Aus der

Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München Vorstand: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Untersuchungen zur Filtrationswirkung von chirurgischen sowie FFP3-Gesichtsmasken gegen Schleifstaubbelastungen durch Composite-Materialien in der Zahnmedizin

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Sebastian Breul aus Köln 2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Franz-Xaver Reichl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dennis Nowak

PD Dr. Felicitas Mayinger

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.02.2022

Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung/Abstract	1
	1.1 Zusammenfassung	1
	1.2 Abstract	2
2.	Einleitung	3
	2.1 Gesundheitsgefährdung von zahnärztlichem Personal durch Beschleifen von Composite-Materialien	3
	2.2 Hinweise auf Gefährdung durch Nanopartikel < 100 aus Composite-Stäuben	3
	2.3 Zunahme von Atemwegserkrankungen bei zahnärztlichem Personal	4
	2.4 Tragen von Schutzmasken	5
	2.5 Effizienz von Atemschutzmasken	5
	2.6 Hauptziel der vorliegenden Untersuchung	6
3.	Material und Methoden	7
	3.1 Im Versuch verwendete Composite-Materialien	7
	3.2 Gewinnung von compositehaltigem Staub	8
	3.3 Geräteaufbau für das Sammeln von Compositestaubpartikeln	9
	3.4 Vergleich der Wirksamkeit der Atemschutzmasken	11
	3.6 Quantitative Bestimmung der Filtrationseffizienz	12
	3.7 TEM Größenbestimmung der Composite-Stäube	12
	3.8 Ermittlung der minimalsten Ausdehnung der Compositepartikel	13
	3.9 Statistische Analyse	14
4.	Ergebnisse	14
	4.1 Gravimetrische Analyse der einatembaren und alveolengängigen Staubanteile	e 14
	4.2 Charakterisierung der separierten Compositepartikel durch TEM	15
5.	Diskussion der Ergebnisse	19
	5.1 Vorgaben der FDA für die Zertifizierung von chirurgischen Masken	19
	5.2 Vorgaben durch die Conformité Européenne (CE), für die Zertifi-zierung von chirurgischen Masken	19

5.3 Evaluation der Schutzwirkung von chirurgischen Masken	20
5.4 Versuchsaufbau zur Bewertung der Compositestaubbelastung	20
5.5 Festlegung der Dauer des Schleifvorganges	21
5.6 Wirksamkeit von Wasserstrahl/Spray beim Schleifvorgang	21
5.7 Klinische Messungen während des Schleifvorganges	22
5.8 Freisetzung von Partikeln durch unterschiedliche Poliertechniken	23
5.9 Vorteile des IOM Expositionmeßgerätes bei der Gewichtsbestimmung gegenüber anderen Samplern	24
5.10 Ausblick auf Schwerpunkt zukünftiger Forschung	24
5.11 Filtrationseffizienz von chirurgischer Maske und FPP3-Atemschutzmas	ke 25
5.12 Vorgaben und Empfehlungen für die Grenzwerte der täglichen Nanostaubbelastungen	26
5.13 Aktuelle Diskussion über das Schutzniveau von chirurgischen Masken	27
5.14 Notwendigkeit der Abdichtung der FFP3 Maske gegen das Gesicht	28
5.15 Vorteile des Designs unseres Versuchsaufbaus	29
5.16 Anforderungen an zukünftige Studien zur Belastung durch Nanostäube	30
5.17 Wertigkeit und Vorteil der TEM Analyse für die Größenbestimmung von Nanopartikeln	31
5.18 Schlussbetrachtung zu dieser Untersuchung	32
6. Literaturverzeichnis	33
7. Abbildungsverzeichnis	36
8. Anhang	37
8. 1 Anatomie und Funktion der oberen und unteren Atemwege	37
8.2 Oberer Luftweg	37
8.3 Die unteren Atemwege	39
8.4 Literatur zur Anatomie und Funktion der oberen und unteren Atemwege	43
8.5 Abbildungsverzeichnis	43
10. Danksagung	44

45

1.Zusammenfassung/Abstract

1.1 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Schutzwirkung von zwei unterschiedlichen Arten von Gesichtsmasken gegen Staub von Composite-Materialien zu untersuchen sowie Art und Größe jener Partikel zu charakterisieren, welche die Masken durchdringen konnten.

Es wurden sowohl chirurgische als auch Gesichtsmasken mit Filtration (FFP3) getestet. Der zu analysierende Staub wurde von einem kommerziellen mit Nanopartikeln gefertigten Composite-Material gewonnen, das in kleine Blöcke gegossen wurde und zur Bearbeitung in einem Kasten aus Plexiglas untergebracht war. Um eine möglichst hohe Staubexposition innerhalb der Box erzeugen zu können, wurde der Schleifvorgang ohne Wasserkühlung oder Hochvakuum-Evakuierung betrieben. Die freigesetzten Staubpartikel wurden mit Hilfe eines IOM (personal inhalable aerosol sampler) gesammelt, der in einem für unsere Anwendungszwecke angefertigten Phantomkopf untergebracht war. Als Kontrolle dienten Messungen ohne Maske.

Der IOM enthielt eine Kassette mit zwei Filtern zum Sammeln großer inhalierbarer (4-100 µm) und lungengängiger Staubpartikel (<4 µm). Die Menge der Partikel wurde gravimetrisch durch Wiegen der Filter vor und nach dem Beschleifen der Composite-Proben bestimmt und nachfolgend durch eine elektronenmikroskopische Auswertung weiter charakterisiert.

Wenn keine Maske verwendet wurde, war die Partikelsammlung im IOM sowohl bei inhalierbarem als auch bei lungengängigem Staub am höchsten. Am niedrigsten war sie bei der Verwendung von FFP3-Masken, wobei unterschiedliche Größen und Formen von Partikeln gemessen werden konnten.

Die größten Partikel (>1 µm) waren dann zu sehen, wenn keine Maske getragen wurde. Hingegen konnten nur Nanopartikel entdeckt werden, wenn eine der beiden Arten von Gesichtsmasken benutzt wurde.

Obwohl FFP3-Masken eine höhere Filterwirksamkeit der eingeatmeten Staubfraktion als chirurgische Masken zeigten, war das Eindringen einer kleinen Fraktion lungengängiger Partikel bei beiden Masken unvermeidlich.

1.2 Abstract

The aim of this study was to investigate the protection efficiency of two types of face masks against composite dust and to characterize the particles that penetrated through the masks.

Composite dust was created by grinding a commercial nanofilled composite in a plexiglass box without using water cooling or high vacuum evacuation, in order to obtain a worst-case exposure. Dust particles were collected using a personal inhalable aerosol sampler (IOM) fixed inside a custom-made phantom head.

Surgical and filtering facepiece (FFP3) masks were tested, and the situation without a mask served as control. The IOM sampler contained a cassette with two filters to collect large inhalable (4–100 μ m) and respirable dust particles (<4 μ m). The amount of particles was determined gravimetrically by weighing filters before and after composite grinding, and further characterized by electron microscopy. Particle collection for both inhalable and respirable dust was the highest when no mask was used, and the lowest with the use of a FFP3 mask.

Different sizes and shapes of particles were observed, with the largest particles (>1 μ m) being seen when no mask was applied, whereas only nanoparticles could be detected when either type of face mask was applied.

Even though FFP3 masks showed a higher filtration efficacy than surgical masks of the inhalable dust fraction, penetration of a small respirable particle fraction was inevitable for both masks

2. Einleitung

2.1 Gesundheitsgefährdung von zahnärztlichem Personal durch Beschleifen von Composite-Materialien

In der Wissenschaft bestehen seit einiger Zeit erhebliche Bedenken, dass durch Beimischen von Nanopartikeln zu Composite-Materialien, die in der Zahnmedizin häufig verwendet werden, ein bislang in Umfang und Größe nicht vollständig erforschtes Gesundheitsrisiko vorhanden sein kann (1,2).

Ein gewichtiger Grund zur Besorgnis besteht u.a. darin, dass in Praxis oder Klinik zahnärztlich tätiges Personal beim Beschleifen bzw. Polieren von neuen oder beim Entfernen alter Füllungen aus Composite-Materialien in Aerosolen schwebenden Staub einatmet. Dieser kann ausgelöste Nanopartikel enthalten (3,4).

Untersuchungen hierzu haben nachweisen können, dass während intraoraler abrasiver Bearbeitung von Füllungen gewisse Mengen von Staub im Atembereich vom Patienten sowie zahnärztlichem Personal freigesetzt werden, die Nanopartikel enthalten. Diese Partikel können im Bereich der respiratorischen Epithelien der oberen und unteren Atemwege gefunden werden. So konnten in diesen eingeatmeten Stäuben Partikel in Größen von < 4 µm nachgewiesen werden, die gleichzeitig einen hohen Prozentsatz von Partikeln enthielten, die dem Nanobereich (<100 nm) zugeordnet werden müssen (5).

2.2 Hinweise auf Gefährdung durch Nanopartikel < 100 aus Composite-Stäuben

Auch gibt es beachtliche Hinweise darauf, dass durch Inhalation von lungen- und alveolengängigen Partikeln aus dem Bereich < 100 nm unsere Gesundheit geschädigt werden kann. Diese Hinweise werden u.a. mit erhöhten Infektionen der Atemwege, verminderter

Lungenfunktion und veränderter mukoziliärer Clearance in Verbindung gebracht (6-8).

Die schädlichen Wirkungen von Nanopartikeln können auf deren einzigartigen physikochemische Eigenschaften zurückgeführt werden. Da sie durch ihre sehr geringen Abmessungen, ihren relativ großen aktiven Oberflächenanteil, ihre Löslichkeit, ihre Form und Zusammensetzung im Vergleich zu größeren Partikeln gleicher chemischer Zusammensetzung wesentlich stärker reaktiv sind (9).

Auch wenn erste toxikologische Untersuchungen zur Schädlichkeit von Nanopartikeln als relativ ungefährlich eingestuft werden können, so scheint es dennoch sehr ratsam zu sein, das Inhalieren von composithaltigen Stäuben zu vermeiden.

In Anbetracht der beobachteten geringen Auswirkungen auf Bronchialepithelzellen des Menschen (10,11) oder auf alveoläre Makrophagen (12), sind in vitro Stäube von Composite-Materialien in der Lage, nicht gebundene Monomere freizusetzen und in diesen Geweben biologische Veränderungen herbeizuführen.

Theoretisch betrachtet scheinen Composite darüber hinaus auch in der Lage zu sein, Monomere freizusetzen, die von inhalierten Compositestäuben abgeben werden (13).

2.3 Zunahme von Atemwegserkrankungen bei zahnärztlichem Personal

So haben einige Untersuchungen aus den Jahren 1975 bis 1998 darauf hinweisen können, dass unter zahnärztlichem Personal eine Zunahme an Problemen im respiratorischen System zu beobachten ist, wie Atemwegserkrankungen und berufsbedingtes Asthma, obwohl deren Ursachen noch nicht endgültig geklärt sind (14).

Beim Arbeitsschutz in der Medizin schreiben Standardprotokolle zur Verhinderung der Übertragungen von Infektionserregern auf dem

Blutweg die Verwendung von Operationsmasken, Handschuhen, Schutzbrillen und/oder Gesichtsschutz zwingend vor.

So wird von der "American Dental Association" und den "Centers for Disease Control and Prevention" die Verwendung von speziellen Masken im zahnärztlichen Arbeitsbereich befürwortet, die auch als chirurgische Masken bzw. medizinische Masken oder Arbeitsschutzmasken bekannt sind. Hiermit soll die Häufigkeit von akuten und chronischen Atemwegsinfektionen sowohl bei Patienten als auch beim Personal im Gesundheitswesen reduziert werden (15,16).

2.4 Tragen von Schutzmasken

Im Allgemeinen scheint es wissenschaftlich erwiesen und anerkannt zu sein, dass ein Tragen von chirurgischen Masken als Schutz gegen Bioaerosole dienen kann, die beispielsweise von einem Patienten auf einen Maskenträger bzw. auch umgekehrt übertragen werden.

Ferner haben Studien nachvollziehbar darlegen können, dass nur der Patient auf diese Art und Weise geschützt bleibt und nicht der Maskenträger (17,18).

Die hauptsächliche Schwachstelle der chirurgischen Maske als Maskentyp ist das Fehlen einer Abdichtung zwischen dem Gesicht des Trägers und der Maske selbst. Diese Lücke bedingt einen unvollständigen Schutz des Maskenträgers, da Aerosole beim Einatmen ungehemmt in dessen Atemwege gelangen können.

2.5 Effizienz von Atemschutzmasken

Wegen obiger Tatsache besteht eine schon länger anhaltende Diskussion über die Effizienz der Filterleistung der sehr häufig angewendeten chirurgischen Maske. Es hat sich deutlich nachweisen lassen, dass die eingeatmete Luft hauptsächlich zwischen der Lücke des nicht aufliegenden Maskenrandes und dem Gesicht eintritt und nicht wie erforderlich, durch das Filtermedium der Maske geleitet wird (19).

Im Gegensatz zur Filtrationsleistung der chirurgischen Masken gelten die filtrierenden Halbmasken (FFP3) als Atemschutzgeräte mit einer hochwirksamen luftreinigenden Filtration von Partikeln. Sie sollen primär zur Verringerung der ungeschützten Exposition von zahnärztlichem Personal gegenüber Aerosolen beitragen. Wegen obiger Gründe sind Atemschutzmasken vom Typ FFP3 so konstruiert, dass sie sehr dicht und lückenlos der Haut des Gesichts des Trägers anliegen. Mit dieser Abdichtung zum Gesicht wird eine hohe Effizienz in der Filtrationsrate der FFP3-Maske gewährleistet, die ihrerseits strengen Normenkontrollen unterliegt.

Obwohl Gesichts-Atemschutzmasken vom Typ FFP3 in der zahnärztlichen Praxis nicht offiziell und verbindlich eingeführt worden sind, gibt es berechtigte Hinweise, dass sie die Inhalation von Compositestäuben verhindern können (20).

2.6 Hauptziel der vorliegenden Untersuchung

Bislang stehen in der Forschung keine wissenschaftlichen Untersuchungen zur Verfügung, in denen die Effizienz der Filtrationsrate von Atemschutzmasken gegen in Aerosolen schwebende Partikel aus Composit-Materialien quantitativ und qualitativ untersucht wurde.

Daher war es das Hauptziel dieser Studie, den Schutz, d.h. die Filtrationseffizienz gegen Stäube aus Composite-Materialien unter Verwendung zweier verschiedener Arten von Gesichtsmasken (chirurgische Maske und FFP3-Maske) zu untersuchen.

Eine FFP3-Maske unterliegt der EU-Norm EN149:2001 (siehe Material und Methoden). Daher wird sie definiert als ein Gesichts-

Atemschutzgerät mit einer 99% Filtrationseffizienz von Partikeln < 0,3 µm (21).

3. Material und Methoden

3.1 Im Versuch verwendete Composite-Materialien

Nach Anweisungen des Herstellers 3M, Seefeld, Deutschland (Tabelle 1) wurden für die anstehenden Versuche unter Verwendung einer Metallform Blöcke mit den Abmessungen von 17,4 mm Länge, 5,4 mm Breite und 1,6 mm Höhe aus Composite (Filtek Supreme XTE) gegossen.

Unmittelbar nach Applikation des unpolymerisierten Compositematerials in die Metallform wurde dieses mit einer Glasplatte abgedeckt, um die Bildung einer Sauerstoffschicht zu vermeiden. Zur anschließenden Polymerisation wurde die Probe für 40 Sekunden mittels einer Lichtsonde (Bluephase 20i, Hochleistungsmodus; Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein) mit einer Leistung von > 1.000 mW /cm⁻² und einer Wellenlänge von 385 - 515 nm aktiviert.

Tabelle 1 Zusammensetzung des zahnmedizinischen Composite-Materials

Composite	Hersteller	Klassifikation	Harz-Matrix	Füllmaterial	Anteil des Füllmaterials
Filtek Supreme XTE	3M ESPE, Seefeld, Deutschland	Nano- Composite	BisGMA, BisEMA, UDMA, TEGDMA, PEGDMA	• SiO2 (20 nm) • Zirconia- silica clusters (0.6–1.4 µm) with primary particles of 5–20 nm	78.5 wt% 59.5 vol%

Die in Tabelle 1 zusammengestellten Angaben sind der Produktinformation des Herstellers **3M ESPE** entnommen worden. Die Abkürzungen der Bestandteile der Harz-Matrix sind nachfolgend zusammengestellt:

BisEMA = ethoxyliertes Bisphenol A Glycol Dimethacrylat

BisGMA = Bisphenol A Diglycidyl Dimethacrylat

TEGDMA = Triethylen Glycol Dimethacrylat

UDMA = Urethan Dimethacrylat

PEGDMA = Polyethylen Glycol Dimethacrylat

3.2 Gewinnung von compositehaltigem Staub

Da der Durchmesser der Lichtsonde 10 mm betrug, d.h. sie war kleiner als die Länge des auszuhärtenden Probeblocks, wurde jedes Segment dieser Probe für die Polymerisation 40 Sekunden lang belichtet, bis alle Bereiche ausreichend durchgehärtet waren. Ungefähr drei Aushärtungsbelichtungen pro Probe waren hierfür erforderlich, wobei die

Lampenspitze so nahe wie möglich an deren Glasabdeckung positioniert wurde. Die Experimente wurden in einem speziell angefertigten Plexiglasgehäuse (270 x 270 x 420 mm) durchgeführt. Für die Bearbeitung der Proben waren zwei Öffnungen in den Seitenwänden eingelassen, in denen jeweils Gummihandschuhe mit langen Stulpen befestigt waren. Diese ermöglichten eine unbehinderte Handhabung des Winkelstücks.

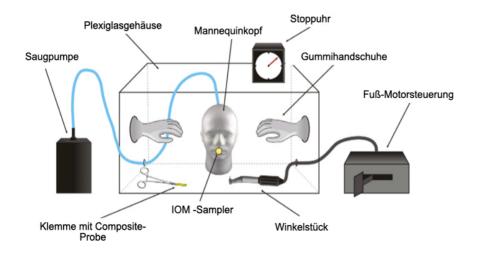


Abbildung 1 Aufbau des Experiments im einem Plexiglasgehäuse mit Mannequinkopf und integrierten IOM-Sampler

3.3 Geräteaufbau für das Sammeln von Compositestaubpartikeln

Um die Filterwirksamkeit der Masken zu testen, wurde ein aus Gips angefertigter Schaufensterpuppen-Kopf (Mannequin) benutzt, in welchem im Bereich von Mund und Nase ein Probennahmegerät für einatembare und alveolengängige Stäube (IOM) befestigt war. Der IOM war etwa 15 cm von der Stelle positioniert, an der durch Beschleifen des Probeblockes Staub gewonnen wurde (Abbildungen 1 und 2).

Für jede Untersuchungsgruppe wurden Blöcke aus Compositematerial (n = 4) in dem geschlossenen Plexiglasgehäuse mit einem Rohdiamanten (Zahnfräser 842314014, Korngröße 100 μm, (Komet Lemgo, Deutschland)) beschliffen. Als Winkelstück wurde ein Kavo Handstück

Intracompact rot verwendet, das von einem elektrischen Mikromotor (EWL K9; K). AvD,s Biberach, Deutschland) angetrieben wurde.

Um sicherzustellen, dass die gleiche Menge an Partikeln bei den Wiederholungen des Schleifvorganges freigegeben wird, wurde jede der vier Composite-Proben für 3 Minuten lang beschliffen. Nach dem Schleifen wurde die Gewinnung von Staub durch eine Absaugpumpe noch für 10 Minuten fortgesetzt. Bei jedem Schleifvorgang wurde für jeden Composite-Block ein neuer Bohrer sowie eine neue Maske bzw. ein neues FFP3 Atemschutzgerät verwendet (Abbildung 3).



Abbildung 2 Lage des IOM ohne Atemschutzmaske, bedeckt mit chirurgischer Maske bzw. FFP3 -Atemschutzmaske

Der IOM wurde im Mannequinkopf so versiegelt, dass nur Luftproben im Bereich vor dem Kopf angesaugt werden konnten. Hierzu wurden gewerbliches Silikon und gebräuchlicher Tesafilm verwendet. Die so erzeugte Abdichtwirkung wurde vor den Messungen mit einer Seifenblasen-Flüssigkeit überprüft.

Der IOM-Probenehmer wurde an eine Saugpumpe zur Probeentnahme angeschlossen (Sidekick Pumpe; SKC, Dorset, UK). Sie war so eingestellt, dass ein nach innen gerichteter Luftstrom von 2 ml pro min erzeugt werden konnte (Kalibriervorrichtung Defender 510; BIOS International, Butler, NJ, USA).



Abbildung 3 Ablaufschema der Bearbeitung der Composite-Proben

3.4 Vergleich der Wirksamkeit der Atemschutzmasken

Für die Wirksamkeitsprüfung der Filtrationsleistung der Masken gab es zwei Testgruppen:

- mit einer chirurgischen Maske (Standard-Ohrbügel-Gesichtsmaske 1826; 3M, St. Paul, MN, USA) und
- II) mit einer FFP3-Maske (FFP3 Disposable Atemschutzgerät 8835; 3M, Bracknell, UK). Diese wurden am Kopf eines Mannequin nach Anweisung der Hersteller befestigt. Um eine unvollständige Abdichtung des Mannequinkopfes gegen die FPP3-Maske zu verhindern, wurde der Rand der Maske mit Scotch-Klebeband (Tesa Extra Power Universal) überklebt

3.5 Gewinnung von Schleifstäuben

Messungen unbeschliffener Compositeblöcke dienten als Negativkontrolle und Messungen beim Schleifen der Compositeblöcke ohne Anwendung einer Maske oder eines Atemschutzgerätes dienten als Positivkontrolle.

Für die Messungen war der IOM-Sampler mit einer Kassette ausgestattet, die zwei hintereinander gelegene Filter enthielt:

- I) eine Scheibe aus Polyurethanschaum (Multidust-Schaumstoffscheibe, 225-772; SKC) und
- II) einen Glasfaser-Filter mit einer Porengröße von 1 μm (225-702; SKC).

Die beiden Filter erlaubten eine Trennung der Partikel der Größe nach, da die größeren einatembaren Partikel (> 4 - 100 μ m) auf einer Polyurethanschaum-Scheibe abgefangen wurden. Die kleineren einatembaren Partikel (< 4 μ m) durchdrangen diesen Filter und konnten so auf dem Glasfaser-Filter gesammelt werden.

3.6 Quantitative Bestimmung der Filtrationseffizienz

Vor dem Ansaugen von Partikeln wurden die Filter über Nacht an die Umgebung des Labors akklimatisiert und anschließend auf einer Mikrowaage (ME; Sartorius, Göttingen, Deutschland) abgewogen. Danach wurde die Masse (SC) der mit dem IOM aufgesaugten Partikel in mg m⁻³ nach folgender Formel berechnet:

Die Filtrationseffizienz FE sowohl der chirurgischen Maske als auch der FFP3-Atemschutzmaske wurde definiert in Gewichtsprozent und zwar als Anteil der gesammelten einatembaren oder lungengängigen Staubpartikel in Relation zur Kontrolluntersuchung, in der keine Maske angewendet wurde (17). Filtrationseffizienz (FE %) der getesteten Masken wurde nach der folgenden Formel berechnet:

$$FE(\%) = 1 - \left(\frac{\text{Gewichtszunahme mit Maske}}{\text{Gewichtszunahme ohne Maske}}\right): 100$$

3.7 TEM Größenbestimmung der Composite-Stäube

Größe und Form der gesammelten Partikel wurden durch Transmission-Elektronenmikroskopie [**TEM**]; JEM-1200 EX II; JEOL, Tokio, Japan) bei einer Spannung von 80 kV bestimmt. Anstelle eines Glasfilters wurde ein "kupfer-formvar-beschichtetes" TEM-Gitter (FF200H-Cu-50; Elektronenmikroskopie Sciences, Hatfield, PA, USA) mit einer Kunststoffklebemasse an der Unterseite der IOM-Sampler befestigt. Die Partikelsammlung wurde auf die gleiche Weise wie zuvor beschrieben durchgeführt. Abschließend wurden die TEM-Gitter entfernt und bis zur anstehenden Analyse aufbewahrt. Um die Größenverteilung der Partikel zu erfassen, die sowohl durch die chirurgische Maske als auch die FFP3-Atemschutzmaske bis in den IOM-Sampler durchgedrungen waren, wurden etwa 400 auf den TEM-Bildern entdeckte Partikel statistisch analysiert (22).

3.8 Ermittlung der minimalsten Ausdehnung der Compositepartikel

Zur Einzelbestimmung wurden etwa 200 Partikel kleiner als 100 nm und 200 Partikel größer als 100 nm bei einer 60.000 bzw. 20.000 fachen Vergrößerung (bezogen auf einen Maßstab von 1,0 nm und 5,8 nm Pixel ⁻¹) ausgewertet.

Die Bestimmung des kleinsten Durchmessers der Partikel wurde nach der Methode des Feret-Minimums durchgeführt. An die Partikel werden an der maximalen bzw. minimalen Ausdehnung jeweils Tangenten (gestrichelte Linien) angelegt. Der für die Analyse relevante kleinste Durchmesser ist als Feret-Minimum definiert und wird als Abstand der Tangenten an der gemeinsamen schmalsten Partikelseite gemessen (Abbildung 4).

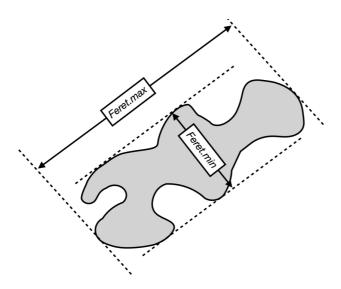


Abbildung 4 Festlegung des Feret-Minimum-Durchmesser durch Anlegen zweier Tangenten an der schmalsten Partikelseite

3.9 Statistische Analyse

Unter Anwendung des Kruskal-Wallis-Tests und des Mann-Whitney-Tests wurde statistisch überprüft, ob Gewichtsunterschiede zwischen den mit dem IOM gesammelten einatembaren und alveolengängige Proben von Composite-Stäuben existieren.

Dabei wurden die Messungen unter den drei folgenden Versuchsbedingungen (ohne Maske, mit chirurgischer Maske sowie mit dem FFP3-Atemschutzgerät) analysiert, um Unterschiede in der Filtrationseffizienz zwischen der chirurgischen und der FFP3-Maske zu bestimmen. Um die vorgegebene Nullhypothese zu verwerfen, wurde für alle statistischen Tests ein Signifikanzniveau von α = 0.005 vorgegeben.

4. Ergebnisse

4.1 Gravimetrische Analyse der einatembaren und alveolengängigen Staubanteile

Die gravimetrische Analyse zeigte, dass der einatembaren Staubanteil im Allgemeinen viel höher war als der alveolengängig**e** Anteil (Tabelle 2). Die höchste Menge einatembarer Partikel wurde im IOM gesammelt, wenn kein Schutz verwendet wurde (Positivkontrolle). Signifikant mehr einatembare Partikel durchdrangen die chirurgische Maske (29 mg ^{-m3}) im Vergleich zur FFP3-Maske (8,8 mg ^{-m3}).

Ähnlich Beobachtungen mit der höchsten Penetration der Filter wurden für die alveolengängige Staubfraktion (5,29 mg -m³) gemacht, wenn dem Mannequin-Kopf keine Maske aufgesetzt wurde. Die FFP3-Atemschutzmaske filterte den einatembaren Compositestaub ein wenig besser (1,48 mg-m³) als die chirurgische Maske (1,9 mg-m³). Dieser Unterschied konnte statistisch nicht abgesichert werden.

Die analysierte Filtrationseffizienz der chirurgischen Maske war sowohl für den einatembaren als auch für den alveolengängigen Anteil (92% bzw. 63,7%) im Compositestaub verglichen mit der FFP3-

Tabelle 2

Auswertung der gesammelten Menge von einatembarem und alveolengängigem Compositestaub sowie die Filtrationeffizienz von Schutzmasken

G	esamtbetrag der eingesau	igten Partikel (mg m-³)	Filtrationseffiziens der untersuchten Schutzmasken		
	einatembarer Anteil (4-10µm)	alveolengängiger Anteil (<4-µm).	einatembarer Anteil (4-10µm)	alveolengängiger Anteil (<4-µm)	
ohne Schutz	276,2 ± 36,1	5.3 ± 0.6	1	/	
chirurgische Maske	22,5 ± 8,7	1,9 ± 0,7	92,0 ± 2,37	63,7 ± 13,8	
FFP3 Maske	8,8 ± 1,5	1,5 ± 0,2	96,8 ± 0,35	71,7 ± 4,0	

Durchschnittliche Anzahl der gesammelten Partikel und deren Standardabweichungen

Atemschutzmaske signifikant niedriger. Die Filtrationswirksamkeit der FFP3-Schutzmaske lag bei 96,8% für den einatembaren und bei 71,7% für den alveolengängigen Anteil im Compositestaub (Tabelle 2).

4.2 Charakterisierung der separierten Compositepartikel durch TEM

Eine ultramorphologische Analyse mit der Transmissionselektronenmikroskopie (**TEM**) bestätigte, dass viele Partikel, die sowohl in Größe als auch in Form variierten, durch Beschleifen des in der Zahnmedizin gebräuchlichen Composite-Materials freigesetzt wurden. Dies zeigte sich besonders deutlich in der Gruppe, in der keine Maske auf dem Gesicht des Mannequins appliziert wurde.

Die Größe und Form der Partikel unterschied sich auch nach der Art der Schutzmaske, die im Versuch für die Partikelmessungen dem Mannequin angelegt wurde. Größere Partikel (>1 µm) wurden häufiger beobachtet, wenn keine Schutzmasken angewendet wurden und kleinere Partikeln im Submikro- und Nanobereich wurden dann beobachtet, wenn

chirurgische Masken oder FFP3-Atemschutzmasken angewendet wurden.

Die ultramorphologische TEM-Analyse von Compositstäuben zeigte ferner, dass Partikel unterschiedlicher Größe und Formen von der Mikrobis zur Nanodimension beim Schleifen freigesetzt wurden; A und B ohne Schutz, C und D mit chirurgischer Maske, E und F mit FFP3- Atemschutzmaske. Trotz der Verwendung von zweierlei Maskentypen kam es zur Partikelpenetration durch die chirurgische Maske bzw. FFP-3- Atemschutzmaske, dabei konnten Füllstoffpartikel in Nanogröße gesammelt werden (Abbildung 5).

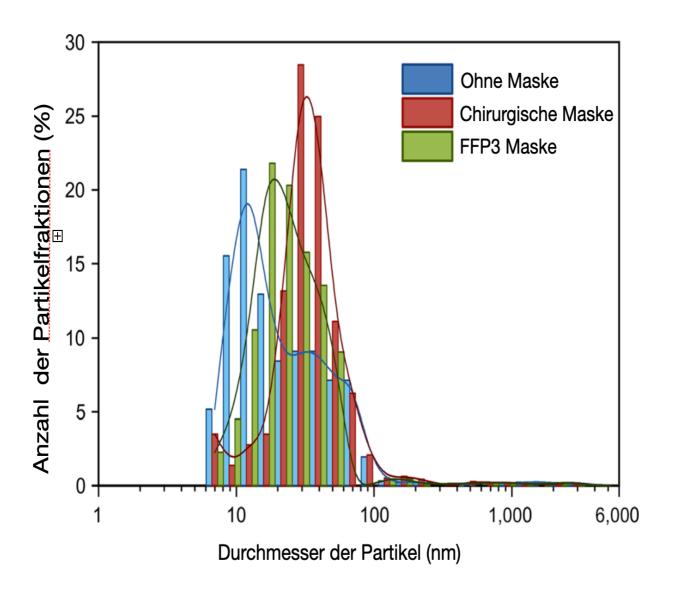


Abbildung 5 Bestimmung der Verteilung der -Partikelfraktionen in Prozent durch TEM-Bild-Analyse, getrennt nach Messverfahren (ohne Maske, mit chirurgischer Maske sowie mit FFP3 Atemschutzmaske.

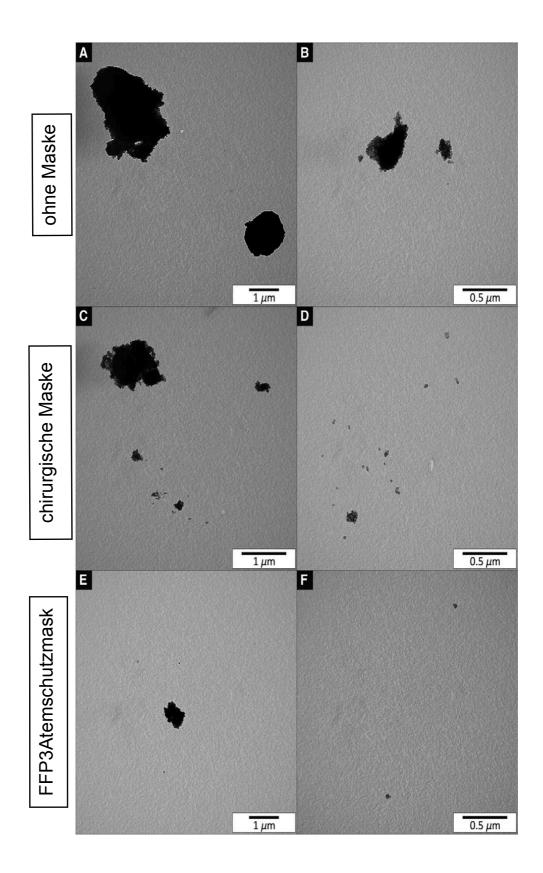


Abbildung 6 Ultramorphologische Analyse von Composit-Staubpartikeln durch Transmissionselektronenmikroskopie, Composite-Partikel unterschiedlicher Größe und Formen von der Mikro- bis zur Nanoebene konnten gefunden werden, wenn keine Schutzmaske (AB) aufgesetzt wurde.

Tabelle 3

	Min (nm)	Max (nm)	durchschnittliche gewichtete Größe in (nm)	Modal- Wert (nm)	D10 (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)
ohne Maske	6,0	4088,7	46,93	12,40	7,75	13,23	55,38
chirurgische Maske	4,3	4327,7	54,08	15,60	15,6,	32,84	55,71
FFP3 Schutz- maske	6,0	3465,2	42,23	16,82	10,26	19,51	41,09

In der Tabelle 3 wurden minimale, maximale und gewichtete Durchschnittsgrößen sowie repräsentative Durchmesser (D10 = Perzentil 10; D50 = Median; D90 = Perzentil 90) der Partikel zusammengestellt

Die in den TEM- Analysen (Abbildung 6, siehe oben) gefundenen größeren Partikel bestanden aus dentalen Füllstoffen, die durch eine Harz-Matrix zusammengehalten werden. Außerdem konnten einzelne Nano-Füllstoffpartikel unter allen drei getesteten Bedingungen registriert werden. Die gewichteten Durchschnittsgrößen der angesaugten Partikel lagen zwischen 40 und 50 nm.

5. Diskussion der Ergebnisse

5.1 Vorgaben der FDA für die Zertifizierung von chirurgischen Masken

Um die Filterwirkung von chirurgischen Masken aufzuzeigen, wurde den Empfehlungen der Food and Drug Administration (FDA) gefolgt. Sie schlägt vor, zwei Arten von Tests anzuwenden:

- I) die Evaluierung der Filtrationseffizienz von Partikeln von nicht neutralisiertem Aerosol (0,1 µm Latexkügelchen) sowie
- II) die Bewertung der bakteriellen Filtrationseffizienz gegen nicht neutralisierten Staphylokokkus aureus (3 \pm 0,3 μ m) (16).

Im Vergleich zu chirurgischen Masken, müssen Atemschutzmasken strenge Vorgaben für ihre Zertifizierungen erfüllen, die jedoch oft unterschiedlich für die USA und europäische Länder geregelt sind.

So müssen in den USA die verschieden Schutzmaskentypen (Serien N, R und P), vom National Institute for Occupational Safety (NIOSH, Title 42 CFR Part 84) mit zertifiziert sein mit einer Mindestfiltereffizienz von 95%, 99% und 99,7% gegen Partikel <0,3 μ m.

5.2 Vorgaben durch die Conformité Européenne (CE), für die Zertifizierung von chirurgischen Masken

Andererseits werden in Europa Atemschutzgeräte vom Typ FFP1, FFP2 und FFP3 verwendet, die durch die Conformité Européenne (CE) zertifiziert sind, um die Anforderungen an die Filterleistung zu erfüllen mit Effizienzen von 80%, 94% bzw. 99%. Sowohl NIOSH als auch CE folgen unterschiedlichen Protokollen für die Genehmigung (21). So wurde erst kürzlich wissenschaftlich deutlich belegt, dass zahnmedizinisches Personal während der Durchführung von einigen Routinearbeiten wie Formen, Polieren oder Entfernen von Compositefüllungen ultrafeinem Compositstaub ausgesetzt sein könnte (23). Allerdings fehlen noch

weitere Informationen über die Effizienz der derzeitig gebräuchlichen Schutzmaßnahmen gegen diese Partikel.

5.3 Evaluation der Schutzwirkung von chirurgischen Masken

Daher war es Hauptziel der vorliegenden Studie, die Schutzwirkung von chirurgischen Masken zu bewerten, da sie am häufigsten in der Zahnarztpraxis verwendet werden. Interessanterweise machen die Ergebnisse dieser Studie deutlich, dass sowohl die chirurgische Maske als auch die FFP3 Atemschutzmaske bis zu einem bestimmten Grad vor Compositestaub schützen können.

Es kann aber auch belegt werden, dass beide Maskentypen für besonders kleine respirable Compositepartikel durchgängig sind. Daher kann die Nullhypothese teilweise zurückgewiesen werden.

Es zeigt sich, dass sicherlich großer Forschungsbedarf für Zahnarztpraxen besteht, um weitere mögliche Belastungen durch Nanocompositepartikel aufzudecken und die Effizienz der hierzu eingesetzten Maskentypen zu untersuchen.

5.4 Versuchsaufbau zur Bewertung der Compositestaubbelastung

Der Versuchsaufbau wurde so gestaltet, dass der Grad der Penetration von Operationsmasken und FFP3-Atemschutzmasken durch in der Luft schwebenden Compositestaub bewertet werden kann. Daher sind die Expositionsbedingungen in unserem Experiment als Worst-Case-Exposition eingerichtet wurden, indem Staub in einer kleinen Plexiglasbox zur Messung erzeugt wurde.

Zur Gewinnung von Compositestaub wurden mit einem rauen Diamantbohrer, der in einem roten abgewinkelten Handstück eingesetzt war, Compositproben beschliffen. In ihrer Dimension entsprachen sie einer großen MOD-Füllung. Das Vorgehen gleicht dem Verfahren wie es bei Composite-Füllungsentfernung in der Zahnarztpraxis üblich ist. Finieren und Polieren von Composite-Restaurationen kann bei einem Patienten mehrere Minuten dauern.

Dennoch scheint es unwahrscheinlich zu sein, dass zahnärztliches Personal einer so hohen Belastung durch Staubmengen auf einer täglichen Basis ausgesetzt ist, die während eines umfangreichen Beschleifens von Compositematerial über eine Zeitspanne von 3 Minuten freigesetzt wird.

5.5 Festlegung der Dauer des Schleifvorganges

Schon während der Entwicklung unserer Versuchsanordnung hatten wir die Länge unseres Schleifvorgangs aus zwei spezifischen Gründen für optimal befunden:

- In diesem Zeitintervall konnten genügend Partikel auf den Schwammund Glasfaserfiltern gesammelt und anschließend gravimetrisch quantifiziert werden.
- 2.) Sonst würde die Menge der erzeugten Partikel auf dem ersten Schwammfilter nicht genügend Material für das Sammeln größerer inhalierbarer Nanopartikelfraktionen ablagern und somit das Durchdringen kleinerer lungengängiger Partikel in Richtung auf den Glasfaserfilter blockieren.

5.6 Wirksamkeit von Wasserstrahl/Spray beim Schleifvorgang

Auch wenn es ratsam zu sein scheint, möglichst oft einen Wasserstrahl zu verwenden, so werden doch einige Behandlungen wie z.B. bei den Frontzähnen auch dann ohne Wasser durchgeführt, wenn z.B. Formscheiben verwendet werden oder wenn die Sicht dadurch behindert

würde. In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde der Einfluss von Wasserspray auf die Freisetzung von lungengängigen Partikeln, insbesondere von Nanopartikeln beim Polieren von Compositematerialien bewertet. Obwohl Sprühwasser die Konzentration der freigesetzten Nanopartikel erheblich verringern kann, zeigte diese Untersuchung, dass die Menge der Nanopartikel immer noch um ein Vielfaches höher war als die in der Hintergrundkontrolle (24).

5.7 Klinische Messungen während des Schleifvorganges

In einer Studie von VAN LANDUYT et. al. (23) wurden in einer Zahnarztpraxis während des Einsetzens von Composite-Restaurationen die freigesetzten Partikel gemessen. Diese klinischen Messungen zeigten deutlich erkennbare Spitzenwerte mit hohen Konzentrationen von Compositen beim Konturieren mit einem Diamantbohrer ohne Wasserkühlung und beim Schlichten mit Vorpolierscheiben (Grob- und Mittelraster, Sof-Lex-Platten; 3M ESPE) (23).

Andererseits ist immer noch nicht geklärt, inwieweit zusätzliche Faktoren, wie z.B. Hochvakuumsysteme, verschiedene Schleifwerkzeuge, wie z.B. Karbide-Hartmetallbohrer, Steine, mit Schleifmitteln beschichtete Schleifscheiben oder Gummibecher, Spitzen etc. die gesamte Staubentwicklung beeinflussen können.

Auch wenn andere Instrumente in dieser Studie nicht getestet wurden, so könnte erwartet werden, dass diese bis zu einem gewissen Grad zur Emission von Partikeln in verschiedener Menge und unterschiedlicher Größen beitragen würden.

So zeigte sich in einer anderen Studie, die sich auf die Freisetzung von Nanopartikeln während einer ästhetischen Behandlung von Schneidezähnen bezog, dass bei der Formungsbearbeitung mit einer groben Polierscheibe die höchste Konzentration von Nanopartkeln gemessen werden konnte (5).

5.8 Freisetzung von Partikeln durch unterschiedliche Poliertechniken

Darüber hinaus ist es plausibel, dass beim Bearbeiten mit einer niedrigeren Geschwindigkeit die Emission von Nanopartikeln verringert wird. Daher wäre es auch interessant, den Einfluss all jener Faktoren bei der Freisetzung von Compositestaub besser zu verstehen wie

- 1.) Oberflächenrauhigkeit der Werkzeuge,
- 2.) Betriebsgeschwindigkeit,
- 3.) Einsatz eines Vakuumsystems etc.

Es würde uns dann erlauben, unsere Poliertechniken so anzupassen, dass eine möglicherweise hohe Wirkung mit einer sehr geringen Staubemission erzielt werden könnte.

Die Hauptstärke dieser Studie liegt in der Tatsache, dass in der Luft schwebender Compositestaub mit einem persönlichen Probenehmer für einatembare Aerosole (IOM-Sampler) gesammelt werden kann.

Darüber hinaus ist mit dem IOM möglich, Partikel ihrer Größe nach zu trennen und zu sammeln.

Die einatembare Staubfraktion (zwischen 4 und 100 μm), die typischerweise nach der Inhalation in den oberen Abschnitt des Respirationstraktes gelangt, wurde durch den ersten Schwammfilter aufgefangen. Die alveolengängige Staubfraktion, die durch Partikel <4 μm repräsentiert wird und in tiefere Lungenkompartimente gelangen kann, wird auf einem Glasfaserfilter mit der Porengröße 1 μm abgefangen.

5.9 Vorteile des IOM Expositionmeßgerätes bei der Gewichtsbestimmung gegenüber anderen Samplern

Durch Wiegen jedes Filters vor und nach der Staubsammlung konnte separat die Menge der beiden Staubfraktionen bestimmt werden, die durch die beiden Maskentypen eingedrungen waren.

Dabei zeigte der in unserem Versuch benutzte IOM-Sampler einen enormen Vorteil im Vergleich zu anderen Expositionsmessgeräten, da er die Exposition gegenüber Partikeln unterschiedlicher Größe messen kann. Es wurden sowohl große als auch kleine Partikel erfasst, so wie es die ursprüngliche Idee in dieser Studie war.

Da die Probenahme sowohl sehr kleine als auch große Partikel enthielt, wurde hauptsächlich das Gewicht und damit verbunden die Gewichtskonzentration von großen Partikeln bestimmt. Aus diesem Grund war es schwierig, eine Unterscheidung innerhalb der lungengängigen Staubfraktion, insbesondere im Größenbereich zwischen Mikro-, Submikro- und Nanopartikeln, zu treffen.

Dennoch kann die vorliegende Studie als erste experimentelle Untersuchung betrachtet werden, die quantitativ zur Bewertung der Schutzwirkung von Masken gegen Compositestaub beiträgt.

5.10 Ausblick auf Schwerpunkt zukünftiger Forschung

Daher sollte die zukünftige Forschung den Schwerpunkt auf die Messung der Exposition gegenüber kleinen Submikro- und Nanopartikeln legen, damit unter Verwendung verschiedener Bewertungstechniken die Partikelanzahl und Größenkonzentration ermittelt werden können

Ungeachtet der Unterschiede im Design, unterliegen beide Masken den Eigenschaften der mechanischen Filterung, wobei die Feinstaubpartikel hängenbleiben durch Verfangen an den Filterfasern, durch die Wirkung der Massenträgheit, der Diffusion, der Gravitationseinwirkung, oder durch die elektrostatische Anziehung (25).

In polymorphem Staub, wie z.B. bei Compositestaub, der aus Partikeln verschiedener Größen zusammengesetzt ist, wird die Effizienz des Sammelns von Proben in der Regel weitestgehend durch eine Kombination aller vier oben aufgeführten Mechanismen bestimmt. Es ist jedoch allgemein anerkannt, dass für das Sammeln von Proben größerer Partikel ein Auffangen bzw. ein Auftreffen im Filtergewebe maßgeblich ist, während die Proben kleinerer Partikel überwiegend durch Diffusion gesammelt werden können (26).

5.11 Filtrationseffizienz von chirurgischer Maske und FPP3-Atemschutzmaske

Verglichen mit der positiven Kontrolle, bei der keine Schutzmaßnahmen angewandt wurden, waren wie zu erwarten sowohl die chirurgische Maske als auch die FPP3-Atemschutzmaske in der Lage, einen großen Teil der einatembaren (91,96% bzw. 96,82%) und der alveolengängigen Staubpartikel (63,67% bzw. 71,74%) abzufangen

Es ist wichtig zu beachten, dass die überprüften Masken hohen Konzentrationen von Partikeln ausgesetzt waren, welche die vorgeschlagenen Grenzwerte bei weitem überschritten haben (Grenzwerte von 4 mg m⁻³ für einatembaren Staub und 0,3 mg m⁻³ für alveolengängigen Staubfraktion (27)).

Es ist nicht sehr wahrscheinlich, dass das zahnärztliche Personal einer so hohen Staubmenge täglich in der zahnärztlichen Praxis ausgesetzt ist.

Aber nichtsdestotrotz wurde dieses Experiment so konzipiert, dass es das Worst-Case-Szenario nachgestellt hat und somit sollten diese Ergebnisse entsprechend interpretiert werden.

Es ist in diesem Zusammenhang jedoch erwähnenswert, dass Schwellen für Grenzwerte nicht weltweit akzeptiert werden. Diese unterscheiden sich von denen der USA oder sind sogar unterschiedlich in den Ländern innerhalb der EU. Darüber hinaus gibt es leider immer noch keinen offiziellen rechtsverbindlichen Rahmen für den spezifischen Grenzwert von Nanopartikeln (28). Die Gründe für diesen momentanen Zustand sind, dass zahlreiche technische Herausforderungen und Hürden vorhanden sind, die noch zu überwinden sind.

Hierzu zählen beispielsweise:

- I) das Fehlen von standardisierten Instrumentierungen und Protokolle für Probengewinnungen aus Nanopartikel-Messungen (29),
- II) Schwierigkeiten zu einem Konsens für ein einheitliches metrisches System für Nanopartikel (30),
- III) das Fehlen einer Korrelation zwischen einer Exposition eines Organismus mit toxischen Nanopartikeln und dessen Antwort (31).

5.12 Vorgaben und Empfehlungen für die Grenzwerte der täglichen Nanostaubbelastungen

Erst kürzlich berechneten SCHMALZ et al. (2), dass beim Legen von etwa 10 Composit-Füllungen am Tag der Zahnarzt bzw. das zahnärztliche Personal einer Menge von etwa 20 µg Nanopartikeln / Tag ausgesetzt wird.

Einige Institutionen, wie zum Beispiel die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, haben vorgeschlagen, dass die maximal akzeptable Nano-Staubkonzentration in der Arbeitsumgebung zwischen 110 μ g m⁻³ und 190 μ g m⁻³ liegen sollte (2).

In Anbetracht der Tatsache, dass die tägliche Luftaufnahme nach ISO 10993-17 10 m³ beträgt, die zulässige Tagesdosis der Nanopartikel-

exposition sich zwischen 1.100 µg und 1.900 µg befinden sollte. Das liegt weit über der Menge, die zu erwarten ist, die bei der abrasiven Bearbeitung von Dentalcompositen freigesetzt wird (32).

Chirurgische Masken boten erwartungsgemäß weniger Schutz als FFP3-Atemschutzmasken. Sie sind nicht mit einem Filtermedium ausgestattet, das eine Penetration durch in der Luft schwebende Partikel verringern kann. So können über diesen Weg Mikroorganismen, Viren und Pilze in chirurgischen Masken gelagert sein (33).

5.13 Aktuelle Diskussion über das Schutzniveau von chirurgischen Masken

Gegenwärtig diskutieren viele Forscher über das tatsächliche Schutzniveau, das dem Träger von chirurgischen Masken geboten wird. Es hat sich verschiedentlich gezeigt, dass deren Filtereffizienz zwischen 4% und 90% liegen kann (34-36).

Da potentiell zwei Wege für das Durchdringen von Partikeln existieren, vorgegeben durch das Fehlen einer Abdichtung gegen das Gesicht und durch das Filtermaterial selbst, zeigen Studien, dass die hauptsächliche Penetration durch Partikel, insbesondere von Submikro-Partikel, dem Fehlen einer vollständigen Abdichtung der Maske (30-40%) gegen das Gesicht zugeschrieben werden muss (18).

Dieser Befund sollte nicht überraschen, da chirurgische Masken nur hinsichtlich der Einhaltung von Normen (Abweisung von Flüssigkeiten, Druckunterschiede, Entflammbarkeit und Filtrationseffizienz) konzipiert sind, während der Sitz der Maske auf dem Gesicht nicht bewertet wird.

Im Gegensatz zu chirurgischen Masken, sorgt das Design von FFP3-Atemschutzmasken für eine enganliegende Flächenabdichtung gegen das Gesicht (34).

5.14 Notwendigkeit der Abdichtung der FFP3 Maske gegen das Gesicht

Da es schwierig war sicherstellen, dass die Abdichtung gegen das Gesicht des Mannequins lückenlos erfolgte, wurde Klebeband verwendet, um eine vollständige Abdichtung zu erhalten. Unter idealen Umständen sollte die FFP3-Atemschutzmaske durch einen dichtanliegenden Hautkontakt abgedichtet sein, was in der Klinik nicht immer zu gewährleisten ist.

In unserer Studie haben wir eine solche eventuelle Situation nicht berücksichtigt. Daher haben wir unsere FFP3-Atemschutzmaske mit Klebeband versiegelt und nahmen dafür den Idealfall an, dass Luft nur durch das Filtermedium fließen kann.

Dennoch betrug die Filtereffizienz von FFP3-Atemschutzmasken gegen kleine lungengängige Partikel 71,74%, was bedeutet, dass trotzdem etwa 30% der freigesetzten Partikel die FFP3-Atemschutzmaske durchdringen konnten. Dieser Befund kann auf die Tatsache zurückgeführt werden, dass Compositestaub aus vielen Partikeln in Nanogröße (<100 nm) zusammengesetzt ist.

Jedoch werden alle Gesichts-Atemschutzmasken mit einer Partikelabmessung von 300 nm getestet und hierfür hergestellt. Der Penetrationsgrad von lungengängigem Staub war für chirurgische Masken sogar höher (40%), aber der Unterschied war statistisch nicht signifikant.

Zusätzlich sollte beachtet werden, dass diese relativ geringe Effizienz der Filterleistung von FFP3-Atemschutzgeräten (70%) gegen lungengängige Partikel auch auf den methodischen Unterschied zwischen unserem Versuchsaufbau und der von NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) vorgeschlagenen Versuchsaufbau zurückzuführen sein könnte.

Dieser beinhaltet die Verwendung einer größeren Untersuchungsbox, die u.a. eine verstärkte Agglomeration von Partikeln verhindert, einen

höheren Luftstrom zur Probenahme entwickelt, niedrigere Konzentrationen bei der Exposition erzeugt sowie den Gebrauch von sehr anspruchsvollen Messinstrumenten ermöglicht (21).

5.15 Vorteile des Designs unseres Versuchsaufbaus

Die Stärke unseres Versuchsaufbaus liegt in der Tatsache begründet, dass die Effizienz von Filtern in chirurgischen Masken und in Atemschutzmasken getestet wurde unter Verwendung von Compositestaub, der direkt durch Schleifen erzeugt wird und zwar in der gleichen Weise, wie es während des Einsetzens einer Composite-Restauration abläuft.

Man muss zusätzlich bedenken, dass die Verwendung gleicher Partikelformen für eine Penetrationsanalyse kritisch sein kann.

In einigen Studien wurde die Hauptaufmerksamkeit gerichtet auf den signifikanten Einfluss der elektrischen Ladung der Partikel- und/oder der Filter auf den Penetrationsgrad durch Masken und Atemschutzgeräte (37).

Die Penetration von Standard-Partikeln durch Filter, wie z.B. sphärisch geformten NaCl-Partikeln, vorgeschlagen von NIOSH oder von Polystyrol-Latexteilchen, vorgeschlagen von der FDA, ähnelt nicht ganz der komplexen Morphologie von Composite-Staub.

Selbst unter dem Hinweis auf die vorher beschrieben Fakten, dass FFP3-Masken speziell zum Schutz vor in der Luft schwebenden Nanopartikeln entwickelt wurden, sind sie bislang nicht in die zahnärztliche Praxis eingeführt worden.

5.16 Anforderungen an zukünftige Studien zur Belastung durch Nanostäube

Nachdem nun unsere Studie als ein erstes wissenschaftliches Screening der Filtrationseffizienz von zwei verschiedenen Maskentypen angesehen werden kann, sollten sich zukünftige Studien auf eine Verbesserung des Versuchsaufbaus konzentrieren, damit diese Untersuchungen die NIOSH-Prüfvorschriften besser erfüllen können.

Die Charakterisierung in der Luft schwebender Partikel durch die Transmissionselektronenmikroskopie bestätigte, dass vorwiegend Partikel in Nanogröße sowohl durch die chirurgische Maske als auch durch die FFP3-Atemschutzmaske in die Filter eindrangen.

Diese Partikel konnten sowohl in Größen als auch in unterschiedlichen Formen identifiziert werden. Darüber hinaus konnte bestätigt werden, dass diese identifizierten Partikel aus kleineren Anteilen aus Compositematerialien zusammengesetzt waren, die ihrerseits durch Dentalresine zusammengehalten wurden.

Da unsere Beobachtungen eng mit den Ergebnissen zur Filtereffizienz korrelieren, kann deutlich gezeigt werden, dass die inhalierbare Staubfraktion durch beide Arten von Masken blockiert wird, während die Filtrationseffizienz für kleinere lungengängige Staubpartikel eher geringer ist.

Die Transmissionselektronenmikroskopie muss als eine leistungsstarke Technik zur visuellen Identifikation und Analyse von Nanopartikeln angesehen werden, da Nanopartikel wegen ihrer äußerst geringen Masse gravimetrisch nur sehr schwierig vermessen werden können.

Partikel in Nanogröße werden gewöhnlich auf dem Raster des Filters angehäuft beobachtet, dennoch ist bisher nicht geklärt, ob die Agglomeration auf dem Raster oder schon vorher in der Luft erfolgt. Im Atemtrakt aggregieren Partikel typischerweise auch nach dem Einatmen (38).

5.17 Wertigkeit und Vorteil der TEM Analyse für die Größenbestimmung von Nanopartikeln

Als Methode für die Auswertung von Morphologie und Partikelgrößenverteilung wurde aus nachfolgenden Gründen eine TEM-Bildanalyse ausgewählt:

- I) Die Hauptstärke dieser Methode besteht darin, dass sie die Anwendung eines breiteren Partikelgrößenbereichs (<100 μm) im Vergleich zu anderen anspruchsvolleren und teureren Techniken ermöglicht, in denen der Größenbereich meist begrenzt ist auf Partikel unter 1 μm.
- II) Partikel können aus der Luft direkt auf dem TEM-Gitter während des Zerkleinerns der Mischprobe gesammelt werden. Dieses Verfahren ermöglichte die Analyse von Partikelgröße und Morphologie zur gleichen Zeit.

Zum besseren Verständnis ist es jedoch wichtig hervorzuheben, dass diese Technik als eine indirekte Methode betrachtet werden muss, da die Partikel- und die Größenverteilung auf einer bestimmten Menge von Partikeln basiert, die anschließend zur Berechnung auf die gesamte Probe angewendet wird.

Daher sollte mit diesen Ergebnissen zunächst vorsichtig umgegangen und mit denen anderer geeigneter Techniken kombiniert werden. Dementsprechend bestätigte die TEM-Analyse, dass der gewichtete Durchschnitt der Partikel zwischen 40 und 60 nm lag. Dieser Durchschnitt wurde nicht durch eine sehr geringe Anzahl an extrem großen Partikeln beeinflusst, welche die Masken durchdrangen.

Diese Ergebnisse entsprechen den früheren Studien, in denen andere Untersuchungsmethoden und -Techniken angewendet wurden (5,13,24).

Die Durchmesser-Perzentile D10, D50 und D90 wurden berechnet, um die Partikel Größenverteilung der Partikel zu analysieren. Darüber konnte gezeigt werden, dass der Modalwert, der die Größe der am häufigsten angetroffenen Partikel repräsentiert, im Bereich von 12 -17 nm lag. Dieser Wertebereich entspricht der Größe der SiO2-Füllstoffpartikel von 5 - 20 nm, die dem Verbundstoff vom Hersteller hinzugefügt wurden (Tabelle 1).

5.18 Schlussbetrachtung zu dieser Untersuchung

Unsere Studie liefert neue Erkenntnisse über die Wirksamkeit von Operationsmasken und FFP3-Atemschutzmasken gegen inhalierbaren und alveolengängigen Compositestaub.

Innerhalb der aufgezeigten Grenzen unserer Studie, die im Sinne eines Worst-Case-Falles konzipiert wurde (Expositionsexperiment mit hohen Konzentrationen von in der Luft schwebendem Compositestaub), erbrachten die Ergebnisse, dass bei optimaler Nutzung der Masken (u.a. perfekte Abdichtung der FFP3-Maske), beide Arten einen mehr oder weniger guten Schutz vor Compositestaub boten.

Dabei sollte man auch bedenken, dass bei beiden Arten von Masken die Effizienz der Filtration von ultrafeinem lungengängigem Staub niedriger war als ursprünglich erwartet wurde.

Aus obigen Gründen sind Zahnärzte wahrscheinlich nicht vollständig vor Compositestaub bei abrasiver Bearbeitung von Compositen geschützt.

6. Literaturverzeichnis

- 1. JANDT KD, SIGUSCH BW. Future perspectives of resin-based dental materials. Dent Mater 2009; 25: 1001-1006.
- 2. SCHMALZ G, HICKEL B R, VAN LANDUYT KL, REICHL F-X.Nanoparticles in dentistry. Dent Mater 2017; 33: 1110-1126.
- 3. NAYEBZADEH A, STANGEL I, DUFRESNE A. Risk of respiratory exposure of dental personnel to amalgam alternatives. SciTotal Environ 2000; 247: 33-39.
- 4. COLLARD SM, VOGEL JJ, LADD GD. Respirability, microstructure and filler conent of composite dusts. Am J Dent 1991; 4:143-151.
- 5. VAN LANDUYT KL, HELLACK B, VAN MEERBEEK B, PEUMANS M, HOET P, WIEMANN M, KUHLBUSCH TAJ, ASBACH C. Nanoparticle release from dental composites. Acta Biomater 2014; 10: 365-374.
- 6. GWINN MR, VALLYATHAN V. Nanoparticles: health effects pros and cons. Environ Health Perspect 2006; 114: 1818-1825.
- 7. SIMKO M, MATTSSON MO. Risks from accidental exposures to engineered nanoparticles and neurological health effects: critical review. Part Fibre Toxicol 2010; 7: 1-1cd H:/journals/W3G/EOS/12697/K:
- 8. BAKAND S, HAYES A, DECHSAKULTHORN F. Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure.Inhal Toxicol 2012; 24: 125-135.
- 9. OBERDÖRSTER G, OBERDÖRSTER E, OBERDÖRSTER J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Health Perspect 2005; 113: 823-839.
- 10. COKIC SM, HOET P, GODDERIS L, WIEMANN M, ASBACH C, REICHL FX, DE MUNCK J, VAN MEERBEEK B, VAN LANDUYT KL. Cytotoxic effects of com-posite dust on human bronchial epithelial cells. Dent Mater 2016; 32: 1482-1491.

- 11. COKIC SM, GHOSH M, HOET P, GODDERIS L, VAN MEERBEEK B, VAN LANDUYT KL. Cytotoxic and genotoxic potential of respirable fraction of composite dust on human bronchial cells. Dent Mater 2020; 36: 270-283.
- 12. VAN LANDUYT KL, COKIC SM, ASBACH C, HOET P, GODDERIS, L, REICHL FX, VAN MEERBEEK B, VENNEMANN A, WIEMANN W. Interaction of rat alveolar macrophages with dental composite dust. Part Fibre Toxicol 2016; 13: 1-13.
- COKIC SM, DUCA RC, GODDERIS L, HOET PH, SEO JW, VA N MEERBEEK B, VAN LANDUYT KL. Release of monomers from composite dust. J Dent 2017; 60: 56-62.
- 14. PIIRILÄ P, HODGSON U, ESTLANDER T, KESKINEN H, SAALO A, VOUTILAINEN R, KANERVA L. Occupational respiratory hypersensitivity in dental personnel. Int Arch Occup Environ Health 2002; 75: 209-216.
- 15. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS AND AMERICAN DENTAL ASSOCIATION COUNCIL ON DENTAL PRACTICE. Infection control recommendations for the dental office and the dental labotory. J Am Dent Assoc1996; 127: 672-680.
- 16. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Guidance for industry and FDA staff surgical masks premarket notification [510(k)] submissions: guidance for industry and FDA. Silver Spring, MD: Center for Devices and Radiological Health, 2003; 1-13.
- 17. CHECCHI L, MONTEVECCHI M, MORESCHI A, GRAZIOSI F, TADDEI P, VIOLANTE FS. Efficacy of three face masks in preventing inhalation of air borne contaminants in dental practice. J Am Dent Assoc 2005; 136: 877-882.
- 18. GRINSHPUN SA, HARUTA H, ENINGER RM, REPONEN T, MCKAY RT, LEE S-A. Performance of an N95 filtering facepiece particulate respirator and a surgical mask during human breathing: two pathways for particle penetration. J Occup Environ Hyg 2009; 6: 593-603.
- 19. BELKIN NL. Masks, barriers, laundering, and gloving: where is the evidence? AORN J 2006; 84: 655–664.

- 20. BAŁAZY A, TOIVOLA M, REPONEN T, ZIMMER A, PODGO A, GRINSHPUN SA. Manikin-based performance evaluation of 95 filtering-facepiece respirators challenged with nanoparticles. Ann Occup Hyg 2006; 50: 259-269.
- 21. RENGASAMY S, EIMER BC, SHAFFER RE. Comparison of nanoparticle filtration performance of NIOSH-approved and CE-marked particulate filtering face piece respirators. Ann Occup Hyg 2009; 53: 117-128.
- 22. SO 13322–1:2014. Particle size analysis image analysis methods part 1: static image analysis methods. London: British Standards Publication (BSI), 2014; 1-36.
- 23. VAN LANDUYT KL, YOSHIHARA K, GEEBELEN B, PEUMANS M, GODDERIS L, HOET P, VAN MEERBEEK B. Should we be concerned about composite (nano-)dust? Dent Mater 2012; 28: 1162-1170.
- 24. COKIC SM, ASBACH C, DE MUNCK J, VAN MEERBEEK B, HOET P, SEO JW, VAN LANDUYT KL. The effect of water spray on the release of composite nano-dust. Clin Oral Invest 2020 Jul;24(7):2403-2414. doi: 10.1007/s00784-019-03100-x. Epub 2019 Dec 6.
- 25. HINDS WC. Aerosol technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles, 2nd edn. New York, NY: Wiley-Interscience Publication, 1999; 233-259.
- 26. HUANG SH, CHEN CW, CHANG CP, LAI CY, CHEN CC. Penetration of 4.5 nm to 10 lm aerosol particles through fibrous filters. J Aerosol Sci 2007; 38: 719-727.
- 27. DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT. Mak-und Bat-Werte-Liste 2021: Ständige Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Stoffe. Mitteilung 57. https://series.publisso.de/sites/default/files/documents/series/mak/lmbv/Vol2021/lss1/Doc001/mbwl_2021_deu.pdf
- 28. MAYNARD AD, AITKEN RJ. Assessing exposure to airborne nanomaterials: current abilities and future requirements. Nanotoxicology 2007; 1: 26-41.
- 29. ASBACH C, KAMINSKI H, FISSAN H, MONZ C, DAHMANN D, MULHOPT S, PAUR HR, KIESLING HJ, HERRMANN F, VOETZ M, KUHLBUSCH TAJ.

- Comparison of four mobility particle sizers with different time resolution for stationary exposure measurements. J Nanoparticle Res 2009; 11: 1593-1609.
- 30. HEAL MR, KUMAR P, HARRISON RM. Particles, air quality, policy and health. Chem Soc Rev 2012; 41: 6606-6630.
- 31. SAYES CM, REED KL, WARHEIT DB. Assessing toxicology of fine and nano particles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. Toxicol Sci 2007; 97: 163-180.
- 32. ISO 10993–17:2002. Biological evaluation of medical devices part 17: establishment of allowable limits for leachable substances. Geneva: International Organization for Standardization (ISO), 2002; 1-25.
- 33. BHUVANESWARI P. Aerosols a concern for dentists. Res J Pharm Technol 2014; 7: 938-941.
- 34. OBERG T, BROSSEAU LM. Surgical mask filter and fit performance. Am J Infect Control 2008; 36: 276-282.
- 35. COOPER DW, HINDS WC, PRICE JM, WEKER R, YEE HS. Common materials for emergency respiratory protection: leakage tests with a manikin. Am Ind Hyg Assoc J 1983; 44: 720-726.
- 36. WEBER A, WILLEKE K, MARCHLONI R, MYOJO T, MCKAY R, DONNELLY J, LIEBHABER F. Aerosol penetration and leakage characteristics of masks used in the health care industry. Am J Infect Control 1993; 21: 167-173.
- 37. WAKE D, BROWN RC, TROTTIER RA, LIU Y. Measurements of the efficiency of respirator filters and filtering facepieces against radon daughter aerosols. Ann Occup Hyg 1992; 36: 629–636.
- 38. TANG M, ZHANG T, XUE Y, WANG S, HUANG M, YANG Y, MINYU L, HAO L, LU K, PU Y. Dose dependent in vivo metabolic characteristics of titanium dioxide nanoparticles. J Nanosci Nanotechnol 2010; 10: 8575-8583.

7. Abbildungsverzeichnis

8. Anhang

8. 1 Anatomie und Funktion der oberen und unteren Atemwege

Mit dem Luftstrom unserer Nasen-/Mundatmung werden neben größeren Partikeln auch solche in Nanogröße aufgenommen. Letztere können in die Gewebe unseres Körpers eindringen.

In die nähere anatomisch-physiologische Betrachtung kommen hierfür zwei bedeutsame Strukturen wie die Regio olfactoria im Dach der Nasenhöhle als Ort der Geruchswahrnehmung und die Lunge, mit ihren Alveolarbläschen als Ort des Gasaustausches.

8.2 Oberer Luftweg

Der obere Luftweg unseres Nasenraums wird von einem respiratorischen Epithel ausgekleidet, das im Dach der Nasenhöhle auf der Choncha nasalis superior durch ein kleines hochspezialisiertes Schleimhautareal, die als Regio olfactoria charakterisiert ist (Abbildung 7).

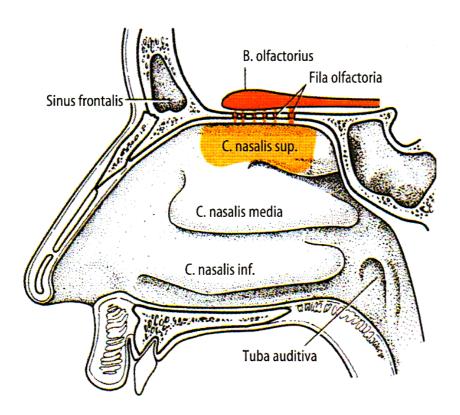


Abbildung 7 Sagittalschnit durch Kopf mit Regio olfactoria, den Fila olfactoria und dem Bulbus olfactorius

Das Riechepithel setzt sich aus drei Zelltypen zusammen:

den Rezeptorzellen, den Stützzellen und den basal anliegenden undifferenzierten Basalzellen (Abbildung 8).

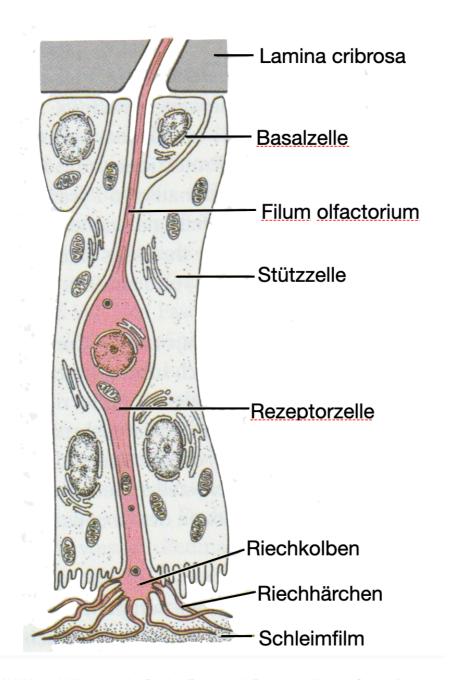


Abbildung 8 Histologie der Regio olfactoria mit Rezeptorzell (rot) , Stützzelle und Basalzelle. aus dem Riechkolben gehen Riechhärchen hervor, die in einem Schleimfilm liegen.

Die apikalen Fortsätze der Rezeptorzellen sind zu einem kleinen Riechkolben verdickt, aus dem Riechhärchen hervorgehen. Diese sind im Schleimfilm des Riechepithels gelagert und können über spezialisierte Rezeptoren für die Geruchswahrnehmung nach dem Schlüssel-Schlossprinzip Duftmoleküle binden

Eine enge räumliche Beziehung besteht zwischen der Schleimhaut des Riechepithels und dem Bulbus olfactorius. Sie ermöglicht, dass Partikel in Nanogröße über neuronale Aufnahme und Translokation ins neuronale Gewebe eindringen können.

So konnte im Tierversuch u.a. experimentell klar aufgezeigt werden, dass pharmazeutisch hergestellte Nanopartikel, die über das Epithel der Riechschleimhaut als Medikamente eingeschleust werden, durch neuronalen Transport, ausgehend vom Bulbus olfactorius bis ins Gehirn gelangen können (1).

8.3 Die unteren Atemwege

Die unteren Atemwege bestehen aus der Trachea, den beiden extrapulmonal gelegenen Hauptbronchien und den beiden Lungenflügeln mit einem weit verzweigten intrapulmonalen Bronchialbaum.

Funktionell werden zwei große Abschnitte unterschieden (Abbildung 9):

- a) der luftleitende konduktive- Abschnitt, der von der Trachea bis zu den Bronchioli terminales reicht. Hier findet der Transport der Atemluft statt sowie deren Konditionierung durch Erwärmung und Befeuchtung. Parallel dazu wird die Atemluft über die Mukoziliäre Clearance von gröberen Partikeln gereinigt.
- b) dem respiratorischen Abschnitt mit den Bronchioli respiratorii und vor allem mit den Alveolen. hier findet der Gasaustausch als äußere Atmung statt.

Der intrapulmonal gelegene Bronchialbaum dient mit seinem proximal gelegenen konduktiven Abschnitt der Luftleitung. Er führt dem distal gelegenen respiratorischen Abschnitt die Atemluft zu bzw. leitet sie wieder ab. Er ist nicht am Gasaustausch beteiligt.

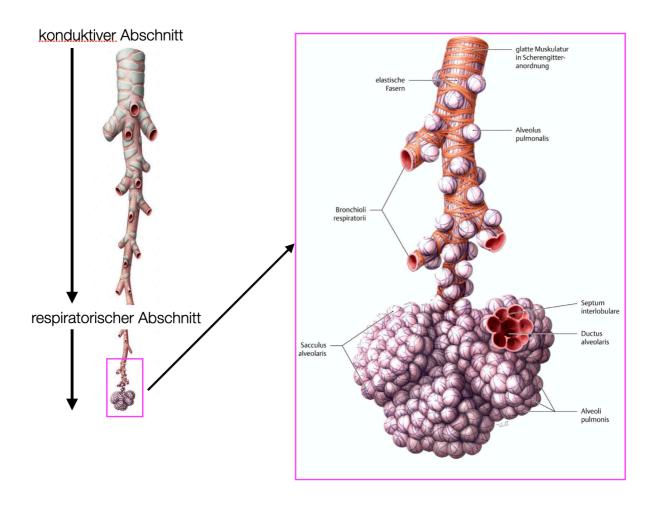


Abbildung 9 Darstellung der funktionellen und anatomischen Abschnitte des intrapulmonal gelegenen Bronchialbaumes

Der distal gelegene Abschnitt des Bronchialbaums dient dem Gasaustausch: der Aufnahme von Sauerstoff aus den Alveolarvolumen in das Kapillarsystem der Lunge. In umgekehrter Richtung erfolgt die Abgabe von Kohlendioxid aus dem Kapillarsystem der Lunge an die Alveolarluft.

Zwei Zelltypen kleiden den Alveolarraum aus:

- a) Pneumozyten Typ I (kleine Alveolarzellen), die 90 % des Raumes auskleiden und
- b) Pneumozyten Typ II (große Alveolarzellen), die 10% des Alveolarraum auskleiden.

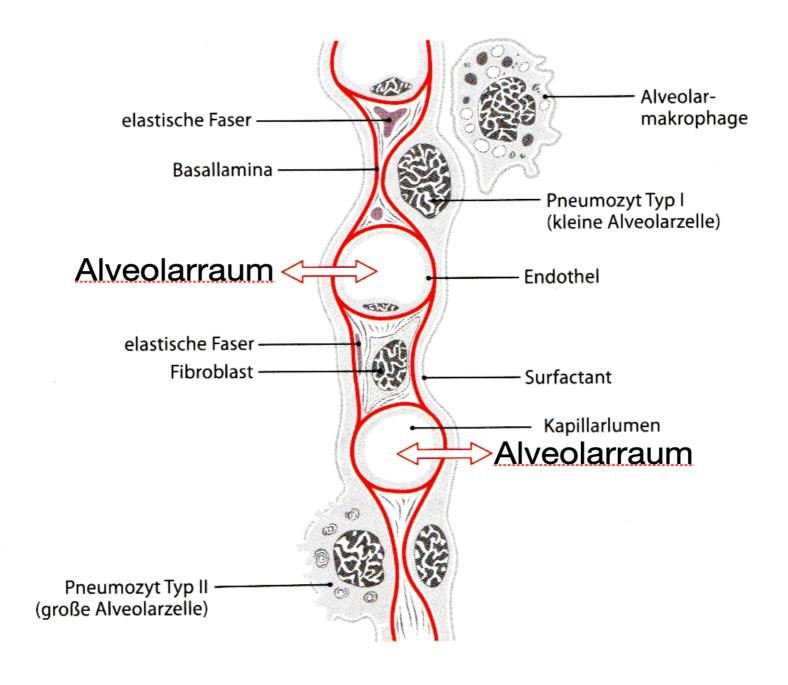
Die Wände der Alveolen werden vom Surfactant überzogen, der die Oberflächenspannung herabsetzt und ein Kollabieren am Ende der Expiration verhindert.

Alveolen besitzen eine rundliche bis polygonale Grundform. Deren Durchmesser beträgt während der Exspiration etwa 50-150 µm und kann während der Inspriation bis 300 µm anwachsen. Unser Organismus verfügt geschätzt über ca. 300 bis 400 Millionen Alveolen, die insgesamt eine Fläche zwischen 80 und 120 m² für den Gasaustausch zur Verfügung stellen können.

Die erste Grenzfläche zur Blut-Luftschranke wird durch den Surfactant gebildet, der auf einer dünnen wässrigen Schicht zwischen der apikalen Oberfläche der Pneumozyten Typ I und Typ II schwimmt. Die zweite Grenzfläche der Luft-Blutschranke befindet sich auf der apikalen Oberfläche der Pneumozyten Typ I und Typ II, die ihrerseits auf einer Basalamina aufsitzen.

Hiernach folgt das kollagene Bindegewebe des Alveolarseptums, das an die Basallamina des Endothels der Blutkapillaren grenzt. Bevor der Sauerstoff an das Hämoglobin des Erythrozyten gebunden werden kann, muss als letzte Schranke die Endothelzelle der Kapillare und die Membran des Erythrozyten überwunden werden

So gilt es als erwiesen (2,3), dass Nanopartikel nach Überwinden dieser Schranken durch den Prozess der Translokation ins Blut gelangen können und über diesen Weg in allen Organen und Bindegewebsstrukturen verteilt werden können.



8.4 Literatur zur Anatomie und Funktion der oberen und unteren Atemwege

- 1. Simko M., Mattsson M.O. Interactions between nanosized materials and the brain. Curr. Med. Chem. 2014; 21:4200-4214.
- 2. Ferin J., Oberdröster G., Penney D.P. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 6, 1992; 535-542.
- 3. Thorley A.J., Ruenraroengsak P, Potter T. E., Tetley T. D.:Critical Determinants of Uptake and Translocation of Nanoparticles by the Human Pulmonary Alveolar Epithelium: ACS Nano. 2014 Nov 25; 8(11): 11778-11789.

8.5 Abbildungsverzeichnis

Abbildungen 7 und 8:

Zilles K., Tillman B., Anatomie: Springer Medizin Verlag Heidelberg 2010

Abbildungen 9 und 10:

Schünke M., Schulte E., Schumacher U., Prometheus - Innere Organe: LernAtlas der Anatomie: Thieme Verlag Stuttgart 2018

10. Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. Franz-Xaver Reichl (Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontolgie der LMU München) möchte ich mich sehr herzlich für das Ermöglichen und für die Betreuung dieser Doktorarbeit bedanken.

Mein besonderer Dank geht an Frau Prof. Dr. Kirsten van Landyut und Stevan Cokic (Universität KU Leuven) für die sehr gute Zusammenarbeit bei der Versuchsdurchführung und der anschließenden Auswertung des experimentellen Teils der Doktorarbeit.

Auch meinen Eltern möchte ich für die Unterstützung bei der Durchführung des experimentellen Teils meiner Dissertation am BIOMAT- Department of Oral Health Sciences, KU Leuven, Belgien danken.

11. Eidesstattliche Versicherung

Breul, Sebastian

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

"Untersuchungen zur Filtrationswirkung von chirurgischen- sowie FFP3-Gesichtsmasken gegen Schleifstaubbelastungen durch Composite-Materialien in der Zahnmedizin"

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 24.02.2022

Sebastian Breul