 Impuls pro Liter (Durchflusszähler). Pro Impuls werden 5 g (5 ml) POTO CLEAN® gepumpt. Daraus ergibt sich ein Anteil von 5 % POTO CLEAN® pro Liter und eine Verdünnung von 1:200. Bei einem Grundgehalt von 200 mg Chlor pro Liter ergibt sich für die verdünnte Lösung 1 mg Chlor pro Liter (0,0001 %; 1 ppm). Pro Sekunde kann eine Portion gepumpt werden. Daher ergibt sich als maximale Einstellmöglichkeit 60 Portionen pro min. Fließt ein Liter, können maximal 300 g POTO CLEAN® gepumpt werden. Das entspricht 30 %, also 60 mg Chlor pro Liter (0,006 %; 60 ppm). Zulässig sind laut UBA allerdings nur 1,2 mg pro Liter. Somit wird der Grenzwert bei den Stoßdesinfektionen überschritten. Das Pumpen erfolgt immer erst nach 1 Liter Wasserdurchlauf. Wird die Wasserzufuhr gestoppt, steht das Chlor an der Impfstelle.

2.2 Ergebnisse

2.2.1 Redoxwerte

Zusammenfassung der Ergebnisse der Stoßdesinfektionen

Es wurden insgesamt drei Stoßdesinfektionen durchgeführt (19.12.2008, 02.02.2009, 25.03.2009). Bei jeder Intensivdesinfektion wurden in zeitlichen Abständen (u.a. abhängig von der Änderung der Impulszahl) die Redoxwerte gemessen, um daraus abzuschätzen, ob die Stoßdesinfektion zur Erhöhung der Redoxwerte führt und genug POTOCLEAN® (mit entsprechend hohem Redoxpotential) an den Wasserentnahmestellen ankommt bzw. um festzustellen, wie hoch die Zehrung im System war.

Bei der ersten Stoßdesinfektion (19.12.2008) wurden an den Handwaschbecken in den Behandlungsräumen, im Aufenthaltsraum und im Sterilisations-Raum in weniger als 10 min hohe Redoxwerte erreicht, nicht jedoch am Handwaschbecken im Patienten-WC (Tab. 9).

Hohe Redoxwerte wurden auch relativ schnell im Beckenspülwasser der 3 ZE erreicht (Tab. 6, 7, 8).

Abgesehen vom Turbinenwasser von ZE 1 ist an den sonstigen Zapfstellen aller ZE (Turbine, Multifunktionsspritze, Mundspülwasser) keine Zunahme des Redoxwertes zu verzeichnen, was durch Biofilm-Zehrung bedingt sein könnte (Tab. 6, 7, 8).

Beim Wasser aus der Turbine (ZE 1) steigen bzw. sinken die Redoxwerte mit steigender bzw. sinkender Impulszahl (Tab. 6). Auch die Werte des Beckenspülwassers korrelieren mit der Erhöhung der POTOCLEAN® Dosierung. Bei den übrigen Entnahmestellen (Multifunktionsspritze, Mundspülwasser) zeigen sich einheitliche Werte von 400-420 mV, was auf eine Biofilm-Zehrung hinweisen könnte. Die Werte des Turbinenwassers sind im Vergleich zu den Werten der anderen Auslässe von Anfang an niedriger (250 mV im Vergleich zu 400-420 mV). Der Biofilm war also vor der Stoßdesinfektion beim Turbinenwasser größer.

Tab. 6 ZE 1, Redoxpotential

Dosierung	Zeit	Redoxpotential [mV] der Wasserproben an den Entnahmestellen; Messung am Ende des angegebenen Zeitraums			
		Turbine	MFS**	Mundspülwasser	Beckenspülwasser
Keine	0 (vor der Stoßdesinfektion)	250	400-420	400-420	400-420
10 Impulse / min	1 – 10 min	250	400-420	n.b.	400-420
60 Impulse / min	11 – 60 min	620	400-420	400-420	~ 750
Min	61 – 90 min	n.b.*	n.b.	n.b.	n.b.
	91 - 120 min (Ende der Stoßdesinfektion)	610	400-420	400-420	n.b.
1 Impuls / min	120 - 130 min	250	400-420	400-420	n.b.

* nicht bestimmt; ** Multifunktionsspritze

Bei der zweiten Stoßdesinfektion am 02.02.2009 lagen die Werte der ZE 1 bei der Turbine zu Beginn bei 200 mV (1 Impuls/min). Mit Erhöhung der Impulszahl stiegen die Werte auf ein Maximum von 780 mV. Beim Mundspülwasser war es ähnlich. Die Werte stiegen bei Erhöhung der Impulszahl auf 785 mV. Das Redoxpotential des Beckenspülwassers stieg von 715 auf 812 mV bei 60 Impulsen/min und sank bei Erniedrigung auf 1 Impuls/min auf 780 mV.

Am 25.03.2009 (dritte Stoßdesinfektion) lag das Redoxpotential vor der Intensivdesinfektion (1 Impuls/min) bei 126 mV. Bei höchster Impulszahl (60/min) wiesen Turbine und Mundspülwasser Potentiale von 796 mV (Turbine) und 809 mV (Mundspülwasser) auf. Zum Ende der Stoßdesinfektion (1 Impuls/min) wurde ein Wert von 189 mV beim Turbinenwasser gemessen.

Während der ersten Stoßdesinfektion (19.12.2008) blieb an ZE 2 das Redoxpotential des Turbinenwassers – wie auch das der Multifunktionsspritze und des Mundspülwassers - trotz Erhöhung und anschließender Senkung der Impulszahl (Menge des POTO CLEAN®) konstant bei 250 mV (Tab. 7). Lediglich das Beckenspülwasser zeigte mit Erhöhung der POTO CLEAN® Dosis einen Anstieg des Redoxpotentials.

Tab. 7 ZE 2, Redoxpotential

Dosierung	Zeit	Redoxpotential [mV] der Wasserproben an den Entnahmestellen; Messung am Ende des angegebenen Zeitraums			
		Turbine	MFS**	Mundspülwasser	Becken- spülwasser
Keine	0 (vor der Stoß- desinfektion)	250	250	250	250
10 Impulse / min	1 – 10 min	250	250	250	400-420
60 Impulse / min	31 – 60 min	250	250	250	~ 750
	61 – 90 min	n.b.*	n.b.	n.b.	n.b.
	91 – 120 min (Ende der Stoß- desinfektion)	250	250	250	n.b.
1 Impuls / min	120 - 130 min	250	250	250	n.b.

*nicht bestimmt; **Multifunktionsspritze

Die zweite Stoßdesinfektion (02.02.2009) bei ZE 2 lieferte Anfangswerte des Turbinenwassers von 200 mV, die über 500 mV bis auf 790 mV bei höchster Impulszahl (60/min) stiegen. Redoxwerte von 830 mV lagen bei maximaler Impulszahl bei Mund- und Beckenspülwasser vor.

Vor der letzten Stoßdesinfektion (25.03.2009) wurde ein Redoxwert von 121 mV bei der Turbine der ZE 2 gemessen. Die Werte stiegen auf bis zu 786 mV bei 60 Impulsen/min. Das Mundspülwasser zeigte einen Höchstwert von 820 mV. Am Ende der Stoßdesinfektion wurde bei 1 Impuls/min ein Redoxpotential von 198 mV beim Turbinenwasser gemessen.

An ZE 3 wurde nur das Redoxpotential gemessen (Tab. 8). Der Verlauf ist wie bei ZE 2. Nur das Beckenspülwasser weist steigende Redoxwerte bei gleichzeitig steigender Impulszahl auf. Es bleibt zu erwähnen, dass bei der dritten Stoßdesinfektion (Tag 148 bzw. 25.03.2009) ein ähnlich niedriger Wert aufgezeichnet wurde (264 mV) und auch bei den übrigen wöchentlichen Routinemessungen das Niveau des Redoxpotentials gleich blieb (Abb. 8 auf S.43).

Tab. 8 ZE 3, Redoxpotential

Dosierung	Zeit	Redoxpotential [mV] der Wasserproben an den Entnahmestellen; Messung am Ende des angegebenen Zeitraums			
		Turbine	MFS**	Mundspülwasser	Beckenspülwasser
Keine	0 (vor der Stoßdesinfektion)	250	250	250	250
10 Impulse / min	1 – 30 min	250	250	250	400-420
60 Impulse / min	31 – 60 min	250	250	250	~ 750
	61 – 90 min	n.b.*	n.b.	n.b.	n.b.
	91 - 120 min (Ende der Stoßdesinfektion)	250	250	250	n.b.
1 Impuls / min	120 - 130 min	250	250	250	n.b.

*nicht bestimmt; **Multifunktionsspritze

Bei der Wasserprobe aus dem Wasserhahn des Waschbeckens im Patienten-WC ist ähnlich wie bei den ZE keine wesentliche Zunahme des Redoxpotentials über die Einwirkzeit erkennbar (Tab. 9).

Die ZE 3 wurde in die Messungen der zweiten und dritten Stoßdesinfektion nicht mit einbezogen, da die vorausgegangenen Werte keinen Anlass dazu gaben.

Bei den Auslässen der Handwaschbecken und Spülbecken findet ein einheitlicher Anstieg des Redoxpotentials mit der Erhöhung der Impulszahl statt (Tab. 9). Das zeugt von einer einheitlichen Leitungsquelle, dessen Leitungen - in Bezug auf das Redoxpotential - keine wesentliche POTO CLEAN®-Zehrung aufweist und somit nicht auf einen Biofilm hinweist.

Tab. 9 Sonstige Zapfstellen der Praxis, Redoxpotential

Dosierung	Zeit	Redoxpotential [mV] der Wasserproben an den Entnahmestellen; Messung am Ende des angegebenen Zeitraums					
		HWB* Behandl.- Raum 1	HWB Behandl.- Raum 2	HWB Behandl.- Raum 3	HWB Patienten -WC-	Spüle Steri- Raum	Spüle Aufent- halts- Raum
Keine	0 min (vor der Stoßdesinfektion)	~ 250	~ 250	~ 250	~ 250	~ 250	~ 250
10 Impulse / min	1 – 10 min	~ 550	~ 550	~ 550	~ 250	~ 550	~ 550
	11 – 60 min	~ 720	~ 720	~ 720	~ 250	~ 720	~ 720
60 Impulse / min	61 – 90 min	n.b.**	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	91 - 120 min (Ende der Stoßdesinfektion)	n.b.	n.b.	n.b.	320	n.b.	n.b.
1 Impuls / min	120 - 130 min	n.b.	n.b.	n.b.	< 320	n.b.	n.b.

HWB* Handwaschbecken; n.b.** nicht bestimmt

Das Handwaschbecken des Patienten-WC wies bei der zweiten Stoßdesinfektion zu Beginn einen Wert von 209 mV auf, der auf einen Höchstwert von 780 mV (60 Impulse/min) stieg. Bei der dritten großen Desinfektion liegt dieser Höchstwert bei 310 mV. Der Anfangswert betrug 135 mV.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Messungen in der Hauptperiode

Im Folgenden sind die Ergebnisse der elektrochemischen Messungen aufgezeichnet und dokumentiert. Dabei wurde auf ein Säulendiagramm verzichtet und zur besseren Visualisierung die Punkte durch Linien verbunden. Gleiches gilt für die Graphiken in Kapitel 2.2.2. Die schwarzen Pfeile in den Graphiken zeigen jeweils die Werte, die nach den Stoßdesinfektionen gemessen wurden, d.h. nachdem die Impulszahl auf 1 Impuls/min reduziert wurde und sich entsprechend Redox- und Chlorwerte einstellten, die die Grenzwerte nicht überschritten. Im Text werden die Höchstwerte während der Stoßdesinfektionen kommentiert.

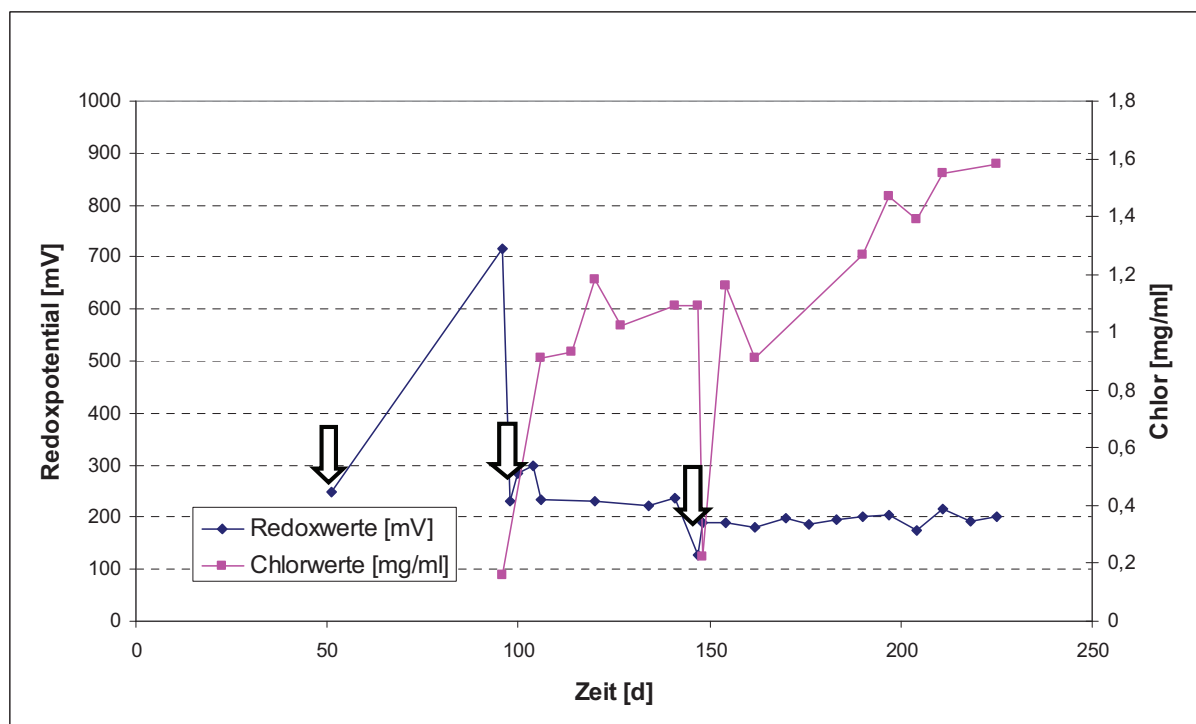


Abb. 1 ZE 1, **Turbine**: Redox- und Chlorwerte; schwarzer Pfeil = Stoßdesinfektion

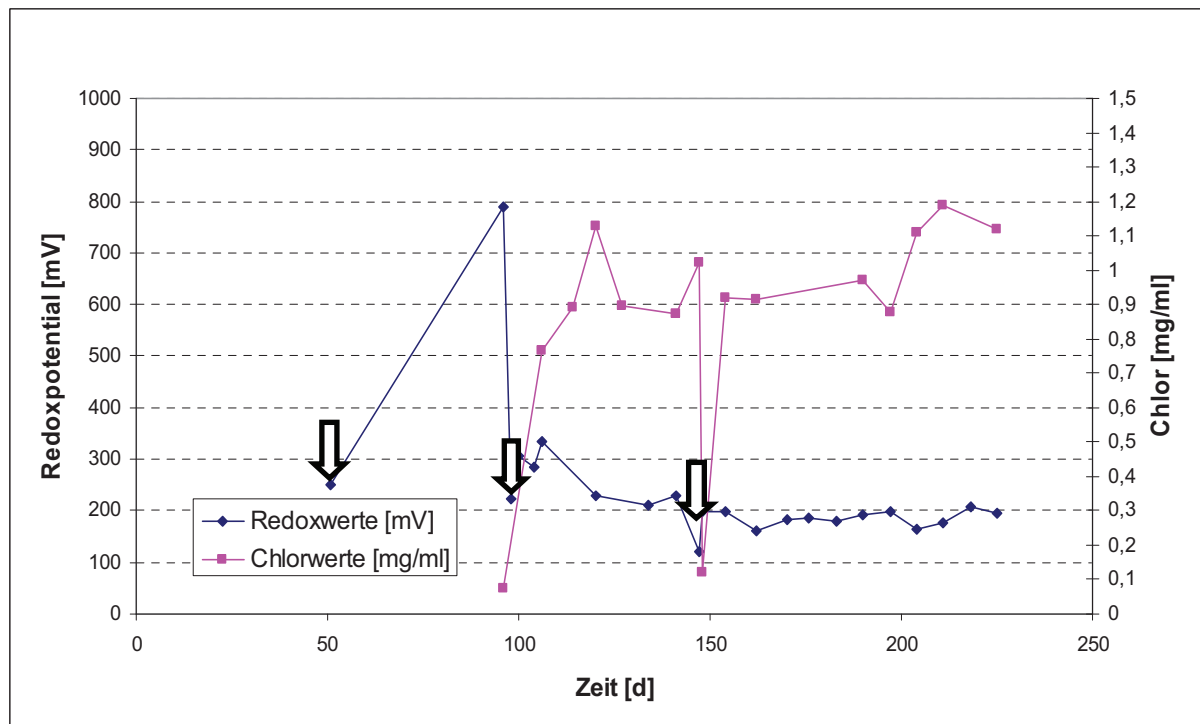


Abb. 2 ZE 2, **Turbine**: Redox- und Chlorwerte; schwarzer Pfeil = Stoßdesinfektion

Überwiegend steigende Redox- bzw. Chlorwerte zeigen sich unmittelbar nach den Stoßdesinfektionen (Abb. 1 und 2) und können folgendermaßen erklärt werden: Bei den Stoßdesinfektionen wurden deutlich höhere Konzentrationen an Chlor (siehe Inhaltsstoffe PTOCLEAN®; Erhöhung der Impulszahl auf 60 Impulse/min) durch die Schläuche geleitet. Dabei konnten einige Teile des Biofilms an das Natriumhypochlorit gebunden werden (Chlorzehrung), was auch die hohen Werte der mikrobiellen Kontamination nach den Stoßdesinfektionen erklärt. Es wurde zwar darauf geachtet, dass die Redox- und Chlorwerte unmittelbar nach diesen Intensiv-Desinfektionsereignissen wieder auf ihr ursprüngliches Niveau fallen, allerdings ist die Chlorzehrung nach der Stoßdesinfektion geringer, d.h. die gemessenen Gesamtchlorwerte steigen, da Teile des Biofilms gelöst werden konnten. Höchstwerte während der Stoßdesinfektionen waren 4,58 mg/l an ZE 1 bzw. 7,14 mg/l an ZE 2 bei der zweiten Intensivdesinfektion (02.02.2009) (vgl. Redoxwerte während der Stoßdesinfektionen in Kapitel 2.2.1).

Bei der Kontrollmessung (etwa acht Monate nach der letzten Messung) verhalten sich die ZE 1 und 2 unterschiedlich: Bei ZE 1 sinkt der Gesamtchlorgehalt von 1,58 (Tag 225) auf 1,37 mg/ml. Das Redoxpotential steigt jedoch von 200 (Tag 225) auf 242 mV am Tag der Kontrollmessung. Bei ZE 2 lässt sich ein steigender Gesamtchlorgehalt von 1,12 (Tag 225) auf 2,02 mg/ml beobachten. Der Redoxwert steigt ebenfalls von 196 (Tag 225) auf 239 mV. Die ZE 2 hat in Bezug auf das interne Wassernetzwerk die kürzesten Leitungen zu dem

Einspeisungsort des POTOCLEAN®. Dies könnte der Grund für die dauerhaft hohen Gesamtchlorwerte sein.

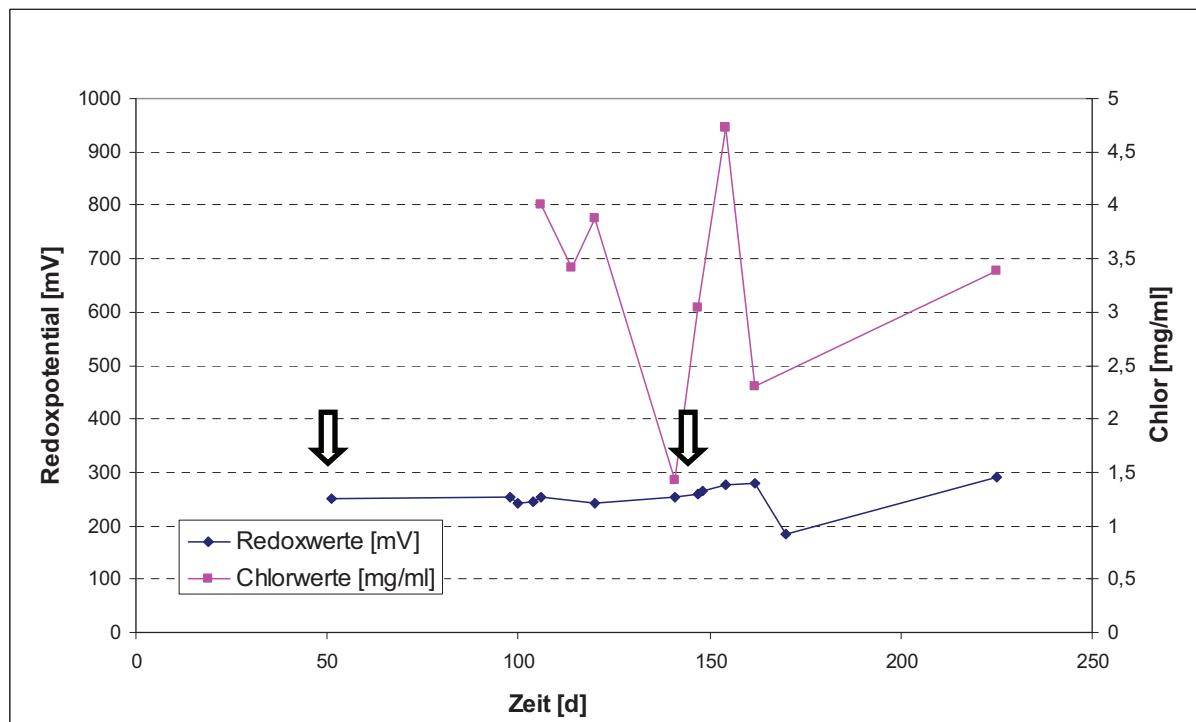


Abb. 3 ZE 3, Turbine: Redox- und Chlorwerte; schwarzer Pfeil = Stoßdesinfektion

Im Vergleich zu ZE 1 und 2 sind bei der ZE 3 die Redoxwerte etwas höher (im Wertebereich von ca. 250 mV) (Abb. 3). Diese bleiben auch bei den Stoßdesinfektionen auf ähnlichem Niveau. Wesentlich auffälliger sind die extrem hohen Gesamtchlorwerte. Man beachte hier die Änderung der Chlor-Skala verglichen mit der von ZE 1 und 2 (Abb.1 und 2). Die Biofilmm-Zehrung ist hier offensichtlich sehr gering.

Bei der Kontrollmessung nach acht Monaten ist ein leicht gestiegener Gesamtchlorgehalt von 3,38 mg/ml (Tag 225) auf 3,51 mg/ml zu verzeichnen. Der Redoxwert ist gesunken (von 290 (Tag 225) auf 237 mV).

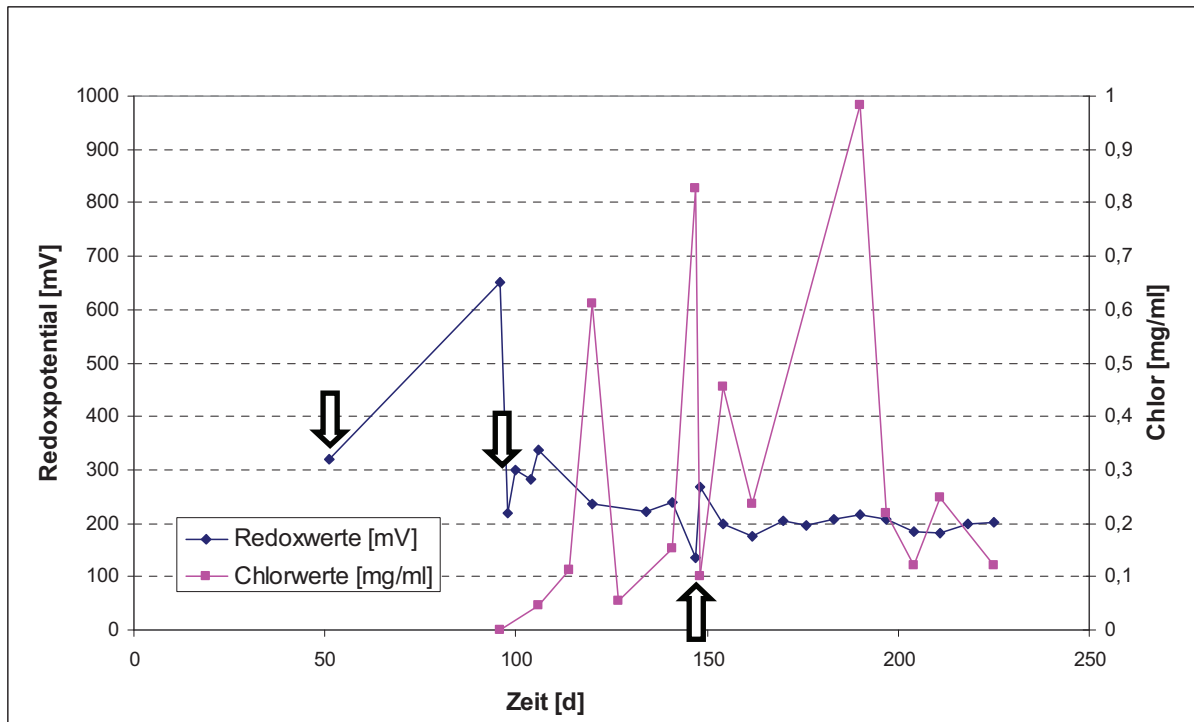


Abb. 4 Patienten WC, **Wasserhahn**: Redox- und Chlorwerte; schwarzer Pfeil = Stoßdesinfektion

Der Wasserhahn des Patienten WC ist schwierig zu beurteilen, da der schon ältere Boiler die Werte insgesamt durch das teilweise über einen längeren Zeitraum im Kanister stehende Wasser verfälscht. Generell ist die Gefahr der mikrobiellen Kontamination hier sehr groß, was durch das Alter und die Stagnation des Wassers bedingt ist. Folgerichtig sind auch die Redox- und Gesamtchlorwerte gering (Abb. 4). Während der Stoßdesinfektionen sind die Gesamtchlorwerte minimal. Die zweite große Desinfektion (02.02.2009) weist Werte von 0,0 mg/l auf und bei der dritten Stoßdesinfektion maßen wir Höchstwerte von 0,101 mg/l.

In der Kontrollmessung wird ein gesunkener Gesamtchlorwert von 0,12 (Tag 225) auf 0,061 mg/ml verzeichnet. Das Redoxpotential ist leicht gestiegen (von 203 (Tag 225) auf 234 mV).

2.2.2 Mikrobielle Belastung

Zusammenfassung der Ergebnisse der Stoßdesinfektionen

Die mikrobiellen Proben wurden nach den Stoßdesinfektionen genommen, d.h. nachdem die Impulszahl auf 1 Impuls/min reduziert wurde und die Redoxwerte wieder bei ihrem Anfangswert waren.

Im Turbinenwasser der ZE 1 kommt es mit der Abnahme der Redoxwerte (Abb. 1) über die drei Stoßdesinfektionen zur Abnahme der mikrobiellen Belastung (Hefen/Pilze, Tab. 10).

Tab. 10 ZE 1, **Turbine**, Mikrobiologie:

	GKZ 20 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	GKZ 36 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	Hefen/Pilze [KbE / 10 ml]	Coliforme / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>Legionella spp.</i>
nach Stoßdesinfektion 19.12.2008 (Tag 51)	0	2	6	n.b.*
nach Stoßdesinfektion 02.02.2009 (Tag 96)	0	4	3	n.b.
nach Stoßdesinfektion 25.03.2009 (Tag 148)	0	2	0	n.b.

*nicht bestimmt

Im Turbinenwasser von ZE 2 war nach der ersten und letzten Stoßdesinfektion keine Erregerlast nachzuweisen (Tab. 11).

Tab. 11 ZE 2, **Turbine**, Mikrobiologie

	GKZ 20 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	GKZ 36 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	Hefen / Pilze [KbE / 10 ml]	Coliforme / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>Legionella spp.</i>
nach Stoßdesinfektion 19.12.2008 (Tag 51)	0	0	0	n.b.*
nach Stoßdesinfektion 02.02.2009 (Tag 96)	2	3	5	n.b.
nach Stoßdesinfektion 25.03.2009 (Tag 148)	1	0	0	n.b.

*nicht bestimmt

Bei dem Wasserhahn am Waschbecken des Patienten-WC erfolgt die Warmwasserbereitung durch einen Elektro-Durchlauferhitzer. Inwieweit das beprobte Kaltwasser technisch durch den Boiler beeinflusst ist, bleibt offen. Korrelierend zur offenbar beobachteten POTOCLEAN®-Zehrung wurde im Wasser dieser Zapfstelle jedoch eine sehr hohe Erregerbelastung festgestellt (Tab. 12). Bei der letzten Stoßdesinfektion konnte eine Reduktion der Erregerlast festgestellt werden, die aber in den nächsten Messungen nicht fortbestand (Abb. 11 und 12 auf S. 45/46).

Damit ist diese Zapfstelle ein weiterer Kontaminationsort und kommt eventuell sogar als Kontaminationsquelle für die Stühle in Frage.

Tab. 12 Wasserhahn am Waschbecken Patienten-WC, Mikrobiologie

	GKZ 20 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	GKZ 36 °C (nach 48 h) [KbE / ml]	Hefen / Pilze [KbE / 10 ml]	Coliforme / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>Legionella spp.</i>
nach Stoßdesinfektion 19.12.2008 (Tag 51)	0	97	300	n.b.*
nach Stoßdesinfektion 02.02.2009 (Tag 96)	32	92	37	n.b.
nach Stoßdesinfektion 25.03.2009 (Tag 148)	0	0	0	n.b.

*nicht bestimmt

Zusammenfassung der Ergebnisse der Messungen in der Hauptperiode

Die Hauptperiode umfasst einen 7-monatigen Zeitraum. Es fanden Stoßdesinfektionen an drei Terminen statt (in Graphiken jeweils mit Pfeil gekennzeichnet). Nach ca. acht Monaten wurde eine letzte Kontrollmessung am 23.02.2010 durchgeführt, um mögliche Abweichungen der Chlor-, Redox- und Mikrobiologiewerte zu registrieren. Die Werte sind nicht in den folgenden Abbildungen dargestellt. Sie sind im Text beschrieben und zeigen keine auffälligen Abweichungen.

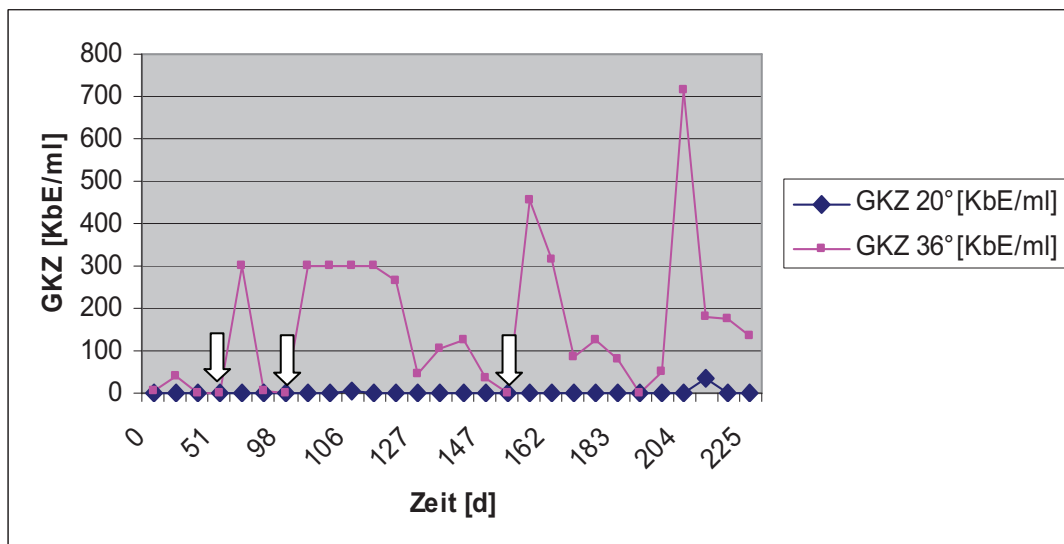


Abb. 5 ZE 1, Turbine: Mikrobiologie (GKZ); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

ZE 1 zeigt in Bezug auf die GKZ bei 20 °C keine auffälligen Werte (Abb. 5). Sie liegen fast konstant bei 0 KbE/ml. Dies ist deutlich unter dem durch die TrinkwV (2001) festgelegten Grenzwert von 100 KbE/ml. Bei 36 °C fallen die Werte der GKZ deutlich höher aus: Zwar reichen diese bis zur ersten Stoßdesinfektion – und damit bis zur Einführung des POTO CLEAN® (Tag 51) - nicht über 39 KbE/ml, liegen dann aber bei 300 KbE/ml, was weit über dem zulässigen Grenzwert von 100 KbE/ml ist (TrinkwV 2001). Nach allen Stoßdesinfektionen werden niedrige Werte aufgezeichnet (Tag 51: 2 KbE/ml; Tag 96: 4 KbE/ml; Tag 148: 2 KbE/ml). Trotz wöchentlich gewechseltem, neuem POTO CLEAN® (ab Tag 197), liegen ab Tag 204 hohe Werte vor (Tag 204: 716 KbE/ml; Tag 211: 181 KbE/ml; Tag 218: 176 KbE/ml).

Bei der Kontrollmessung am 23.02.2010 persistiert der Wert der GKZ (20 °C) bei 0 KbE/ml. Der Wert der GKZ bei 36 °C sinkt auf 13 KbE/ml.

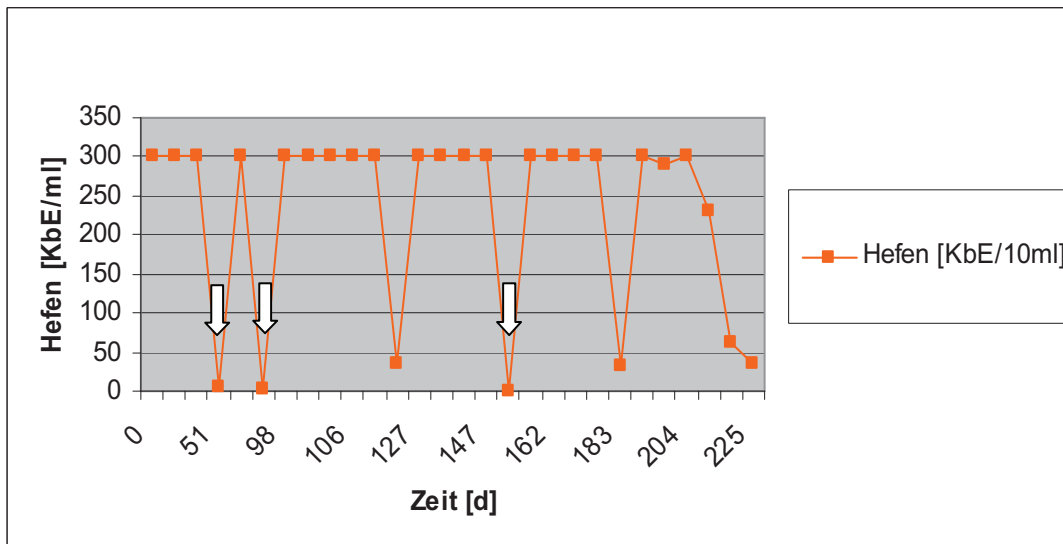


Abb. 6 ZE 1, Turbine: Mikrobiologie (Hefen); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Konstante Werte bei 300 KbE/10ml sind bei den Hefen [KbE/10ml] zu finden (Abb. 6). Hier liegen anfangs konstante Werte bei 300 KbE/10ml vor mit Ausnahme der Stoßdesinfektionen (Tag 51: 6 KbE/10ml; Tag 96: 3 KbE/10ml; Tag 148: 0 KbE/10ml). Zum Ende der Messungen findet man außerdem bei wöchentlich gewechseltem POTO CLEAN® sinkende Werte (Tag 211: 231 KbE/10ml; Tag 218: 62 KbE/10ml; Tag 225: 35 KbE/ml). Trotzdem wurde der Grenzwert von 0 KbE/ml (TrinkwV 2001) überschritten.

Die Kontrollmessung (ca. acht Monate nach der letzten Messung) ergab bezüglich der Hefen [KbE/10ml] einen Rückfall der Werte auf 300 KbE/10ml.

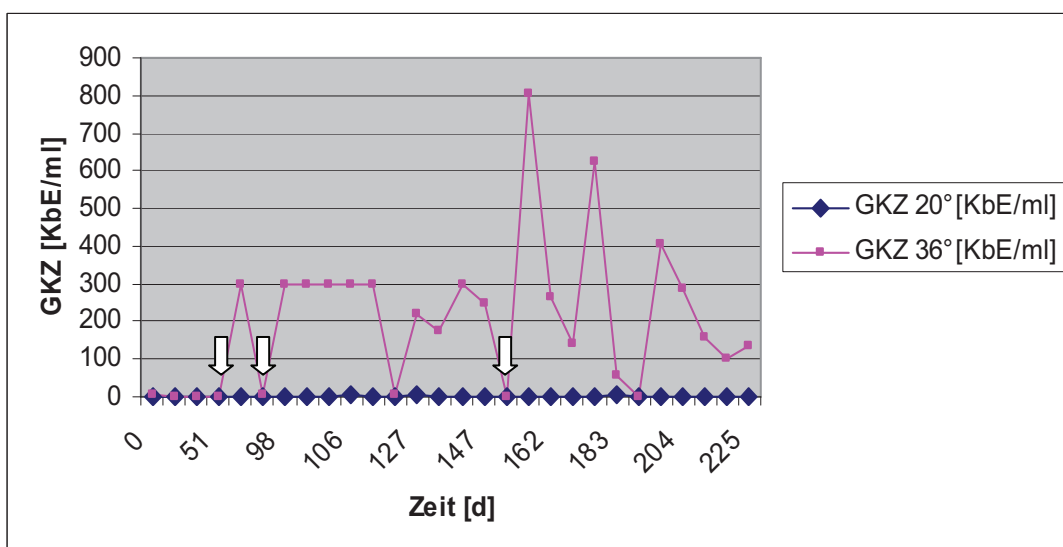


Abb. 7 ZE 2, Turbine: Mikrobiologie (GKZ); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Die Werte der GKZ bei 20 °C von Stuhl 2 verhalten sich wie bei Stuhl 1 (Abb. 7). Die Kurve der Gesamtkoloniezahl bei 36 °C weist – mit Ausnahme einiger Ausreißer (s.u.) - ebenfalls einen ähnlichen Verlauf wie die der ZE 1 auf. Bis zur ersten Stoßdesinfektion bzw. bis zur ersten POTO CLEAN® Nutzung liegt der Höchstwert bei 3 KbE/ml, danach steigen diese – mit wenigen Ausnahmen (niedrigere Werte) - wieder auf ein Niveau von 300 KbE/ml. Ausreißer in einen deutlich höheren Wertebereich finden sich an Tag 155 (804 KbE/ml, nach der dritten Stoßdesinfektion), an Tag 176 (624 KbE/ml) und an Tag 197 (406 KbE/ml, nach neuem, gewechseltem POTO CLEAN®). Danach (ab Tag 204) findet ein fast konstantes Sinken der Werte bei wöchentlichem POTO CLEAN® Wechsel statt (Endwert: 134 KbE/ml an Tag 225). Somit liegt der Endwert knapp über dem erlaubten Grenzwert von 100 KbE/ml (TrinkwV 2001).

Bei der Kontrollmessung ergab sich für die GKZ bei 20 °C keine Veränderung. Die Werte liegen weiterhin bei 0 KbE/ml. Bei 36 °C findet eine weitere Senkung der Werte auf 62 KbE/ml statt.

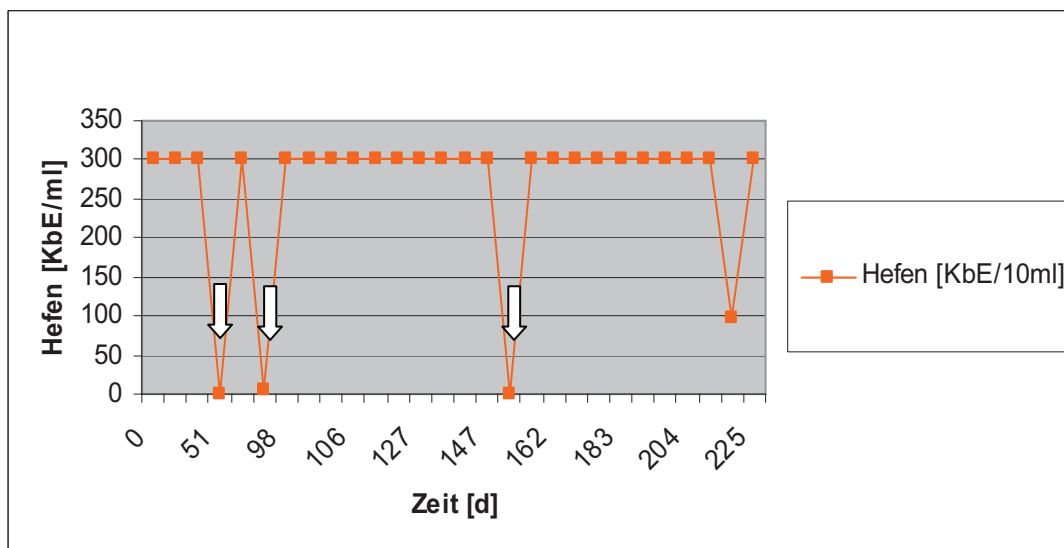


Abb. 8 ZE 2, Turbine: Mikrobiologie (Hefen); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Anders als bei ZE 1 liegen die Werte von ZE 2 bei den Hefen [KbE/10ml] durchgängig bei 300 KbE/10ml (einzige Ausnahme ist Tag 218 mit 99 KbE/10ml) (Abb. 8). Wie bei ZE 1 fallen die Werte bei den Stoßdesinfektionen stark ab (Tag 51: 0 KbE/10ml; Tag 96: 5 KbE/10ml; Tag 148: 0 KbE/10ml). Somit wird der Grenzwert von 0 KbE/ml (TrinkwV 2001) überschritten.

Die Kontrollmessung im Februar 2010 weist weiterhin einen Wert von 300 KbE/10ml auf.

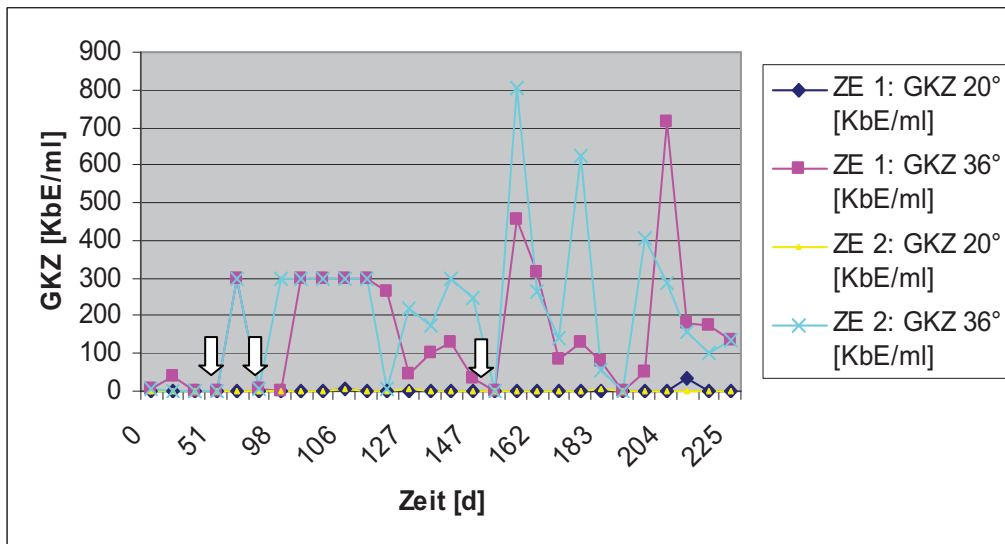


Abb. 9 ZE 1 u. 2, **Turbine**: Mikrobiologie (GKZ); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

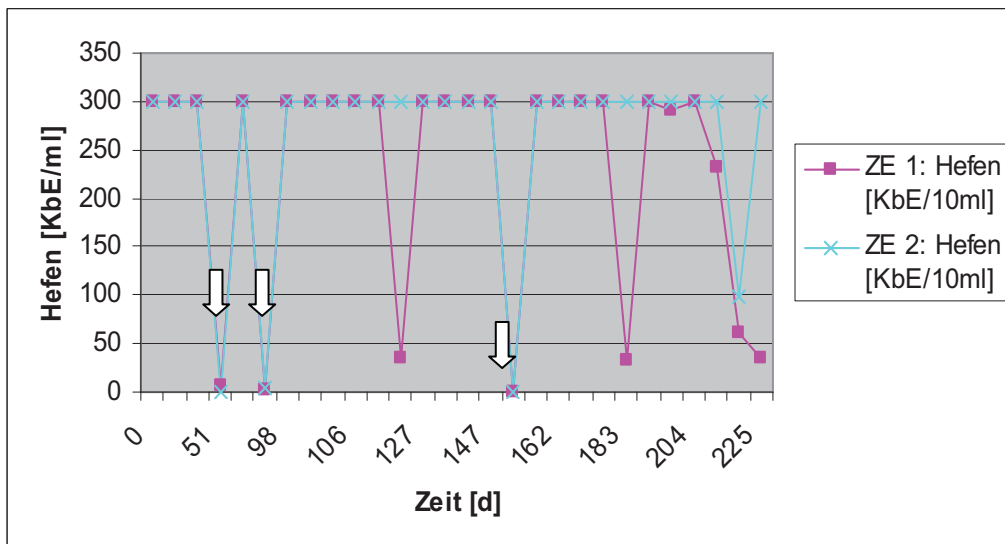


Abb. 10 Vergleich ZE 1 u. 2, **Turbine**: Mikrobiologie (Hefen); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Insgesamt fällt auf, dass die Werte nach den Stoßdesinfektionen – und teilweise auch nach frisch zugeführtem POTOCLEAN® - hoch sind, was auf eine Lösung des Biofilms zurückzuführen sein kann (Abb. 9 und 10). Außerdem finden sich die o.g. Ausreißer (GKZ bei 36 °C) (Abb. 5 und 6) bei beiden ZE *nach* der dritten Stoßdesinfektion. Bis zur zweiten Stoßdesinfektion ist der Kurvenverlauf der Werte beider ZE annähernd einheitlich, danach gehen hauptsächlich die Werte der GKZ bei 36 °C (Abb. 9) und teilweise auch die Werte der Hefen [KbE/10ml] auseinander, wobei hier ZE 1 von der konstanten Kurve der ZE 2 (konstant bei 300 KbE/10ml) abweicht (Abb. 10).

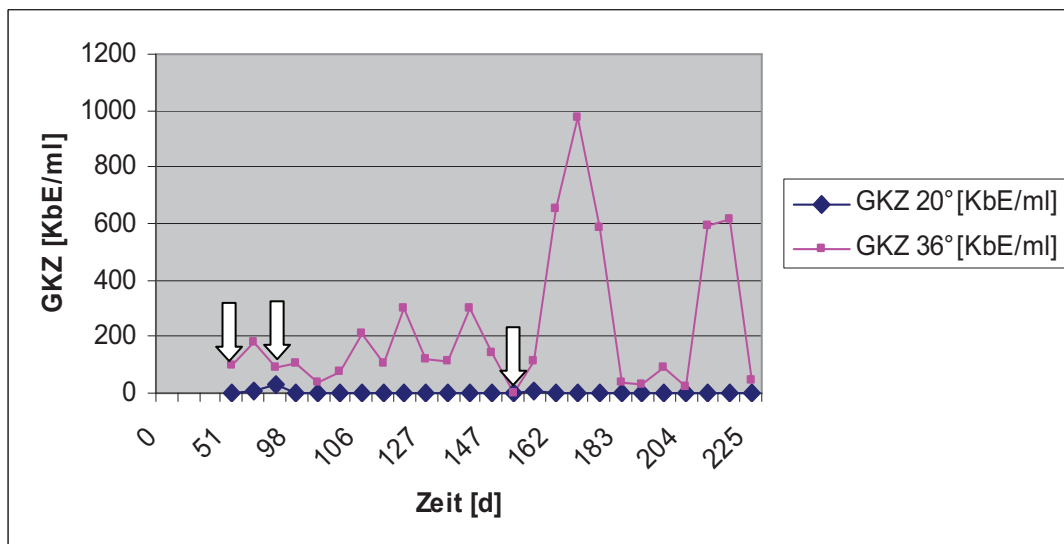


Abb. 11 Patienten-WC, **Wasserhahn**: Mikrobiologie (GKZ); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Die GKZ bei 20 °C weist – wie auch bei ZE 1 und 2 (Abb. 5 und 6) – niedrige Werte auf (Höchstwerte sind 32 KbE/ml) (Abb. 11). Diese liegen unter dem zulässigen Grenzwert von 100 KbE/ml (TrinkwV 2001). Auch bei den Stoßdesinfektionen fallen keine Ausreißer auf (Tag 51: 0 KbE/ml; Tag 96: 32 KbE/ml; Tag 148: 0 KbE/ml). Anders sieht es bei der GKZ bei 36 °C aus. Die Werte der Stoßdesinfektion sinken zwar auf 0 (Tag 51: 97 KbE/ml; Tag 96: 92 KbE/ml; Tag 148: 0 KbE/ml), dennoch gibt es Ausreißer, die bei 976 KbE/ml (Tag 170) und bei 616 KbE/ml (Tag 218) ihren Höhepunkt finden. Somit liegt hier eine deutliche Überschreitung des Grenzwertes von 100 KbE/ml vor (TrinkwV 2001).

Die Kontrollmessung ergibt für die GKZ bei 20 °C 0 KbE/ml und somit keine Veränderung. Der Wert der GKZ bei 36°C liegt bei 300 KbE/ml und weist somit keine Verbesserung auf.

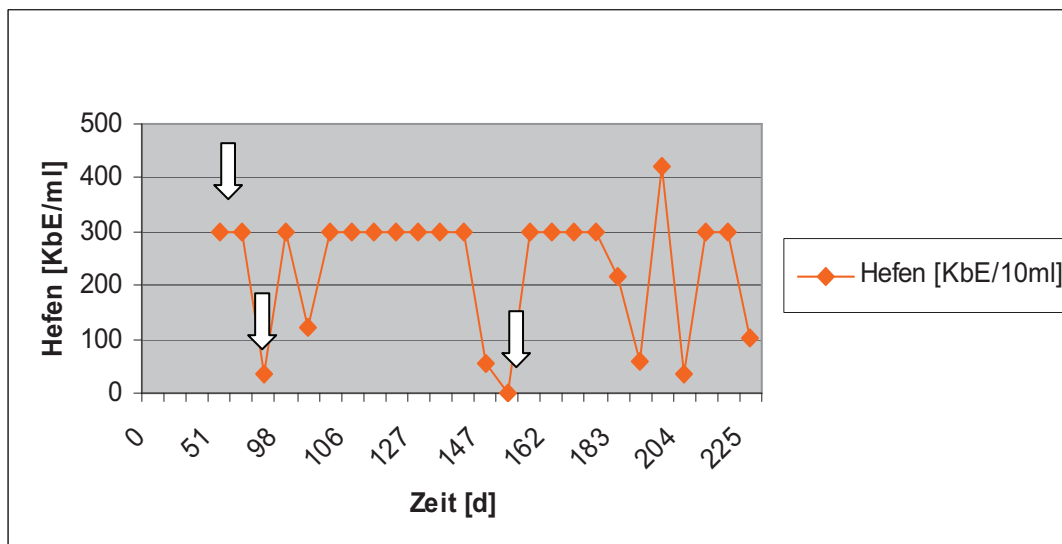


Abb. 12 Patienten-WC, **Wasserhahn**: Mikrobiologie (Hefen); weißer Pfeil = Stoßdesinfektion

Bei den Hefen [KbE/10ml] ist in Bezug auf die Stoßdesinfektionen ein stetiger Abfall zu erkennen (Tag 51: 300 KbE/10ml; Tag 96: 37 KbE/10ml; Tag 148: 0 KbE/10ml) (Abb. 12). Bei der Kurve der regulären Messungen liegt anfangs ein konstanter Kurs von 300 KbE/10ml vor, der dann während der Phase des regelmäßigen Wechsels von POTO CLEAN® unregelmäßig auf 35 KbE/10ml abfällt und bei den vorletzten beiden Messungen nochmals auf den Ausgangswert von 300 KbE/10ml steigt. Bei der Kontrollmessung bleibt es bei 300 KbE/10ml. Dies überschreitet den Grenzwert von 0 KbE/ml (TrinkwV 2001).

Bezüglich der Mikrobiologie bei ZE 1 (Abb. 5 und 6) und 2 (Abb. 7 und 8) (und mit zeitlich steigender Tendenz auch beim Patienten WC (Abb. 11 und 12)) ist ein ähnlicher Verlauf zu beobachten: Lediglich unmittelbar nach jeder Stoßdesinfektion (Tag 51, 96, 148) lässt sich ein Erregerabfall feststellen, wenige Tage danach jedoch steigen die Erregerzahlen (insbesondere Hefen) wieder in die Höhe, sodass sich das POTO CLEAN® nicht als dauerhaft effektiv bezüglich der Reduktion der mikrobiellen Kontamination erweist.

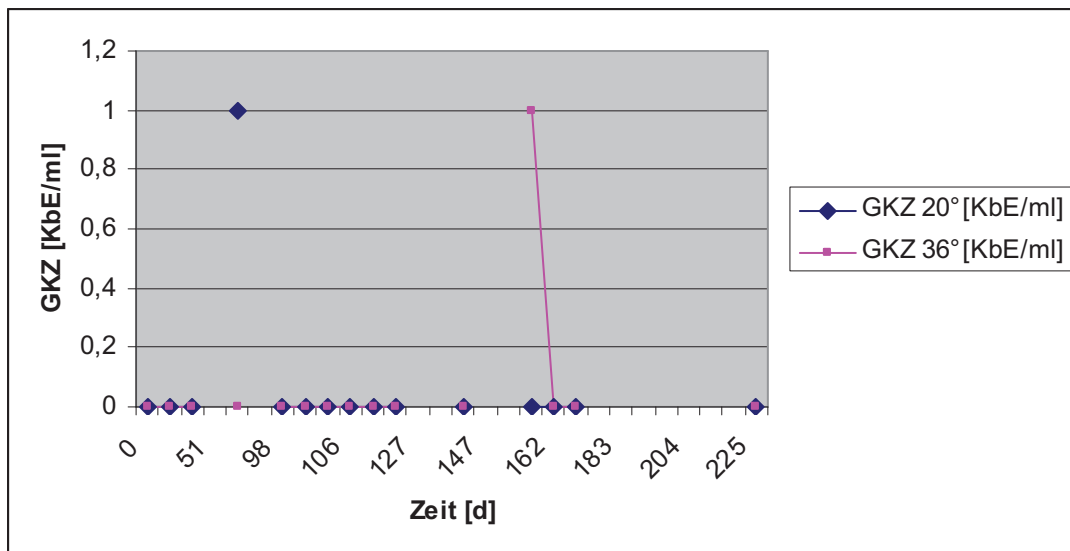


Abb. 13 ZE 3, Turbine: Mikrobiologie (GKZ)

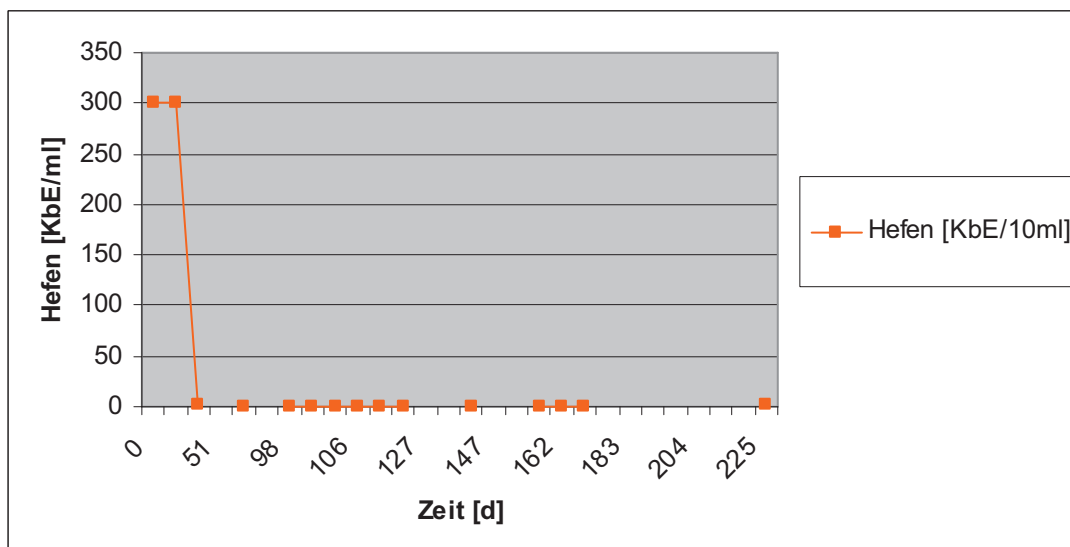


Abb. 14 ZE 3, Turbine: Mikrobiologie (Hefen)

Bei der ZE 3 (neueste ca. 5 Jahre alte, modernste ZE der Praxis) wurde die Messung der Mikrobiologie ab Tag 170 abgebrochen, da die erhöhten Hefenwerte, die die einzige mikrobielle Kontamination darstellten, stetig sanken (Tag 0 und Tag 7: 300 KbE/10ml; Tag 45: 2 KbE/10ml) und ab der Einführung von POTO CLEAN® in das praxisinterne Wassernetz gegen Null tendierten (Abb. 14). Somit liegen auch die Hefen ab Tag 85 bei dem Grenzwert von 0 KbE/ml (TrinkwV 2001). Hier erwies sich die zusätzliche Desinfektion als wirksam. Das bestätigen auch die Ergebnisse der Kontrollmessung (GKZ 36 °C sowie 20 °C: 0 KbE/ml; Hefen: 0 KbE/10ml).

2.3 Diskussion

Bevor die Ergebnisse der Studie detailliert diskutiert werden, soll zunächst auf einige methodische Aspekte eingegangen werden, die die Ergebnisse der Studie beeinflusst haben könnten.

2.3.1 Methodische Aspekte und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

Verfügbares Chlor ist als Breitspektrumbiozid etabliert. Vegetative Bakterien sind stark sensitiv gegenüber geringen Chlorkonzentrationen (0,1-0,3 mg/l innerhalb von 30 s); Mykobakterien, Pilze, protozoische Zysten, Algen, Viren und bakterielle Sporen dagegen sind bedeutend stärker resistent (McDonnell 2007).

Ein wichtiger Einflussfaktor bezüglich der Chlorwirkung (Desinfektionswirkung) ist das Redoxpotential, das nach Carlson und Hässelbarth (1968) bei <600 mV diese Wirkung zunehmend beeinflusst, da vorhandenes Chlor nur bei hohen Redoxpotentialen wirkt. Bei den durch die TrinkwV vorgeschriebenen niedrigen Konzentrationen im Trink- und Badewasser sind es die reduzierenden Stoffe (bes. organische Wasserinhaltsstoffe), die die Desinfektionswirkung negativ beeinflussen (Carlson u. Hässelbarth 1968). Diese Stoffe vermindern die Wirkung der Chlorung als mit der Chlorzehrung einhergehende Nebenprodukte der Desinfektion (chlorierte organische Substanzen) (Kramer u. Assadian 2008).

Die Aggregation von Mikroorganismen ist bei unserer Studie ein Problem, da die Eliminierung vor allem von Biofilmen an den Wänden von kleinen Leitungen sehr schwierig ist (Kramer u. Assadian 2008). Laut DIN 38411 T (1983) sind „(...) Zapfhähne, an denen Schwenkarme, Schläuche und ähnliches befestigt sind oder die mit Strahlregler ausgerüstet wurden (...) für die Entnahme (von Wasser zur mikrobiologischen Untersuchung) ungeeignet.“ Pitten et al. (2001) fanden im Krankenhaus in endständigen Teilen der Wasserversorgung (Druckminderer, Wasserhahn, Mischbatterie) immer höhere Koloniezahlen als im Leitungstrinkwasser innerhalb des Systems.

Des Weiteren hat Natriumhypochlorit eine sehr schnelle Wirkung und wird bei der Desinfektion wieder schnell abgebaut. Daher sind die Messwerte zu den Chlorgehalten kritisch zu betrachten (Kramer u. Assadian 2008).

Auch bei der Messung der Redoxwerte stellt sich bei der Stoßdesinfektion ein limitierender Faktor dar: Redoxwerte von ca. 400 mV (Tab. 7 auf S. 32) könnten auch durch die Trägheit

der Elektrode bedingt sein, die nach vorherigem Messen höherer Werte beim anschließenden Spülen mit normalem Leitungswasser nur noch sehr langsam weiter auf das Ausgangsniveau von ca. 250 mV abfiel. Der Abfall auf die 250 mV erfolgte jedoch sehr schnell, wenn man die Elektrode dem Wasser aus den sonstigen Stuhlzapfstellen aussetzte. Daran wird deutlich, dass in den Stühlen zwei getrennte Wasserleitungsnetze vorliegen, nämlich das der ärztlichen Behandlungseinheit (Turbine, Multifunktionsspritze, etc.) auf der einen Seite und das der HelferInnen-Einheit (Speichelsauger, Multifunktionsspritze, etc.) auf der anderen Seite. Es stellt sich insgesamt die Frage, ob die beobachtete Zehrung in der ärztlichen Behandlungseinheit (Turbine usw.) (auch) technisch oder materialbedingt sein könnte.

Bei der Diskussion der methodischen Aspekte und der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse stellt sich weiterhin das Problem der chemischen Zerstörung der Plastikanteile (Abdichtungen der Schläuche an den ZE) in der Behandlungseinheit, das v.a. durch die aggressiven Stoßdesinfektionen verursacht wurde. Auch hier spielt der Faktor des Alters der ZE eine Rolle, da das Problem der Materialschädigung hauptsächlich in den beiden älteren Einheiten (ZE 1 und 2) festgestellt wurde.

Die Fa. Waterclean versicherte, dass das Produkt POTO CLEAN® eine Haltbarkeit von 8 d habe. Da anfangs die Kanister aber in größeren zeitlichen Abständen gewechselt wurden, ist es nicht auszuschließen, dass das Produkt während der 7-monatigen Messperiode unterschiedliche Wirkungspotentiale aufwies.

Ein weiteres Problem war sicherlich das Alter von zwei Behandlungsstühlen (ZE 1 und 2, beide ca. 15 Jahre alt) und die entsprechend hohe potentielle Biofilmausprägung in den Leitungen. Damit war bei der Desinfektion eine hohe Zehrung verbunden.

Entsprechendes gilt auch für das Wasser im Patienten-WC, das über einen Durchlauferhitzer gespeist wird.

2.3.2 Ergebnisse

Das Wasser bei ZE muss die Anforderung der TrinkwV von 2001, § 3, erfüllen. Durch Einflussfaktoren wie mangelhafte Hygiene des zahnärztlichen Personals, den Rücksaugeffekt der Übertragungselemente und damit durch die Bakterienflora des Patientenmundes und/oder durch die Wasserleitungen ist die mikrobielle Kontamination der ZE möglich. Eine Greifswalder Zahnarztpraxis mit 3 Behandlungsstühlen unterschiedlichen Alters und Konstruktion wurde wegen eines Bescheids des Gesundheitsamts (erhöhte mikrobielle Werte)

auf mikrobielle Kontamination, Redox- und Chlorwerte beprobt. Als zusätzliche Desinfektionsmethode (Basisdesinfektion zur Dauerentkeimung an ZE 1 und 2 war das Präparat Green and Clean M2 und an ZE 3 Oxygenal 6) wurde ein neues Produkt (POTOCLEAN®) auf der Basis von anodischer Oxidation angewandt. Erfolgreich in Bezug auf die Wirkung des getesteten Desinfektionsmittels war lediglich die Erregerreduktion in der ZE 3 (Baujahr ca. 2004). Bei den ZE 1 und 2 (Baujahr ca. 1994) war die desinfizierende Wirkung von POTOCLEAN® lediglich jeweils nach den 3 Stoßdesinfektionen bis zur nächsten wöchentlichen Routinemessung nachweisbar, obwohl das Desinfektionsmittel (in geringen Dosen) permanent bei jeder Wassernutzung über die ZE durch eine Pumpe in den Wasserkreislauf eingebracht wurde.

Insgesamt ist feststellbar, dass trotz dreimaliger Stoßdesinfektion und kontinuierlicher Desinfektion mit POTOCLEAN® bei 7-monatiger Beprobung keine deutliche Reduktion der mikrobiellen Werte nachgewiesen werden konnte. Nur ZE 3 - ein vergleichsweise neueres Modell der Fa. KaVo - zeigte vom Beginn der Messungen eine geringe mikrobielle Belastung (Abb. 13 und 14 auf S. 47). „Problemstühle“ sind also die ca. 15 Jahre alten ZE 1 und 2. Allerdings stellt sich hier die Frage, ob überhaupt ein Desinfektionsmittel in der Lage ist, das Problem der Totleitungen und ausgeprägten Biofilmbesetzung der Schläuche überwinden zu können.

Folglich stellt sich die Frage nach Gründen für die unbefriedigende Wirkung des getesteten Verfahrens bei den beiden älteren, stärker mikrobiell kontaminierten ZE.

Analog zu anderen Studien konnte gezeigt werden, dass die höchste Wasserkontamination im Vergleich neue (1 Jahr) vs. ältere (13 Jahre) Behandlungseinheit bzw. Wasser aus der Hochgeschwindigkeitsturbine vs. Wasser aus der Multifunktionsspritze bei dem kontaminierten Wasser bei dem Schlauch der Hochgeschwindigkeitsturbine der älteren Behandlungseinheit aufzufinden ist (610 000 000 cfu/ml) (Watanabe et al. 2008). Des Weiteren schlussfolgern Watanabe et al. (2008), dass das Spülen durch ältere (13 Jahre) Schläuche bzw. dentale Einheiten weniger effektiv ist als durch neue, da der Biofilm in den Älteren vermutlich schon sehr viel stärker ausgeprägt ist.

In Übereinstimmung zu unserer Studie fanden Pitten et al. (2001) bei der Untersuchung von Trinkwasser im Krankenhaus, dass bei einer Bebrütungstemperatur von 36 °C mehr Mikroorganismen kultiviert wurden als bei 20 °C.

Ein weiterer ausschlaggebender Faktor für die Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse der Wasserproben ist die Art und Weise der Entnahme. Pitten et al. (2001) untersuchten das an Wasserentnahmestellen im Krankenhaus und stellten fest, dass die GKZ bei Stagnationswasserproben (direkte Entnahme aus den Wasserleitungen) deutlich häufiger überschritten wird als bei Trinkwasserproben (Entnahme entsprechend DIN Norm nach 3 min Abfließen des Wassers). Abweichend von der DIN Norm desinfizierten wir die Wasserentnahmestellen mit 70%igem Ethanol. Das geforderte Abflammen der Entnahmeamaturen war wegen der Thermolabilität der Auslässe nicht möglich.

Wie Noce et al. (2000) feststellten, ist das Hinzufügen von Natriumthiosulfat (in den thermodesinfizierten Transportflaschen enthalten) ein beeinflussender Faktor für die Bestimmung der Bakterienzahl. So betrug der Grad der Bakterienkontamination vor der Neutralisation mit Natriumthiosulfat 140 000 cfu/ml; danach waren es 220 000 cfu/ml. Die Regeneration der Bakterien betrug also 57,0 % (Noce et al. 2000). Mit Hilfe des Natriumthiosulfats wird der Effekt eventuell noch vorhandenen antimikrobiell wirkenden Chlors neutralisiert. Das Nichtzusetzen würde ein fehlerhaftes Ergebnis induzieren. Vielmehr soll die Belastung zum Zeitpunkt der Probenahme festgestellt werden. Durch die Schnelligkeit des Transportes und durch die Kühlung des Probenguts (Kühltasche) wird sichergestellt, dass keine nennenswerte Vermehrung der Population von der Probenahme bis zur Analyse stattfindet.

Das spielt folgerichtig auch eine Rolle in Bezug auf die regelmäßige Chlordesinfektion. Ein einwöchiges Aussetzen der Desinfektion bzw. das Nachlassen der desinfizierenden POTOCLEAN® -Wirkung hat eine starke Erhöhung der mikrobiellen Belastung zur Folge.

In Anbetracht des Alters und des Modells (Bauweise) von zwei der drei zahnärztlichen Einheiten lässt sich die erhöhte Kontamination an den Stühlen 1 und 2 erklären. Die vor etwa 15 Jahren gebauten Stühle haben Totleitungen, auch im Bereich der ärztlichen Behandlungsseite, wo sich auch die Turbinen befinden, die hohe Kontaminationen aufweisen (Wasserleitungen SYSTEMATICA TA_1060-Plaene_EU[1].pdf). So stagnierte das Wasser in diesen Bereichen und sie wurden zu idealen Orten für die Etablierung eines Biofilms. ZE 3 hat im Unterschied dazu eine Ringleitung im Arztelement, so dass eine ständige Durchspülung gewährleistet wird und kein totes Leitungsende vorhanden ist. Des Weiteren ermöglichen bei den neueren Behandlungseinheiten die automatischen Hygienefunktionen und der Rücksaugstopp an Instrumenten und Motoren eine verlässlichere Hygiene (Kaltenbach & Voigt Dental GmbH). Zusätzlich zu der Desinfektionsmaßnahme mit POTOCLEAN® wird für Stuhl 3 ein vom Hersteller empfohlenes Desinfektionsmittel zur

Dauerentkeimung (Oxygenal 6) genutzt. Oxygenal 6 (Kaltenbach & Voigt Dental GmbH, Bieberach) enthält u.a. 6% H₂O₂, Silberionen als Hauptbestandteil und Stabilisatoren. Die H₂O₂-Konzentration liegt in der Endverdünnung bei 0,02% bzw. bei 0,25% bei der Intensiventkeimung (Kaltenbach & Voigt Dental GmbH, 2007). Auch Stuhl 1 und 2 werden regelmäßig mit einem durch den Techniker empfohlenes Präparat (Thiotol auf Chlorbasis, später Green and Clean M2 Rot aufgrund geringerer Aggressivität) behandelt. Green and Clean M2 Rot (METASYS Medizintechnik GmbH, Rum bei Innsbruck) ist chemisch durch eine Guanidinverbindung und aliphatische Stickstoffverbindung (26%) charakterisiert und seine Endverdünnung mit Wasser liegt bei 1% (Sicherheitsdatenblatt METASYS Medizintechnik GmbH 2002). Hieraus resultieren Koppelwirkungen, die eine systematische Diskussion der Ergebnisse einschränken, da neben dem Alter der Behandlungseinheiten der Einsatz unterschiedlicher Desinfektionsmittel an den 3 Behandlungsstühlen jenseits der Prüfvarianten eine Rolle spielt. Das könnte die Ergebnisse in gewisser Weise maskiert haben.

Letztlich war die doppelte Belastung durch mehrere Desinfektionsmittel auf Chlorbasis v.a. für die Plastikanteile der ZE 1 und 2 zu hoch und führte zu Schäden an den Abdichtungen der Schläuche.

2.4 Weiterführende Überlegungen und Schlussfolgerung

Exner et al. (2007) fanden heraus, dass bestimmte Kunststoffmaterialien und andere Komponententeile wie Druckerhöhungsanlagen ein besonderes Biofilmbildungspotential haben. Sie induzierten die Bildung eines Biofilms mittels Leitungswasser in einem Silikonschlauch (Durchmesser: 4 mm), der mit dem einer ZE vergleichbar ist. Nach einer Durchströmungsdauer von 7 d war die Oberfläche mit Biofilm bedeckt. Die Biofilmbildung ist der wichtigste Risikofaktor für das Vorkommen wasserassoziierter Krankheitserreger.

In die Hausinstallation können wasserassoziierte Krankheitserreger nur aus der zentralen Wasserversorgung wenn auch in geringer Konzentration und sporadisch eingetragen werden (Schwenk et al. 2002, Exner et al. 2005). Dort werden Sie dann zum Ausgangspunkt der Biofilmbildung. Exner et al. (2007) fanden heraus, dass in 16% von neu verlegten Wasserleitungen bereits *P. aeruginosa* vorhanden waren. Moderne Hausinstallationssysteme können demnach wegen Stagnationszonen und niedrigen Temperaturen im Warmwasserbereich als „mikrobiologische Blackbox“ bezeichnet werden, was in Krankenhäusern zusätzlich durch die extrem langen Installationsstrecken unterstützt wird.

Hinzu kommt die Rücksaugung der ZE. Untersuchungen haben gezeigt, dass ein die Messungen negativ beeinflussender Faktor das Phänomen des Zurücksaugens von Bakterien aus dem Patientenmund bzw. ein undichtes Ventil an der Turbine während der Behandlung ist. Das bedingt einen Unterdruck im Turbinenschlauch.

Mehrere Autoren (Panagakos 2001, Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut 2006) stellen das als ein grundlegendes Problem dar, das durch das zahnärztliche Personal zu wenig gewürdigt wird, da das empfohlene regelmäßige Nachspülen nach jeder Behandlung und am Anfang bzw. am Ende eines Behandlungstags unzureichend umgesetzt wird (Watanabe et al. 2008). Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (2006) nahm 1998 erstmals Stellung zu den Anforderungen an die Hygiene in der Zahnmedizin. Diese Empfehlung zur Infektionsprävention in der Zahnheilkunde wurde im Jahr 2006 aktualisiert und veröffentlicht. Demnach ist zu Beginn des Arbeitstags (ohne aufgesetzte Übertragungsinstrumente) an allen Entnahmestellen für etwa 2 min durchzuspülen (Kat. IB) (Barbeau et al. 1996). Nach jeder Behandlung sollte eine Spülung der zuvor im Mund des betreffenden Patienten benutzten wasserführenden Systeme über ca. 20 s durchgeführt werden (Kat. II) (RKI 2006). Ebenso wird empfohlen, die Wasser führenden Systeme am Ende eines Behandlungstags zu spülen (Kat II) (Pankhurst et al. 1998).

Im Gegensatz dazu zeigten Santiago et al. (Santiago 1994), dass schon 30 min nach dem Durchspülen die anfängliche mikrobielle Belastung wieder präsent ist und somit der Effekt nur temporär ist.

In dem bisher unveröffentlichten Projekt „Sanierung Dentalturbine mit CARELA® BIO-DES“ (2007), einem Dekontaminationsmittel der Späne GmbH, Petershagen, konnte gezeigt werden, dass das genannte Produkt nach Sanierung im Vergleich zu Oxygenal 6 besonders in Bezug auf Schimmelpilze eine sehr gute dekontaminierende Wirkung ohne Materialschädigung aufwies. Es handelt sich um ein Zweikomponentenprodukt mit aktivem Sauerstoff. CARELA® BIO-DES ist ab einer Konzentration von 0,1 % aktiv und wirkt auf Basis von H₂O₂ in Verbindung mit leicht sauren Substanzen (Späne GmbH, 2010). Die Untersuchung fand an 6 ZE des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (Altbau) Greifswald über einen Zeitraum von ca. 1,5 Monaten unter ähnlichen Bedingungen wie in unserer Studie statt (Desinfektion der Auslässe mit 70%igem Ethanol, 3 min Wasserdurchlauf vor Beprobung). Nachdem Messungen der GKZ (22°C und 36°C) und Schimmelpilze hohe Werte ergaben, wurde nach zwei Wochen Oxygenal 6 zur Dekontamination eingesetzt. Es

konnte eine leichte Reduktion der Wasserkontamination festgestellt werden (GKZ bei 22°C von 796 Kbe/ml bei ZE1 auf 19 Kbe/ml bei ZE 2 bzw. GKZ bei 36°C von 863 Kbe/ml bei ZE1 auf 75 Kbe/ml bei ZE 2 und Schimmelpilze von >1000 Kbe/100 ml bei ZE 1 auf >300 Kbe/100 ml bei ZE 2), jedoch stiegen die Werte nach weiteren zwei Wochen wieder oder blieben gleich. Gut eine Woche später wurde an der ZE mit der höchsten GKZ (bei 22°C 1432 Kbe/ml bzw. bei 36°C 842 Kbe/ml) und hohen Schimmelpilzwerten (>100 Kbe/100 ml) die Sanierung mit CARELA® BIO-DES durchgeführt. Nach 4 h sanken alle Werte auf 0. Auch nach einer Woche gingen die Werte gegen 0. Nach zwei Wochen stieg die GKZ (bei 22°C auf 167 Kbe/ml bzw. bei 36°C auf 42 Kbe/ml). Die Schimmelpilze blieben bei 0 Kbe/100 ml. Somit wurde mit CARELA® BIO-DES eine erfolgreiche Sanierung ohne Materialschädigung durchgeführt.

Es zeigte sich in unserer Studie, dass aufgrund nicht gewährleisteter ausreichender Dekontamination durch das eingesetzte Dekontaminationsmittel POTOCLEAN® insbesondere bei alten ZE keine ausreichende Wirkung erreichbar ist, sodass nur zwei Lösungsmöglichkeiten zur Auswahl stehen, der Ersatz der ZE durch neue ZE oder eine Intensivdekontamination des gesamten Systems.

2.5 Zusammenfassung

Ein in Zahnarztpraxen präsent Problem ist die mikrobielle Kontamination des Wassers durch Biofilmbildung in den wasserführenden Leitungen der ZE.

Die Studie basiert auf dem Aspekt, dass die derzeitigen Dekontaminationsanlagen mit Zudosierung von Oxygenal keine sichere Wirkung in Bezug auf die Einhaltung der TrinkwV garantieren können. Deshalb wurde ein neues Verfahren auf der Basis von anodischer Oxidation unter Praxisbedingungen geprüft.

Der Einfluss einer regelmäßigen permanenten Desinfektion mit zusätzlicher sog. Stoßdesinfektion wurde bei mehreren kontaminierten ZE (Behandlung 1, 2 und 3) und dem Auslass im Patienten-WC mit dem Produkt POTOCLEAN® über 7 Monate geprüft. Regelmäßig wurden die mikrobielle Kontamination, Chlor- und Redoxwerte gemessen.

An ZE 1 und 2 (ca. 13 Jahre alt) ergab sich Folgendes: Durch die mehrstündigen Stoßdesinfektionen (3 Zeitpunkte) ließ sich die GKZ für eine kurze Zeitperiode (<7 d) senken; diese Wirkung persistierte lediglich bis zur folgenden Messung nach einer Woche. Daraufhin

stiegen die Werte trotz permanenter Niedrigdosierung (1 mg/l) von POTOCLEAN® wieder an.

Durch die starke Chlorzehrung bei vergleichsweise geringen zugeführten Chlormengen wurden niedrige Gesamtchlor-Werte bei den Routinemessungen erfasst. Das Redoxpotential zeigt ähnliche Tendenz, da auch der elektrochemische Wert durch die nur geringe Natriumhypochloritwirksamkeit niedrig gehalten wurde. Während bzw. kurz nach den Stoßdesinfektionen fand insgesamt ein Anstieg der Werte statt, der durch die höhere Menge POTOCLEAN® bedingt ist. Sobald sich aber die Mikroorganismen bei den folgenden geringen POTOCLEAN® Mengen regenerieren, sinken die Gesamtchlor- und Redoxwerte wieder, da die Chlorzehrung steigt.

ZE 3 stellt durch ihren vorteilhaften Bau (Vermeidung von Wasserstagnation etc.) und die allgemein geringere (auch altersbedingte) mikrobielle Kontamination ein durch Desinfektionsmittel wesentlich einfacher zu behandelndes Objekt dar. Spätestens nach der ersten Stoßdesinfektion lagen alle mikrobiellen Werte nachhaltig bei 0.

Wichtige Einflussfaktoren waren das Alter und die damit in Zusammenhang stehende Konstruktion von zwei der drei ZE (Behandlung 1 und 2) bzw. von dem Wasserhahn des Patienten-WC und die damit verbundene Biofilmausprägung zu Beginn des Projekts.

Summary:

A problem occurring in dental surgeries is the microbial contamination of water through biofilm formation in water supply lines of the treatment units.

The study is based on the aspect that the majority of disinfectant producers cannot guarantee a save effect on the asepsis with Oxygenal. Therefore, a new treatment has been proved on the basis of anodic oxidation.

The influence of a regular permanent disinfection with an additional so called intensive disinfection of several contaminated dental units (dental unit 1, 2 and 3) and the outlet of the patient's tap was tested over 7 months with a product called POTOCLEAN®. Microbiological contamination, total chlorine and redox data have been analyzed regularly.

The following can be filed concerning dental unit 1 and 2 (about 13 years old): By the intensive disinfection (at 3 different dates) lasting several hours, the number of germs could be reduced for a short period of time (less than 7 d); this effect merely lasted until the

following measure (one week later). After that, data was rising again although POTOCLEAN® was constantly low dosed (1 mg/l).

Because of the strong emanciation of chlorine in comparison to the little input chlorine, low total chlorine data has been evaluated in the routine measures. Redox results show a similar tendency because the electrochemical data has been kept low by the little efficacy of the sodium hypochlorite. Alltogether, there has been an increase of the data during and a short period of time after the intensive disinfections which is induced by the higher amount of POTOCLEAN®. But as soon as the microorganisms can rejuvenate as a result of the lower amount of POTOCLEAN®, total chlorine and redox data decrease again because the emanciation of chlorine rises.

Dental unit 3 represents an object which is essentially easier to treat by disinfectants because of the advantageous construction (prevention of water stagnation etc.) and the generally lower microbial contamination (which is also conditioned by the age). At the latest of the first intensive disinfection, all microbial data was sustainably at 0.

Important influencing factors were the age and the construction of two of the three dental units and of the patient's tap and related to that the huge contamination at the beginning of the project.

Literatur

1. Anaissie E, Penzak S, Dignani C. The hospital water supply as a source of nosocomial infections. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1483-1492
2. Atlas RM, Williams JF, Huntington MK. Legionella contamination of dental-unit waters. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61(4): 1208-1213.
3. Bachfeld D. Analyse des Hygienestatus im Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Universität Greifswald ergänzt durch eine experimentelle Studie zur Wirkung von Guanidinthiocyanat auf Nickel-Titan Instrumente. Diss Med Fak Univ Greifswald, 2009.
4. Barbeau J, Tanguay R, Faucher E, Avezard C, Trudel L, Côté L, Prévost AP. Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62 (11): 3954-3959.
5. Blanc D, Nahunana I, Petgnat C, Wenger A, Bille J, Francioli P. Faucets as a reservoir of endemic *Pseudomonas aeruginosa* colonization/infections in intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30:1964–1968.
6. Botzenhart K. Desinfektion von Wasser. In: Kramer A., Assadian O (Hrsg). *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung Qualitätssicherung der Hygiene in Industrie, Pharmazie und Medizin*. Stuttgart: Thieme; 2008; 184-190.
7. Carlson S, Hässelbarth U. Das Verhalten von Chlor und oxydierend wirkenden Chlorsubstitutionsverbindungen bei der Desinfektion von Wasser. *Jahrbuch vom Wasser* 1968; 36:266-83.
8. de Gruyter W. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. Berlin: de Gruyter; 2002; 1419.
9. DIN 38411 T (1983) Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K) Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung von Wasserproben (K 1).
10. DIN EN ISO 6222 (1999): Quantitative Bestimmung der kultivierbaren Mikroorganismen.
11. DIN EN ISO 9308-1 (2001): Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien - Teil 1: Membranfiltrationsverfahren (ISO 9308-1:2000); Deutsche Fassung EN ISO 9308-1:2000.
12. DVGW-Arbeitsblatt W 551: Trinkwassererwärmungs- und Leitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums; Planung,

- Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH: Bonn, 2003.
13. Exner M, Christiansen B, Flemming H-C, Gebel J, Kistemann T, Kramer A, Martiny H, Mathys W, Nissing W, Pleischl S, Simon A, Trautmann M, Zastrow K-D, Engelhart S. *Pseudomonas aeruginosa* – Plädoyer für die Einführung eines technischen Maßnahmewertes in die Novelle der Trinkwasserverordnung. Antrag der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH). *Hyg Med* 2010; 35(10):370-379.
 14. Exner M, Kramer A, Lajoie L, Gebel J, Engelhart S, Hartemann P. Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am J Infect Control* 2005; 33: 26-40.
 15. Gollnisch A, Gollnisch C, Klühspies K. Diskussion des Einsatzes von Desinfektionsverfahren zur Inaktivierung von Legionellen unter Betrachtung rechtlicher Vorgaben. *Hygieneinspektor* 2003; 12: 7.
 16. Grohmann A. Desinfektion von Trinkwasser. In: Grohmann A, Höll K (Hrsg) *Wasser. Nutzung im Kreislauf, Hygiene, Analyse und Bewertung*, 8. Aufl. Berlin: de Gruyter; 2002; 631.
 17. Groß U. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Stuttgart: Thieme; 2006; 182.
 18. Hahn H, Kaufmann SHE, Schulz TF, Sauerbaum S. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Heidelberg: Springer; 2009; (a) 169, (b) 610.
 19. Hoffman P, Bradley C, Ayliffe G. *Disinfection in Healthcare*, 3rd ed. Malden Oxford Carlton: Blackwell; 2004; 8-16, 26-39.
 20. Kaltenbach & Voigt Dental GmbH. *KaVo ESTETICA® E80* Übertreffende Ergonomie in ihrer schönsten Form. Firmenbroschüre 2009; 40-41.
 21. Kettering JD, Stephens JA, Munoz-Viveros CA, Naylor WP. Reducing bacterial counts in dental unit waterlines. *J Am Dent Assoc* 2002; 133: 1199-1206.
 22. Korakli M, Ehrmann M. Pasteurisierung von Lebensmitteln. In: Kramer A., Assadian O (Hrsg). *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung Qualitätssicherung der Hygiene in Industrie, Pharmazie und Medizin*. Stuttgart: Thieme; 2008; 296-305, 719-725.
 23. McDonnell GE. *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization*. Washington, DC: ASM Press; 2007; 108, 187-188, 207-209, 210, 211.

24. METASYS Medizintechnik GmbH. Sicherheitsdatenblatt gemäß EG-Richtlinie 91/155/EWG. 2002; 1-4.
25. Miller CH, Palenik CJ. Infection Control and Management of Hazardous Materials for the Dental Team. St.Louis: Elsevier Mosby; 2005; 277-297.
26. Mills SE, Karpay RI. Dental waterlines and biofilm-searching for solutions. *Compend Contin Educ Dent* 2002; 23: 237-258.
27. Mills SE. Waterborne pathogens and dental waterlines. *Dent Clin North Am* 2003; 47: 545-557.
28. Monarca S, Garusi G, Gigola P, Spampinato I, Zani C, Sapelli PL. Decontaminatione del sistema idrico del riunito mediante disinfezione e filtrazione. *Minerva Stomatol* 2002; 51: 451-459.
29. Noce L, Di Giovanni D, Putnins EE. An evaluation of sampling and laboratory procedures for determination of heterotrophic plate counts in dental unit waterlines. *J Can Dent Assoc* 2000; 66: 262-268.
30. Otte A, Vacata V, Exner M, Gebel J. Efficiency of chlorine, chlorine dioxide and UV-C irradiation on biofilm removal and prevention in silicone tubes with running tap water [poster]. *Proceedings of Biofilms 2004 Oct 24–26: Structure and Activity of Biofilms; Oct 24–26; Las Vegas, Nev. Las Vegas: The Conference.*
31. Panagakos FS, Lassiter T, Kumar E. Dental unit waterlines: review and product evaluation. *J N J Dent Assoc* 2001; 72 (2): 20-25.
32. Pankhurst CL, Coulter WA. Do contaminated dental unit waterlines pose a risk of infection? *J Dent* 2007; 35(9): 712-720.
33. Pankhurst CL, Johnson NW, Woods RG. Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific arguments. *Int Dent J* 1998; 48: 359-368.
34. Pankhurst CL, Philpott-Howard JN. The microbiological quality of water in dental chair units. *J Hosp Infect* 1993; 23:167–174.
35. Paszko-Kolva C, Shahamat M, Keiser J, Colwell R R. Prevalence of antibodies against *Legionella* species in healthy and patient populations. In: Barbaree J M, Breiman R F, Dufour A P (ed.). *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. American Society for Microbiology: Washington, 1993; 24–26.
36. Pederson ED, Stone ME, Ragain JC, Simecek JW. Waterline biofilm and the dental treatment facility: a review. *Gen Dent* 2002; 50(2), 190-195.

37. Pitten F-A, Rudolph P, Kramer A. Mikrobiologische Qualität von Trinkwasser in Risikobereichen. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2001; 44: 155-158.
38. Reuter S, Sigge A, Wiedeck H, Trautmann M. Analysis of transmission pathways of *Pseudomonas aeruginosa* between patients and tap water outlets. Crit Care Med 2002; 30: 2384–2385.
39. RKI. Infektionsprävention in der Zahnheilkunde – Anforderungen an die Hygiene. Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2006; 49:375-394.
40. RKI. Liste der vom Robert-Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel- und verfahren. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2007; 50: 1335-1356.
41. RKI. *Pseudomonas aeruginosa* in einem Trinkwassernetz. Erfahrungsbericht zu den eingeleiteten Maßnahmen des Gesundheitsamtes. Epid Bull 2002; 40: (a)337, (b)338.
42. RKI. Zur Situation wichtiger Infektionskrankheiten in Deutschland: Legionellose im Jahr 2006. Epid Bull 2007; 50: 469-470.
43. Robert M., Barbeau J, Pré'vost A P, Charland R. Dental unit water lines: a propitious environment for bacterial colonization. J Dent Que'bec 1994; 31: 205–211.
44. Sabria M, Yu VL (2002) Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. Lancet Infect Dis 2(6): 368–373.
45. Sacchetti R, Baldissarri A, De Luca G, Lucca P, Stampi S, Zanetti F. Microbial contamination in dental unit waterlines: comparison between ER: YAG laser and turbine lines. Ann Agric Environ Med 2006; 13: 275-279.
46. Santiago JI, Huntington MK, Johnston MA. Microbial contamination of dental unit waterlines: short and long term effects of flushing. Gen Dent 1994; 45:528-535.
47. Schaal KP, von Graevenitz A. Pseudomonaden und andere anspruchslose, nicht fermentierende, gramnegative Bakterien. In: Brandis H, Pulverer G (Hrsg). Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. 6. Auflage. Stuttgart: Fischer; 1988; 380–390.
48. Schel AJ, Marsh PD, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, Cate JM, Østergaard E, Moorer WR, Mavridou A, Kamma JJ, Mandilara G, Stösser L, Kneist, Arujo R, Contreras N, Goroncy-Bermes P, O'Mullane D, Burke F, O'Reilly P, Hourigan G, O'Sullivan M, Holman R, Walker JT. Comparison of the efficacies of


- disinfectants to control microbial contamination in dental unit water systems in general dental practices across the European Union. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72 (2): 1380-1387.
49. Schmidt A, Beermann K, Bach E, Schollmeyer E. Disinfection of textile materials contaminated with *E. coli* in liquid carbon dioxide. *Cleaner Production* 2005; 13 (9): 881-885.
 50. Schwenk R. *Pseudomonas aeruginosa* in einem Trinkwassernetz. *Epid Bull (RKI)* 2002; 40:337–338.
 51. SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser Version 11. 2007; 1-11.
 52. Szymanska J. Bacterial decontamination of DUWL biofilm using Oxygenal 6. *Ann Agric Environ Med* 2006; 13 (1): 163-167.
 53. Szymańska J. Control methods of the microbial water quality in dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med* 2003; 10: 1-4.
 54. Szymańska J. Endotoxin level as a potential marker of concentration of Gram-negative bacteria in water effluent from dental units and in dental aerosols. *Ann Agric Environ Med* 2005; 12: 229-232.
 55. Szymańska J, Sitkowska J, Dutkiewicz J. Microbial contamination of dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med* 2008; 15(2): 173-179.
 56. Tagungsbericht. Ergebnisse einer Expertenanhörung am 31.3.2004 im Universitätsklinikum Bonn. Hausinstallationen, aus denen Wasser für die Öffentlichkeit bereitgestellt wird, als potenzielles Infektionsreservoir mit besonderer Berücksichtigung von Einrichtungen zur medizinischen Versorgung – Kenntnisstand, Prävention und Kontrolle. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 2006; 49:681-686: DOI 10.1007/s00103-006-1284-x.
 57. Trautmann M, Michalsky T, Wedeck H, Radosavljevic V, Runke M. Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infection of ICU Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22: 49–52.
 58. Trautmann M, Royer H, Helm E, May W, Haller M. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into transmission pathways between hospital water and patients. *Filtration (1 Suppl)* 2004; 63–70.

59. Valles J, Mariscal D, Cortes P Coll P, Villagra A, Diaz E, Artigas A, Rello J. Patterns of colonization by *Pseudomonas aeruginosa* in intubated patients: a 3-year prospective study of 1607 isolates using pulsed-field gel electrophoresis with implications for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2004; 30:1768–1775.
60. Venczel VL, Arrowood M, Hurd M, Sobsey MD. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 1598-1601.
61. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (TrinkwV) vom 21.05.2001 Anlage 1 (zu § 5 Abs. 2 und 3) Mikrobiologische Parameter; 16-17 (BGBl I 970) TrinkwV 2001.
62. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (TrinkwV) vom 21.05.2001 (BGBl I 959).
63. Vianelli N, Giannini MB, Quarti C, Bucci Sabattini MA, Fiacchini M, de Vivo A, Graldi P, Galli S, Nanetti A, Baccarani M, Ricci P. Resolution of a *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a hematology unit with the use of disposable sterile water filters. *Haematologica* 2006; 91:983–985.
64. Walker RJ, Burke FJ, Miller CH, Palenik CJ. An investigation of microbial contamination of dental unit air and water lines. *Int Dent J* 2004; 54: 438-444.
65. Wasserleitungen SYSTEMATICA TA_1060-Plaene_EU[1].pdf. Kaltenbach & Voigt Dental GmbH .
66. Watanabe E, Agostinho AM, Matsumoto W, Ito IY. Dental unit water: bacterial decontamination of old and new dental units by flushing water. *Int J Dent Hygiene* 2008; 6 (1): 56–62.
67. Watanabe T, Furukawa S, Hirata J, Koyama T, Ogihara H, Yamasaki M. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by high-Pressure carbon dioxide treatment. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(12): 7124-7129.
68. WHO: Guidelines for Drinking-Water Quality. 3rd Edition 2008; 1 Recommendations. Geneva; 107.
69. Whitehouse R L S, Peters E, Lizotte J, Lilge C. Influence of biofilms on microbial contamination in dental unit water. *J Dent* 1991; 19: 290–295.

70. Witte E. Landesamt für Gesundheit und Soziales Mecklenburg Vorpommern Außenstelle Greifswald – Abteilung Gesundheit. Prüfbericht vom 02.10.2008 und 09.10.2008.
71. XenMed AG. Sicherheitsdatenblatt POTOCLEAN®. 2007; 1-4.

Elektronische Medien

72. http://www.carela.com/images/pdf/de/downloads/Trinkwasser/carela_bio-des.pdf
73. Trinkwasserverordnung im Internet:
<http://www.dvgw.de/fileadmin/dvgw/wasser/recht/trinkwvo.pdf>
74. http://www.hach-lange.co.uk/shop/action_q/download%3Bdocument/DOK_ID/10482/type/pdf/lkz/DE/spkz/de/TOKEN/qVOe7EoQGWZtUBwz6L5MyYxzym4/M/dKqgTQ
75. <http://www.helmholtz-muenchen.de/fileadmin/FLUGS/PDF/Themen/Krankheitsbilder/Legionellen.pdf>
76. <http://www.kavo.com/Default.aspx?navid=6700&oid=002&lid=De>
77. http://www.waterclean.de/index.php?article_id=4&clang=0

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	SOP 2-03	Version: 11
	Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser	SOP-02-03-11

erstellt:	geprüft:	freigegeben:

Inhalt: Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser

1 Zweck/Prinzip


- Diese SOP regelt die grundlegenden Anweisungen zur mikrobiologischen Wasseruntersuchung.


2 Grundlagen des Verfahrens:


- Trinkwasserverordnung (TrinkWV) in der Fassung vom 05.12.1990
- Trinkwasserverordnung (TrinkWV) in der Fassung vom 21.05.2001
- DIN EN ISO 6222: Quantitative Bestimmung der kultivierbaren Mikroorganismen. Juli 1999
- DIN EN ISO 9308-1: Nachweis und Zählung von *E. coli* und coliformen Bakterien. Juli 2001
- DIN 38411 (Teil 1) Mikrobiologische Verfahren. Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung von Wasserproben (K1); 1983
- Bei Untersuchung von Trinkwasser:
 - Nachweis der Gesamtkoloniezahl entsprechend alter Trinkwasser-Verordnung (entsprechend Empfehlung des Sozialministeriums)
 - Bei Kundenwunsch erfolgt die Bestimmung der Gesamtkoloniezahl auch nach neuer Trinkwasserverordnung
 - Bestimmung von *E. coli* und coliformen Keimen stets nach neuer Trinkwasserverordnung
- Bei Untersuchung von Badewasser
 - Verwendung der Untersuchungsgänge entsprechend alter Trinkwasserverordnung


3 Abweichungen vom Normverfahren:


- Nachweis und Zählung von *E.coli* und coliformen Bakterien: Verlängerung des Nachweises auf Lactose TTC- Agar wird nicht durchgeführt

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	<p style="text-align: center;">SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: <u>11</u> SOP-02-03-<u>11</u></p>
<p>4 Materialien:</p> <p>3.1 Geräte und Hilfsmittel</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wasserflaschen, 250 ml • Pinzette • wasserfester Signierstift • Membranfiltergerät • Kühlschrank • Brutschrank • Koloniezählgerät • Autoklav • UV-Lampe (Wellenlänge 254 nm) • Brenner • Pipette <p>3.2 Reagenzien:</p> <ul style="list-style-type: none"> • vergällter Ethanol (VWR 1.00974.2511) • Na-thiosulfat Lösung (Na₂S₂O₃) 15,811 g/l (VWR 1.06512.2500) • Bactident Oxidase Teststäbchen (VWR 1.13300.0001) • Kovács Reagenz (VWR 1.09293.0100) <p>3.3 Verbrauchsmaterial</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sterile Falcon-Röhrchen (Sarstedt 55/468.001) • Pipettenspitzen (steril) für 5 ml (VWR 612F9459); 1 ml (Sarstedt 70.762) und 0,1 ml (Sarstedt 70.760.002) • Einmaluntersuchungshandschuhe Größe S (VWR 1122361) • Petrischalen (Sarstedt 86.1472) • Membranfilter (VWR 5125025) • Händedesinfektionsmittel • Filterpads <p>3.4 Nährmedien:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Trypton (Roth Art.8952.1)</u> • <u>Natriumchlorid (VWR 27800.291)</u> • Hefeextraktagar (VWR 1.13116.0500) • <u>DEV Agar Basis (Profos 311502) (1% Pepton, 1% Fleischextrakt)</u> • TBA-Medium • Tryptophan-Bouillon (VWR 1.10694.0500) • Lactose-TTC-Agar (VWR 1.07680.0500) • Laktose Bouillon (VWR 1.1069.05000) 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	<p style="text-align: center;">SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: <u>11</u> SOP-02-03-<u>11</u></p>
<ul style="list-style-type: none"> • Endo-Agar (VWR 1.04044) • Simons-Ctrat-Agar (VWR 1.02501) • Glucose-Boullion (1.10686) <p>3.5 Testorganismen</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. coli</i> <p>4 Durchführung:</p> <p>4.1 Probenahme</p> <ul style="list-style-type: none"> • Entsprechend SOP 2-23 • Die Bearbeitung der Trinkwasserproben erfolgt unverzüglich (mindestens am gleichen Arbeitstag) nach Probenannahme. <p>4.2 Probenvorbereitung</p> <ul style="list-style-type: none"> • vor Öffnen der Behälter mit dem Wasser für die Untersuchung diese 3x schwenken • vor dem Gebrauch die Metallfritte in Alkohol tauchen und abflammen • den Edelstahlaufsatz der Filtrationsanlage mit Alkohol einsprühen und abflammen • anschließend mit sterilem Aqua.dest. spülen um sicherzustellen, dass der Aufsatz abgekühlt ist • Membranfilter auflegen und Untersuchung durchführen <p>4.3 Prüfdurchführung</p> <p>4.3.1 Entsprechend neuer Trinkwasserverordnung</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bestimmung der kultivierbaren Mikroorganismen <ul style="list-style-type: none"> ○ Hefeextraktagar schmelzen und im Wasserbad bei 45 ± 1 °C für maximal 4 h aufbewahren (bei Überschreitung der 4 h Medium verwerfen!) ○ je 1 ml Probe in eine der 2 Petrischalen geben ○ 12 ml des geschmolzenen Mediums dazugeben ○ durch leichte Drehbewegungen vorsichtig mischen ○ Medium verfestigen lassen ○ Zeit zwischen Zugabe der Probe und Zugabe des Mediums darf 15 min nicht überschreiten! ○ Platten umdrehen ○ eine Platte bei 36 ± 2 °C für 44 ± 4 h aerob inkubieren ○ die andere Platte bei 22 ± 2 °C für 68 ± 4 h aerob inkubieren 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
 <p>HYGIENE NORD GMBH</p>	<p>SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: 11 SOP-02-03-11</p>
<ul style="list-style-type: none"> ○ Platten nach der Herausnahme aus dem Brutschrank so schnell wie möglich auswerten! ○ Wenn dies nicht möglich ist, kann eine Lagerung über max. 48 h bei 5 ± 3 °C erfolgen. ○ Anzahl der KbE/ml ist für jede Inkubationstemperatur entsprechend des Laborlaufzettels anzugeben. ○ Werden keine Kolonien gezählt, wird das Ergebnis als nicht nachgewiesen in einem Milliliter angegeben (n.n./ml) ○ Werden mehr als 300 Kolonien bzw. ein Rasenwachstum festgestellt, so wird das Ergebnis mit >300 KbE/ml bzw. mit Näherungswerten angegeben <ul style="list-style-type: none"> ● Nachweis und Zählung von <i>E.coli</i> und coliformen Bakterien <ul style="list-style-type: none"> ○ Standardtest <ul style="list-style-type: none"> ▪ 100 ml Probe wird durch eine Membran filtriert ▪ Membran mit einer sterilen Pinzette entnehmen und auf einen Lactose-TTC-Agar legen (ohne Einschluss von Luftblasen) ▪ dieses Medium (mit der Membran) wird für 21 ± 3 h bei 36 ± 2 °C inkubiert ▪ Verlängerung entfällt ▪ typische Kolonien auf der Membran als lactose- positiv werten ▪ typische Kolonien: im Medium unter der Membran gelbe Farbentwicklung ▪ Subkultur der typischen Kolonien (bei hohem Aufkommen mind. 10 Kolonien subkultivieren) auf CSA und in Tryptophan-Bouillon anlegen ▪ CSA bei 36 ± 2 °C über 21 ± 3 h inkubieren ▪ Oxidase-Test: mit den gewachsenen Kolonien durchführen ▪ Tryptophan-Röhrchen bei 44 ± 0,5 °C für 21 ± 3 h inkubieren ▪ 0,2 bis 0,3 ml Kovacs` Reagenz hinzufügen und auf Indolbildung untersuchen (kirschrote Farbentwicklung an Oberfläche: indol-positiv) ▪ coliforme Bakterien: lactose-positiv oxidase-negativ indol-negativ ▪ <i>E.coli</i>: lactose-positiv oxidase-negativ indol-positiv ○ Schnelltest <ul style="list-style-type: none"> ▪ 100 ml Probe wird durch eine Membran filtriert ▪ Membran mit einer sterilen Pinzette entnehmen und auf CSA legen (ohne Einschluss von Luftblasen) 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	SOP 2-03	Version: 11
	Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser	SOP-02-03-11
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ dieses Medium (mit der Membran) wird für 4 bis 5 h bei 36 ± 2 °C inkubiert ▪ Membran auf TBA-Medium überführen ▪ dieses Medium (mit der Membran) wird für 19 bis 20 h bei 44 ± 1 °C inkubiert ▪ Membran nach der Inkubation auf ein mit Indol-Reagenz getränktes Filterpad legen ▪ 10 bis 30 min mit einer UV-Lampe bestrahlen ▪ <i>E.coli</i>: alle roten Kolonien auf dem Membranfilter ○ Werden beide Verfahren parallel durchgeführt, ist das Endergebnis für <i>E.coli</i> das Höhere der Beiden! <p>4.3.2 entsprechend alter Trinkwasserverordnung</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bestimmung der <u>Gesamtkoloniezahl</u> <ul style="list-style-type: none"> ○ zur Keimzahlbestimmung je 1 Gussplatte (10 ml <u>DEV Agar</u>, 48 °C, 1 ml Wasser) gießen, aerobe Inkubation bei 20 ± 2 °C und 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h ○ Als <u>Gesamtkoloniezahl</u> wird die Zahl der mit 6- bis 8facher Lupenvergrößerung sichtbaren Kolonien der bei 20 ± 2 °C bzw. 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h bebrüteten <u>DEV Agar</u>-Platten ermittelt. • Bestimmung von <i>E.coli</i> und coliformen Keimen <ul style="list-style-type: none"> ○ 100 ml H₂O in 50 ml Laktose-Bouillon (3-fach konz.) mit Durham-Röhrchen ○ wenn Laktose-Bouillon positiv (positiver Befund liegt nur dann vor, wenn die Laktose-Bouillon von violett nach gelb umgeschlagen ist UND im Durham-Röhrchen Gasbildung erkennbar ist), werden je eine Oberflächenkultur auf Endo-Agar UND Simons-Citrat-Agar angelegt UND Glucose-Bouillon beimpft ○ Subkultur 0,1 ml aus der Laktose Bouillon auf Endo-Agar bei $36 + 1$ °C 24 h inkubieren ○ Zeigt sich auf dem Endo-Agar Wachstum, dann werden hiervon 1 Öse der Kultur in 10 ml Tryptophan-Bouillon gegeben und bei 36 ± 1 °C 24 h inkubiert UND die Oxidase Reaktion geprüft ○ 0,1 ml aus der Laktose Bouillon in 10 ml Glucose- Bouillon (mit Durham-Röhrchen) bei 44 °C 24 h inkubieren ○ wenn in der Glucose-Bouillon Farbumschlag (purpur→gelb) UND Gasbildung: ⇒ <i>E. coli</i>! ○ Zur Prüfung der Oxidase-Reaktion wird auf einem mit Oxidase-Reagenz getränkten Filterpapierstreifen eine Kultur der Endo-Platte verrieben; kommt es innerhalb von 30 s zu einer Blaufärbung der Kolonien, ist die Reaktion positiv ⇒ kein <i>E. coli</i>, keine Coliformen! 	

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	SOP 2-03	Version: 11
	Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser	SOP-02-03-11

- Bei Trübung der Tryptophan-Bouillon wird diese mit Kovacs-Reagens überschichtet; zeigt sich ein roter Ring, ist die Reaktion positiv (damit ist die Indolbildung belegt).
⇒ *E. coli* (Coliforme möglich)!
- Subkultur 0,1 ml aus der Laktose Bouillon auf Simons-Citrat-Agar geben: Wachstum (Blauverfärbung des Agars)
⇒ kein *E. Coli*, sondern Coliforme!
- Nachfolgende Tabelle fasst die Differenzierungskriterien zur *E. coli*- und Coliformen-Diagnostik zusammen.

Tabelle: Identifizierungsmerkmale von *E. coli* und Coliformen


Reaktion	<i>E. coli</i>	Coliforme Keime
Oxidase-Reaktion	negativ	negativ
Indolbildung aus tryptophanhaltiger Bouillon	Positiv	negativ (positive Reaktion möglich)
D-Glucose-Spaltung mit Gas- und Säurebildung	Positiv	negativ (positive Reaktion möglich)
Citratverwertung	negativ	positiv


5 Auswertung


- Entsprechend der Ergebnisse der Identifizierungsreaktionen erfolgt die Angabe coliforme Keime/*E. coli*/Gesamtkoloniezahl


6 Ergebnisangabe und Dokumentation

- Von Beginn der Probenahme über die Bearbeitung bis zur Vorlage der Ergebnisse beim zuständigen Laborleiter wird bei allen Trinkwasserproben der Laborlaufzettel mitgeführt und sukzessive ausgefüllt.
- Nach Abschluss der Untersuchung wird das Formblatt von demjenigen, der die Untersuchung maßgeblich durchgeführt und insb. die Platten abgelesen hat, unterzeichnet (Signum) und dem zuständigen Laborleiter (Frau Harfenstein) oder einer anderen, autorisierten Person (Bereichsleiter, Technischer Leitung) vorgelegt.
- Ist das Ergebnis plausibel und das Formblatt vollständig und sauber ausgefüllt, wird der Befund zur Übermittlung an den Auftraggeber freigegeben. Dies ist durch Signum zu bestätigen.
- Die Ergebnisse können dann von der Laborleitung bzw. deren Vertretung in Form von Bereichsleiter oder Technischer Leitung an den Auftraggeber übermittelt werden.
- Die Ergebnisübermittlung erfolgt entsprechend SOP 1-09.

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	<p style="text-align: center;">SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: 11 SOP-02-03-11</p>
<p>7 Validierung</p> <ul style="list-style-type: none"> • entfällt <p>8 Qualitätssicherung:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zur Qualitätssicherung werden halbjährlich Ringversuche durchgeführt. • Die Ergebnisse dieser Kontrollen werden bei der Hygiene Nord GmbH dokumentiert. • Parallel werden zu allen Untersuchungen Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt, die stets eine Aussage über die Qualität der verwendeten Nährböden und der Untersuchungsgänge zulassen. <p>Diese werden wir folgt durchgeführt:</p> <p><u>Gesamtkoloniezahl alte Trinkwasserverordnung:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Als Negativkontrolle wird je 1 Gussplatte (10 ml <u>DEV Agar</u>, 48 °C) aerob bei 20 ± 2 °C und 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h inkubiert ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml NaCl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und daraus eine Verdünnungsreihe in NaCl/Trypton bis 10⁻⁷ hergestellt ○ Die Keimzahl des angesetzten Prüfkeimes in der NaCl/Trypton-Verdünnungslösung sind zu bestimmen und zu dokumentieren ○ Die Keimzahlen der Gussplatte darf höchstens eine halbe log-Stufe von der Kontaminationslösung abweichen (d.h. wenn die Ausgangslösung eine Keimzahl von z.B. 3.5x10⁹ KBE/ml hat, so darf die Gussplatte 8,5x10⁸ KBE/ml nicht unterschreiten) ○ Aus der 10⁻⁷ Verdünnung wird je 1 Gussplatte (ca.10 ml <u>DEV Agar</u>, 48 °C, 1ml Keimsuspension,) hergestellt u. aerob bei C 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h inkubiert <p><u>Gesamtkoloniezahl neue Trinkwasserverordnung:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Als Negativkontrolle wird je 1 Gussplatte (12 ml Hefeextraktagar, 45°C) aerob bei 20 ± 2 °C für 68 ± 4 h und 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h inkubiert ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml NaCl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und daraus eine Verdünnungsreihe in NaCl/Trypton bis 10⁻⁷ hergestellt ○ Die Keimzahl des angesetzten Prüfkeimes in der NaCl/Trypton-Verdünnungslösung sind zu bestimmen und zu dokumentieren ○ Die Keimzahlen der Gussplatte darf höchstens eine halbe log-Stufe von der Kontaminationslösung abweichen (d.h. wenn die Ausgangslösung eine Keimzahl von z.B. 3.5x10⁹ KBE/ml hat, so darf die Gussplatte 8,5x10⁸ KBE/ml nicht unterschreiten) ○ Aus der 10⁻⁷ Verdünnung wird je 1 Gussplatte (ca.12 ml Hefeextraktagar, 45 °C, 1ml Keimsuspension,) hergestellt und aerob bei 36 ± 1 °C für 44 ± 4 h inkubiert 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	<p style="text-align: center;">SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: <u>11</u> SOP-02-03-<u>11</u></p>
<p>Nachweis von E.coli u. coliformen Keimen nach alter Trinkwasserverordnung</p> <p>Laktose-Bouillon:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Als Negativkontrolle wird 100 ml steriles VE-Wasser in 50 ml Laktose-Bouillon (3-fach konz.) gegeben und bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für $44 \pm 4 \text{ h}$ inkubiert ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml Nacl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und aus dieser Keimsuspension eine Ösenfüllung in 100ml steriles VE-Wasser gegeben ○ Dieses mit E.coli angereicherte Wasser wird in 50 ml Laktose-Bouillon (3-fach konz.) mit Durham-Röhrchen gegeben und bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für $44 \pm 4 \text{ h}$ inkubiert <p>Endoagar:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Eine Petrischale mit Endoagar bebrütet bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h dient als Negativkontrolle ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml Nacl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und aus dieser Keimsuspension eine Ösenfüllung auf Endoagar ausstreichen u. bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrüten <p>Citratagar:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Eine Petrischale mit Citratagar bebrütet bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrüten dient als Negativkontrolle ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse Citrobacter freundii ATCC 8090 in 10ml Nacl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und aus dieser Keimsuspension eine Ösenfüllung auf Citratagar ausgestrichen u. bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrüten <p>Glucose-Bouillon:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Ein Röhrchen mit 10ml Glucose Bouillon u. Durham-Röhrchen wird als Negativkontrolle bei $44 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrütet ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml Nacl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und aus dieser Keimsuspension eine Ösenfüllung in das Glucose-Röhrchen gegeben u. bei $44 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrütet <p>Oxidase-Teststreifen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Als Negativkontrolle dient der Testkeim E.coli ATCC 10536, indem man von einer Subkultur eine Ösenfüllung auf das Reaktionsfeld reibt ○ Als positive Kontrolle dient der Testkeim Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442, indem man von einer Subkultur eine Ösenfüllung auf das Reaktionsfeld reibt 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: 11.11.2007
	<p style="text-align: center;">SOP 2-03</p> <p style="text-align: center;">Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser</p>	<p>Version: 11</p> <p>SOP-02-03-11</p>
<p>Tryptophan-Bouillon/Indolbildung:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Als Negativkontrolle wird ein Röhrchen Tryptophanbouillon bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h inkubiert ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in die Tryptophanbouillon gerieben und bei $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h bebrütet, nach der Bebrütungszeit wird dies mit 0,5ml Kovacs-Reagens überschichtet <p>Nachweis von E.coli u. coliformen Keimen nach neuer Trinkwasserverordnung</p> <p>Laktose TTC-Agar:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Zur Negativkontrolle werden 100ml steriles VE durch einen Membranfilter filtriert u. die Membran wird auf den Laktose TTC Agar gelegt u. für $21 \pm 3 \text{ h}$ bei $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert ○ Für die Positivkontrolle wird eine Öse E.coli ATCC 10536 in 10ml NaCl/Trypton-Verdünnungslösung gerieben und daraus eine Verdünnungsreihe in NaCl/Trypton bis 10^{-7} hergestellt ○ Die Keimzahl des angesetzten Prüfkeimes in der NaCl/Trypton-Verdünnungslösung sind zu bestimmen und zu dokumentieren ○ Die Keimzahlen auf dem Filter darf höchstens eine log-Stufe von der Kontaminationslösung abweichen (d.h. wenn die Ausgangslösung eine Keimzahl von z.B. $3.5 \times 10^9 \text{ KBE/ml}$ hat, so darf die Filterplatte $3,5 \times 10^8 \text{ KBE/ml}$ nicht unterschreiten) ○ Aus der 10^{-7} Verdünnung werden 1ml entnommen und zu 100ml sterilem VE gegeben ○ Dieses beimpfte Wasser wird filtriert u. die Membran auf den Laktose TTC Agar gelegt, anschließend für $21 \pm 3 \text{ h}$ bei $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert <p>Tryptophan-Bouillon/Indolbildung: siehe Kontrolle nach alter Trinkwasserverordnung</p> <p>Oxidase-Teststreifen: siehe Kontrolle nach alter Trinkwasserverordnung</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Die Ergebnisse dieser Kontrollen werden kontinuierlich dokumentiert. <p>9 Ergänzungen</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 1x wöchentlich (Freitag nachmittags) die Anlage sterilisieren 		

	Standardarbeitsanweisung	Gültig ab: <u>11.11.2007</u>
	SOP 2-03 Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser	Version: <u>11</u> SOP-02-03- <u>11</u>
<p>10 Mitgeltende Unterlagen</p> <ul style="list-style-type: none"> • LLZ 02 Laborlaufzettel Badewasser • SOP 1-02 Probeneingang • SOP 1-06 Bearbeitung von Prüfaufträgen • SOP 1-08 Allgemeinübersicht Prüffarten/Kontrollen • SOP 1-09 Prüfberichte • SOP 2-01 Bearbeitung von Prüfaufträgen • SOP 2-02 Sterilisation • SOP 2-04 Mikrobiologische Untersuchung von Badebeckenwasser • SOP 2-23 Probenahme Trinkwasser <p>11 Anlagen</p> <ul style="list-style-type: none"> • LLZ 01 Laborlaufzettel Trinkwasser • LLZ 03 Laborlaufzettel Ausgangskeimzahl • LLZ 04 Laborlaufzettel allgemein • Trinkwasserverordnung (TrinkWV) in der Fassung vom 05.12.1990 • Trinkwasserverordnung (TrinkWV) in der Fassung vom 21.05.2001 • DIN EN ISO 6222: Quantitative Bestimmung der kultivierbaren Mikroorganismen. Juli 1999 • DIN EN ISO 9308-1: Nachweis und Zählung von <i>E. coli</i> und coliformen Bakterien. Juli 2001 • DIN 38411 (Teil 1) Mikrobiologische Verfahren. Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung von Wasserproben (K1); 1983 		

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, den 11.01.2011

Lisa-Dorothea Taube

Danksagung

Hiermit möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Kramer, Direktor des Instituts für Hygiene und Umweltmedizin, für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas und seine Unterstützung bei der Durchführung und dem Verfassen bedanken.

Mein großer Dank gilt auch Herrn Koburger, Mitarbeiter der Hygiene Nord GmbH, der mich allzeit in jeder Hinsicht tatkräftig und konstruktiv unterstützt hat. Sein Einsatz galt nicht nur der Erfassung und Aufstellung der Daten, sondern auch der unermüdlichen Hilfe bei der Durchführung des Projektes.

An dieser Stelle seien auch die Labormitarbeiter der Hygiene Nord genannt, denen ich für die Mitarbeit bei der Untersuchung der Proben danke.

Auch dem Praxisteam der von mir untersuchten Zahnarztpraxis bin ich zu großem Dank für die Geduld und Hilfsbereitschaft während der Durchführung der Messungen verpflichtet.