

**Diplomarbeit**

**Die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten  
menschlichen Zähnen  
Eine Pilotstudie**

eingereicht von

**Elisabeth Huber**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der Zahnmedizin**

**(Dr. med. dent.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde**

**Klinische Abteilung für Kieferorthopädie**

unter der Anleitung von

**Sen.-Scientist Mag.<sup>a</sup> phil. Dr.<sup>in</sup> med.univ. Dr.<sup>in</sup> med.dent. Elisabeth Santigli**

Graz, September 2014

## Eidesstattliche Erklärung

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, September 2014*

*Elisabeth Huber eh.*

## Danksagungen

Die vorliegende Diplomarbeit wäre in dieser Form nicht möglich gewesen ohne die tatkräftige Unterstützung meiner Betreuerin Mag<sup>a</sup>. DDr<sup>in</sup>. Elisabeth Santigli, sowie meiner Zweitbetreuerin Mag<sup>a</sup>. Barbara Klug.

Ebenfalls einen sehr großen Beitrag geleistet haben Mag. Stefan Tangl und Dr. Christian Schuh vom *Karl-Donath Institut für Hartgewebeforschung der Medizinischen Universität Wien* bei der Herstellung der Schmelz-Dentin Plättchen.

Weiters möchte ich mich bedanken bei Mikhael Iaronka Menezes für seine Übersetzung aus dem Portugiesischen und bei meinen MitstudentInnen, allen voran Heidrun Frankl und Stefanie Schönbacher.

Ich möchte diese Arbeit meiner Familie widmen, die mir mit moralischer und finanzieller Unterstützung mein Studium ermöglicht hat. Mein ganz besonderer Dank gilt hier meinen Eltern.

## Zusammenfassung

Extrahierte menschliche Zähne werden zu verschiedensten Zwecken verwendet: sowohl für therapeutische Anwendungen, wie z.B. Transplantationen und Traumatherapie, als auch zur vorklinischen Ausbildung von Studierenden und im Rahmen von wissenschaftlichen Untersuchungen. Bei letzterem dienen Schmelz-Dentin Plättchen als Trägerplättchen für Biofilm Untersuchungen. Die Anfertigung derartiger Plättchen für *in vivo* oder *in vitro* Anwendungen sowie die Sammlung der dafür nötigen Zähne stellen eine methodische Herausforderung dar. Obwohl derartige Schmelz-Dentin-Plättchen in der Forschung oftmals zum Einsatz kommen, gibt es wenig beschreibende Literatur zu Sammlung und Herstellung.

Ziel der vorliegenden Studie war es, eine effektive, ethische und einfache Methodik für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen zu entwickeln. Für die Planung zukünftiger Studien sollte weiter erfasst werden, wie viele Schmelz-Dentin-Plättchen sich aus einem Zahn herstellen lassen und welche Zähne sich am besten dafür eignen.

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission wurden an der Zahnklinik der Medizinischen Universität Graz 67 Zähne von 21 PatientInnen aufgrund medizinischer Indikationen extrahiert und in 0,9% Kochsalzlösung gelagert. Anschließend wurden diese Zähne autoklaviert und von Weichgewebsrückständen befreit. Alle Zähne wurden fotografiert.

Die Eignung der Zähne zur Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen wurde nach qualitativen und quantitativen Gesichtspunkten geprüft.

Die Weiterverarbeitung zu Schmelz-Dentin Plättchen erfolgte extern am *Karl-Donath Institut für Hartgewebeforschung der Medizinischen Universität Wien*. Die gestellte Aufgabe an das Labor lautete möglichst viele Plättchen, mit der Größe von 2 x 4 x 6mm, aus einem Zahn herzustellen.

In der vorliegenden Arbeit konnten 60 Plättchen in der Größe von 2 x 4 x 6mm aus 67 Zähnen hergestellt werden. Dies entspricht einem Zahn-Plättchen-Verhältnis von 0,9 zu 1. Jedoch sind nicht alle Zähne gleichermaßen geeignet. Molaren eignen sich aufgrund ihrer Größe am besten, Prämolaren und untere Frontzähne sind nicht geeignet zur Plättchengewinnung. In weiteren Arbeiten kann auf die Sammlung dieser Zähne verzichtet werden.

# Abstract

## Producing dentin-enamel-slabs from extracted human teeth – a pilot study

Extracted teeth are in use for several clinical applications (e.g. transplantation, trauma-therapy). They are also used during clinical education and to answer scientific questions. In microbiological research native dentin-enamel slabs gained from these teeth serve as biofilm-carrier. But slab preparation for *in vivo/in vitro* usage is challenging.

Aim of this study was the development of an easy, ethical and effective workflow to obtain dentin-enamel slabs of defined size using teeth extracted during medical treatment routine.

Sixty-seven human teeth from 21 patients were included in the study with permission of the ethical committee of the Medical University of Graz. Teeth were stored in 0.9% saline immediately after extraction. Following sterilization and removal of tissue residues documentary photographs were taken. Teeth and photos were sent to the *Karl Donath Laboratory for Hard Tissue and Biomaterial Research*, Medical University of Vienna. Slabs sized 2mm x 4mm x 6mm consisting of enamel and underlying adjacent dentin, were cut from the teeth. Regions suitable for dentin mining, were marked on the photos for further analysis.

The yield of dentin-enamel slabs out of the defined collection of 67 teeth was quantified. Associations between tooth type, size and amount of destruction on the one side and dentin exploitation on the other side were examined.

In this study it was possible to produce 60 slabs sized 2mm x 4mm x 6mm out of 67 teeth. That equals nearly one slab per collected tooth. In other words the tooth-to-slab ratio is 1 to 0.9.

Molars provided at least one or more slab, whereas some teeth especially premolars and lower incisors were not suited. In future studies the collection of these tooth-types can thus be neglected.

# Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung .....	i
Danksagungen .....	ii
Zusammenfassung.....	iii
Abstract .....	iv
Inhaltsverzeichnis.....	v
Glossar und Abkürzungen .....	viii
Abbildungsverzeichnis.....	ix
Tabellenverzeichnis.....	x
1. Einleitung .....	1
1.1.    Aufbau menschlicher Zähne .....	1
1.1.1.    Zahnschmelz .....	2
1.1.2.    Dentin.....	3
1.1.3.    Pulpa .....	4
1.1.4.    Zement.....	4
1.2.    Biobanken .....	4
1.3.    Aktuelle Rechtslage.....	5
1.4.    Zahnbanken .....	6
1.4.1.    Zähne für Ausbildungszwecke.....	7
1.4.2.    Zähne für Wissenschaft und Forschung.....	10
1.4.3.    Sammeln von Zähnen .....	11
1.4.4.    Aufbereitung von extrahierten Zähnen .....	12
1.4.5.    Archivierung und Lagerung von Zähnen .....	13
1.4.5.1. Lagerung für klinische Zwecke .....	13
1.4.5.2. Lagerung für wissenschaftliche Zwecke .....	14
1.4.6.    Weiterverarbeitung der archivierten Zähne .....	16
1.4.6.1. Zahnplättchen .....	16

2.	Fragestellung und Zielsetzung .....	19
2.1.	Zielsetzung .....	19
2.2.	Fragestellung.....	19
2.3.	Nullhypothese.....	19
2.4.	Alternativhypothese .....	19
2.5.	Sekundäre Fragestellung.....	19
3.	Material und Methoden.....	20
3.1.	Literaturrecherche .....	20
3.2.	Sammlung der Zähne .....	20
3.3.	Aufbereitung der Zähne.....	24
3.4.	Organisation der Zahnsammlung.....	27
	Protokoll für Zahnsammlung und Aufbereitung der Zähne .....	28
3.5.	Gewinnung der Plättchen .....	29
	Auswählen der geeignetsten Flächen .....	29
	Vermessen und einzeichnen der Plättchengröße .....	29
	Zuschleifen der Plättchen.....	29
	Markierung der Dentinseite .....	30
	Protokoll für die Plättchenherstellung .....	31
3.6.	Datensammlung.....	32
3.6.1.	Qualitative Daten .....	32
3.6.2.	Quantitative Daten .....	33
3.7.	Datenauswertung .....	34
3.7.1.	Qualitative Datenauswertung.....	34
3.7.2.	Quantitative Datenauswertung .....	34
4.	Ergebnisse .....	35
4.1.	Zahnsammlung.....	35
4.2.	Zahnsammlung und Plättchengewinnung .....	35
4.3.	Ausbeute von Schmelz-Dentin Plättchen.....	38

5. Diskussion .....	40
6. Konklusion.....	43
7. Referenzen .....	44
Anhang .....	48
<i>Informed Consent</i> für Patienten der Universitätsklinik von São Paulo.....	48
<i>Informed Consent</i> an der Medizinischen Universität Graz .....	50
Protokoll für Zahnsammlung, Aufbereitung und Plättchenherstellung .....	52

## Glossar und Abkürzungen

CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid
Frontzahn	Schneidezahn
<i>in vitro</i> (lat.)	außerhalb eines Organismus (lat. <i>im Glas</i> )
<i>in vivo</i> (lat.)	im lebenden Organismus (lat. <i>im Lebendigen</i> )
<i>Informed consent</i> (engl)	Aufklärung und Einwilligung
<i>Inzisivus, -i</i> (lat.)	Schneidezahn
KCl	Kaliumchlorid
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrogenphosphat
Komposit	Füllungsmaterial für Zähne (aus Kunststoff)
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
Molar	Mahlzahn
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid; <i>hier</i> : physiologische Kochsalzlösung
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
Prämolar	Vormahlzahn

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau eines Zahnes .....	1
Abbildung 2: intakte Schmelzoberfläche, REM-Aufnahme .....	2
Abbildung 3: Schmelz mit sichtbaren Schmelzprismen (Streifung), Polarisationsmikroskopie .....	2
Abbildung 4: Dentin mit deutlich sichtbaren Dentintubuli, REM-Aufnahme.....	3
Abbildung 5: künstliche Plastikblöcke und Plastikzahn mit Wurzelkanälen zum Üben endodontischer Behandlungen.....	7
Abbildung 6: Patient vor der Behandlung mit frakturiertem Zahn 21 .....	9
Abbildung 7: Direkt nach Attachement des gewonnenen Fragments .....	9
Abbildung 8: Sechs Monate nach der Behandlung .....	9
Abbildung 9: Marylandbrücke mit Zahnfragment nach Trauma.....	10
Abbildung 10: Unterkieferschiene mit freien Okklusalflächen .....	18
Abbildung 11: Oberkieferschiene mit Rinderschmelzplättchen .....	18
Abbildung 12: Seite 1 des Informed Consent mit allgemeiner Information .....	22
Abbildung 13: Seite 2 des Informed Consent mit Einwilligung der PatientInnen.....	23
Abbildung 14: Sammelgefäß mit Zähnen.....	24
Abbildung 15: Gesammelte Zähne im Becherglas mit 0,9% NaCl.....	25
Abbildung 16: Becherglas mit gesammelten Zähnen, verschlossen mit Alufolie .....	25
Abbildung 17: Reinigung der Zähne mit Zahnbürste .....	26
Abbildung 18: Einzeln verpackter und beschrifteter Zahn, versandbereit .....	26
Abbildung 19: Fotos von Zahn 33 mit Notizen.....	27
Abbildung 20: EXAKT –Diamantbandsäge.....	30
Abbildung 21: Buehler MetaServ® 250 Grinder-Polisher, Tellerschleifmaschine.....	30
Abbildung 22: Dentinseite eines fertigen Plättchens.....	30
Abbildung 23: Fotoarchiv der Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp sortiert.....	32
Abbildung 24: Auszug aus der Datenmatrix zur Erfassung quantitativer Kenngrößen aus der Zahnsammlung (n=67) .....	33
Abbildung 25: Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp und Ausmaß der vorhandenen Zahnschmelz ergänzt durch Schema der Plättchenausbeute in Rangordnung .....	36
Abbildung 26: Zahnsammlung (n=67) nach Ausmaß der intakten Zahnflächen in Rangordnung, farbcodiert .....	37
Abbildung 27: Zahnsammlung (n=67) nach Plättchenausbeute in Rangordnung, farbcodiert .....	37
Abbildung 28: Zahnsammlung (n=50) und Schmelz-Dentin Plättchenausbeute von geeigneten Zähnen .....	38

Abbildung 29: Schmelz-Dentin Plättchen Ausbeute .....	39
Abbildung 32: Zahnauswahl für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen .....	39

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp und Lokalisation.....	35
Tabelle 2: Zahnsammlung (n=67) nach Schmelz-Dentin Plättchenausbeute.....	38

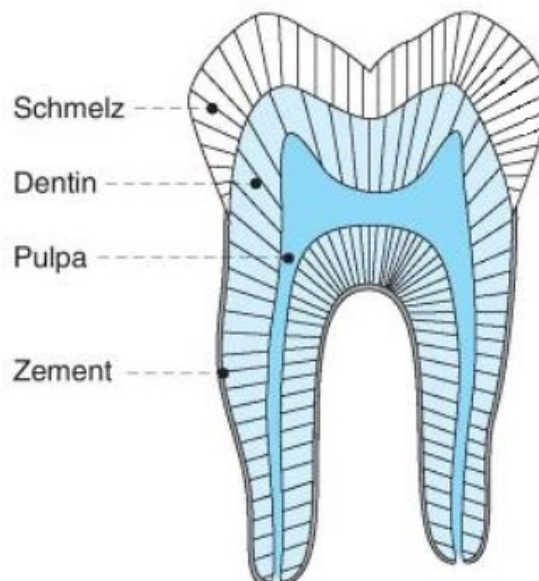
# 1. Einleitung

Karies und parodontale Erkrankungen sind in unserer Zeit die häufigsten Erkrankungen der Zähne und des Zahnhalteapparates. Beide werden durch Bakterien mitverursacht und sind damit Infektionskrankheiten. Um diese Krankheiten zu erforschen ist es nötig, den menschlichen oralen Biofilm zu untersuchen. Dazu eignet sich native, also auf natürlichem Wege entstandene Zahnplaque. Um diese gewinnen zu können verwenden WissenschaftlerInnen Trägerplättchen, die von ProbandInnen über einen bestimmten Zeitraum im Mund getragen werden. Um möglichst naturidenten Biofilm zu gewinnen, können Trägerplättchen aus extrahierten menschlichen Zähnen verwendet werden. Die Herstellung derartiger Plättchen wird in der vorliegenden Arbeit beschrieben.

## 1.1. Aufbau menschlicher Zähne

Menschliche Zähne bestehen im Wesentlichen aus vier Teilen: Schmelz, Dentin, Pulpa und Zement (Abbildung 1). Die Zahnkrone, welche von Schmelz überzogen ist, hat Kontakt mit der Mundhöhle, der Rest des Zahnes ist für gewöhnlich von Knochen und Zahnfleisch bedeckt und damit nicht sichtbar.

Zahnschmelz, Dentin und Zement zählen zu den Zahnhartsubstanzen, die Pulpa bildet den Weichgewebekern eines Zahnes und liegt in seinem Innersten.



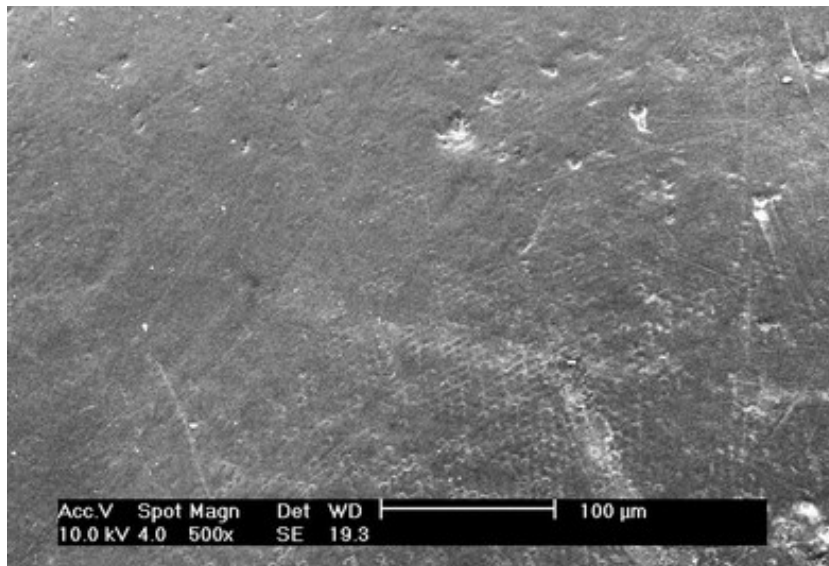
**Abbildung 1:** Aufbau eines Zahnes (Hellwig, Klimek et al. 2010)

### 1.1.1. Zahnschmelz

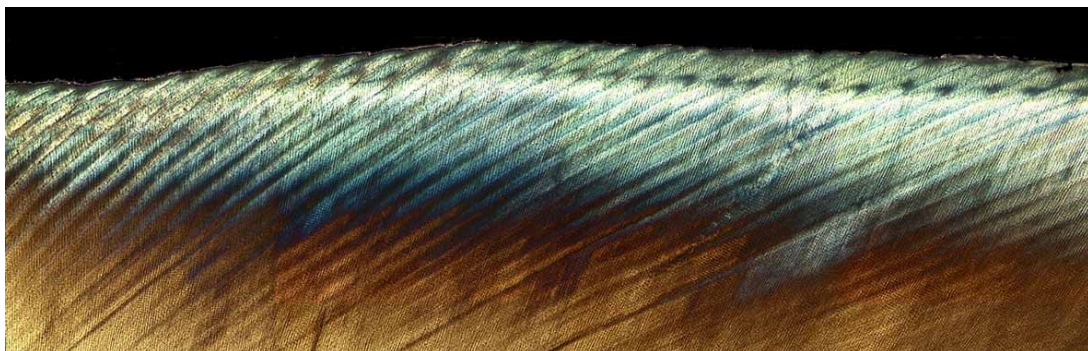
Ausgereifter Zahnschmelz ist die härteste Substanz im menschlichen Körper und besteht aus komplexem Hydroxylapatit und anorganischen Spurenelementen (Gängler, et al. 2010).

Beim Zahnschmelz handelt es sich nicht um ein Gewebe im engeren Sinn, da er nach der Bildung durch Ameloblasten weder Zellen noch Kollagen oder andere organische Bestandteile enthält (Abbildung 2). Ameloblasten sind differenzierte Odontoblasten (Dentin bildende Zellen), die Schmelzmatrix sezernieren. Diese Matrix reift nach der Sekretion, indem weitere Mineralien eingelagert werden, wodurch Schmelzkristalle entstehen. Es handelt sich beim Zahnschmelz also um mineralisiertes Sekret. Die dabei entstehenden Schmelzkristalle verbinden sich miteinander und bilden Schmelzprismen (Abbildung 3) (Schroeder 2000).

Eine Regeneration oder Heilung des Zahnschmelzes nach Beschädigung ist in der Regel nicht möglich.



**Abbildung 2:** intakte Schmelzoberfläche, REM-Aufnahme (Bruzell, Johnsen et al. 2009)

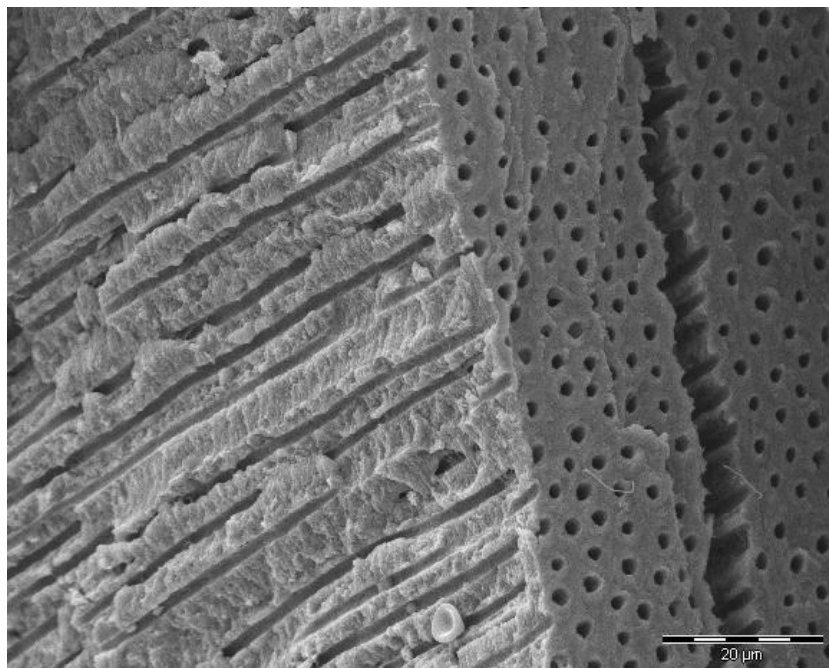


**Abbildung 3:** Schmelz mit sichtbaren Schmelzprismen (Streifung), Polarisationsmikroskopie (Bromage 2014)

### 1.1.2. Dentin

Dentin ist wie Schmelz ein Zahnhartgewebe und bildet den größten Teil des Zahnes. Es lässt sich unterteilen in äußeres **Manteldentin** und **zirkumpulpaes Dentin**, das die Pulpa umgibt. Im koronalen Teil wird es von Schmelz und im apikalen Teil von Zement bedeckt. In seiner Zusammensetzung ist es Knochen und Zement sehr ähnlich, es besteht ebenfalls aus einer kollagenen Matrix und Hydroxylapatit. Dentin ist ein Produkt der Odontoblasten, die mit ihren Fortsätzen zeitlebens in die so genannten Dentintubuli hineinragen. In diesen flüssigkeitsgefüllten Tubuli liegen zusätzlich freie Nervenendigungen, sodass Reize direkt in die Pulpa weitergeleitet werden können. Durch Karies können diese Nervenendigungen zerstört werden, ebenso bildet sich im Alter immer mehr **Reizdentin** oder **Reparaturdentin**. Dieses wird von den Odontoblasten als Reaktion auf äußere Reize wie Karies, Füllungen oder thermische Einwirkungen gebildet. Es wird innen an die bereits bestehende Dentinschicht angelagert. Daher nimmt die Sensibilität der Zähne im Laufe des Lebens ab und das Pulpenkavum wird kleiner. Über den Vorgang der Reizdentinbildung ist eine Regeneration in sehr begrenztem Ausmaß möglich.

Rund um die Dentintubuli liegt das am stärksten mineralisierte, sogenannte **peritubuläre Dentin** (Abbildung 4). Dazwischen findet sich das **intertubuläre Dentin** mit einem höheren Anteil an organischen Bestandteilen (Gängler, et al. 2010).



**Abbildung 4:** Dentin mit deutlich sichtbaren Dentintubuli, REM-Aufnahme  
(The Faculty of Dentistry, University of Oslo 2014)

### 1.1.3. Pulpa

Im Innersten des Zahnes liegt die Pulpa. Hierbei handelt es sich um ein stark mit Gefäßen und Nerven durchsetztes Bindegewebe. Die Pulpa ist verantwortlich für die Sensibilität und Vitalität des Dentins und im Weiteren für die des gesamten Zahnes. Sie wird fast allseits von Dentin umschlossen und bildet mit selbigem eine entwicklungsgeschichtliche Einheit, die sogenannte Pulpa-Dentin-Einheit. Man kann sie unterteilen in Kronenpulpa und Wurzelpulpa (Schroeder 2000).

### 1.1.4. Zement

Die Oberfläche der Zahnwurzel wird von Zement bedeckt. In seiner Struktur ähnelt er dem menschlichen Knochen, im Gegensatz zu diesem enthält er allerdings keine Gefäße. Von allen drei Zahnhartgeweben ist Zement das mit dem höchsten Anteil an organischen Bestandteilen und somit das Weichste. In seiner Zusammensetzung ist der Zement, im Gegensatz zu Schmelz und Dentin, variabel. Auch die Schichtdicke ist weniger konstant. Zement zählt zum Zahnhalteapparat, da die Parodontalfasern an ihm haften und den Zahn in der Alveole fixieren. Zement wird während des gesamten Lebens gebildet und auf die Wurzeloberfläche aufgelagert (Hellwig, Klimek et al. 2010).

Viele Zähne werden aus medizinischen Gründen extrahiert. Gelegentlich bewahren die behandelnden ZahnärztInnen diese Zähne im Anschluss auf und legen eine kleine Sammlung an, meist ohne zu wissen, wofür sie eigentlich sammeln. In der vorliegenden Arbeit möchte ich zeigen, was mit einer derartigen Zahnsammlung geschehen kann, was zu beachten ist und wo menschliche Zähne im Allgemeinen Verwendung finden.

## 1.2. Biobanken

Eine Biobank ist im Wesentlichen eine Institution, die menschliche Gewebeproben, Materialien oder Informationen, die aus deren Analyse gewonnen werden sowie weiterführende Informationen dazu (z.B. Krankengeschichte und Anamnese) lagert und speichert (OECD 2009). Grundsätzlich sollte eine derartige Einrichtung autonom und nicht auf Fördermittel von Firmen angewiesen sein. Nur so kann gewährleistet werden, dass die Forschung, die mit den gesammelten Proben durchgeführt wird, unabhängig und nicht kommerziell betrieben wird. Die Beschaffung von Geldern für den Aufbau, den Erhalt und die Verwaltung der Biobank stellt eine große Hürde dar. Es besteht auch die Gefahr, dass bei Insolvenz der Biobank die Gläubiger Gewebeproben, die eigentlich nur für nichtkommerzielle Verwendung gesammelt wurden, verkaufen könnten. Diese Möglichkeit muss vor Gründung einer derartigen Institution geklärt werden.

Derzeit gibt es noch keine allgemeingültige Vorschrift, wie eine Biobank aussehen oder organisiert werden sollte, weswegen der Austausch von Proben sowie Informationen derzeit noch schwierig sind (Riegman, van Veen 2011, Pawlikowski, Sak et al. 2011). Dies hat zu Folge, dass die Menge der Proben meist zu gering ist, um statistisch signifikante Aussagen oder Ergebnisse zu erzielen. Eine weitere Herausforderung stellt die Einverständniserklärung der ProbandInnen und GewebespenderInnen dar. Einerseits soll damit keine Einschränkung der Forschung verursacht, aber andererseits müssen die ProbandInnen aufgeklärt werden. Außerdem müssen ethische und legale Grundsätze beachtet werden (Pawlikowski, Sak et al. 2011). Dieser sogenannte „*Informed Consent*“ sollte vor der Probenentnahme vorliegen (OECD 2009). Probleme ergeben sich hierbei, wenn Proben im Rahmen einer Operation „anfallen“, bei Minderjährigen, die noch nicht selbst zustimmen können, sowie bei der Entnahme von Gewebeproben bei Toten. Die aktuelle Rechtslage ist kompliziert.

### 1.3. Aktuelle Rechtslage

Im österreichischen Staatsgrundgesetz ist die Freiheit der Wissenschaft verankert (Staatsgrundgesetz 1867). Sofern es das Gesetz nicht ausdrücklich verbietet, ist es grundsätzlich erlaubt, im Dienste der Wissenschaft Handlungen durchzuführen.

Abgesehen von diesem gibt es in Österreich derzeit kein Gesetz, das die Verwendung extrahierter Zähne zu Forschungszwecken beschreibt. Es gibt einen Bericht der Ethikkommission und eine OECD-Richtlinie zu Biobanken, die am ehesten auf die rechtliche Situation der Biobanken in Österreich anwendbar sind (Bioethikkommission beim Bundeskanzleramt 2007, OECD 2009). Derartige Richtlinien und Berichte werden immer dann zu Rate gezogen, wenn noch kein Gesetz existiert, aber trotzdem Entscheidungen gefällt werden müssen, weshalb sie beinahe Rechtscharakter aufweisen. Gesetze entstehen in der Regel dann, wenn ein strittiges Thema längere Zeit diskutiert wird und durch die aktuelle Gesetzeslage nicht ausreichend geklärt werden kann. Bei Stammzellforschung war dies der Fall, weswegen dieser Forschungsbereich mittlerweile umfangreich reguliert ist. Die Forschung entwickelt sich aber sehr viel schneller, als die Rechtsprechung angepasst werden kann. Das bedeutet, dass derzeit viele Dinge, die theoretisch möglich wären, nicht erlaubt sind.

Die vorliegende Untersuchung handelt von der Forschung mit menschlichen Zähnen, die aus medizinischer Indikation extrahiert werden. Werden diese Zähne nicht transplantiert oder nach der Extraktion in einer anderen Form weiterverwendet, dann handelt es sich um Körperabfall im Rahmen einer medizinischen Behandlung (gleich wie z.B. entferntes Tumorgewebe). Sofern die PatientInnen nicht von sich aus einer weiteren Verwendung der Zähne widersprechen oder sie behalten möchten, dürfen diese Zähne zu (nicht gewinnorientierten) Forschungs- und Ausbildungszwecken verwendet

werden (Bioethikkommission beim Bundeskanzleramt 2007). Die PatientInnen müssen in einem solchen Fall auch nicht gesondert über die weitere Verwendung der Zähne aufgeklärt werden. Würden diese Zähne transplantiert werden, fielen sie unter das Transplantationsgesetz. Dieses ist seit Ende 2012 ein eigenständiges Gesetz (davor waren Transplantationen über das Krankenanstaltengesetz geregelt). Bei einer Transplantation müsste der Spender im Rahmen einer Lebendspende deshalb genauso umfassend aufgeklärt werden als würde er eine Niere spenden (Organtransplantationsgesetz 2012). Bei der Zahntransplantation handelt es sich in der Regel um eine ethisch unbedenkliche Autotransplantation, der Spender/die Spenderin ist für gewöhnlich der Empfänger/die Empfängerin selbst.

Auch die Sammlung von Zähnen, wie sie in Krankenhäusern und vielen Zahnarztpraxen stattfindet, ist nicht geregelt. Diese Zähne dienen keinem therapeutischen Zweck und werden häufig anonymisiert in einem Gefäß gesammelt. Somit gibt es auch keine Probleme mit Datenschutz und Privatsphäre, da nicht nachvollziehbar ist, welcher Zahn von welcher Person stammt.

Selbst für Gewebe- oder Organsammlungen mit therapeutischem Hintergrund gibt es nur vereinzelte Regelungen. Ein Beispiel ist die Einrichtung eines Blutdepots, wobei auch hier eine Übertragung auf Menschen vorgesehen ist (Bundesgesetz über Krankenanstalten und Kuranstalten (KAKuG) 2014).

#### 1.4. Zahnbanken

Eine Zahnbank ist im Grunde eine Unterart einer Biobank. Sie ist in der Regel einer Universitätsklinik bzw. zahnmedizinischen Fakultät oder einer vergleichbaren Institution angegliedert. Dies ist von Vorteil, da eine gewisse Infrastruktur wie beispielsweise Räumlichkeiten, Geräte oder wissenschaftliches Know-How sowie Bedarf an der Arbeit einer Zahnbank bereits vorhanden sind. Auf der ganzen Welt verwenden StudentInnen der Zahnmedizin menschliche Zähne im Rahmen ihrer Ausbildung. Ist die Zahnbank Teil der Universität, erleichtert das für diese Studierenden den Zugang zu solchen Zähnen.

Wissenschaftliche Berichte über Zahnbanken liegen vor allem aus Brasilien vor. Deren Aufbau ähnelt sich immer: Als Teil einer Uniklinik, nominiert die Universität selbst einen Vorstand, welcher verantwortlich für Organisation sowie MitarbeiterInnen und Geräte der Zahnbank ist. Die Angestellten sollten fachlich kompetent sein und in jedem Fall Grundkenntnisse mitbringen, auch StudentInnen können mitarbeiten.

Die Aufgaben einer Zahnbank sind im Wesentlichen die Sammlung von Zähnen für Forschung, für die Ausbildung von StudentInnen und für klinisch-therapeutische Zwecke. Zusätzlich soll durch Bewusstseinsbildung auch der Wert von Zähnen als Organ in der Bevölkerung und bei ÄrztInnen gesteigert werden. Nur so kann sichergestellt werden, dass genügend Menschen extrahierte Zähne

spenden und vor allem ZahnärztInnen gesammelte Zähne einer Zahnbank zur Verfügung stellen (Nassif, Tieri et al. 2003).

Im folgenden Teil werden die Aufgaben einer solchen Zahnbank näher erläutert:

#### 1.4.1. Zähne für Ausbildungszwecke

Extrahierte Zähne werden vor allem zu Ausbildungszwecken von Studierenden verwendet. Besonders endodontische Verfahren und Abläufe der Präparation können kaum besser mit anderen Mitteln geübt werden. Es gibt Versuche, diese natürlichen Zähne durch künstliche Plastikblöcke zu ersetzen (Abbildung 5), allerdings können diese weder die natürliche Anatomie noch die Haptik echter menschlicher Zähne ersetzen (Dominici, Eleazer et al. 2001, Hashemipour, Mozafarina et al. 2013). Da menschliche Zähne allerdings eine potentielle Infektionsquelle sein können, müssen gewisse Grundregeln im Umgang beachtet werden.

Meistens sind die StudentInnen selbst für die Beschaffung und Aufbereitung der Zähne zuständig und ihnen fehlen oft, aufgrund ihrer noch unvollständigen Ausbildung, das Wissen, Bewusstsein und die Möglichkeiten für die geeignete Aufbereitung der gesammelten Zähne. Deshalb sollte das Lehrpersonal zumindest über die bestehende Infektionsgefahr aufklären und Hilfestellung leisten. (Hashemipour, Mozafarina et al. 2013).



**Abbildung 5:** künstliche Plastikblöcke und Plastikzahn mit Wurzelkanälen zum Üben endodontischer Behandlungen (VDW 2014)

#### Zähne für klinische Anwendungen

Die klinische Verwendung von extrahierten Zähnen bietet sich im Rahmen der Behandlung eines Zahntraumas an. Frakturen der oberen Schneidezähne gehören zu den häufigsten Verletzungen der Zähne durch Unfälle. Buben sind etwa doppelt so oft betroffen wie Mädchen und Verletzungen im Milchgebiss sind häufiger als bei bleibenden Zähnen. Die derzeit bevorzugte Behandlung ist das

Reattachement (Wiederbefestigung) des eigenen Fragments, sofern es gefunden wird und somit zur Verfügung steht. Geht das Fragment des beschädigten Zahnes verloren oder ist es so weit zerstört, dass keine Wiederbefestigung möglich ist, muss der Zahn anderweitig versorgt werden.

Möglichkeiten dafür sind Kronen, Veneers (Verblendschalen), Kompositaufbauten oder die Versorgung mit einem Fragment eines anderen extrahierten Zahnes (Gängler, et al. 2010).

Demarco et al. berichten in einer Fallstudie über einen jungen Mann, dessen linker zentraler Schneidezahn (Oberkiefer) bei einem Autounfall frakturiert war (Abbildung 6). Das Fragment ging bei dem Unfall verloren. Als Alternative bot sich die Versorgung mittels eines Zahnfragments aus der Zahnbank an. Der Patient willigte ein und so wurde ein Zahn aus der Sammlung ausgewählt, der dem verletzten Zahn in Form, Größe und Farbe am besten entsprach. Dieser wurde nun soweit präpariert, dass das gewonnene Teilstück mit Adhäsivtechnik auf dem fragmentierten Zahn befestigt werden konnte (Abbildung 7). Auch nach sechs Monaten war die Funktionalität des Zahnes gegeben und der Patient mit dem Ergebnis zufrieden, auch wenn eine gewisse Farbdiskrepanz sichtbar war (Abbildung 8). Die Autoren bezweifeln, dass diese Behandlungsmethode zur Standardbehandlung solcher Fälle werden kann, da die Suche nach einem passenden Zahn schwierig und die Anpassung an den Restzahn sehr zeitaufwändig ist. Das Zahnstück muss in jedem Fall so aufbereitet werden, dass eine Kreuzinfektion nicht möglich ist (Demarco, de Moura et al. 2008).

Manchmal ist ein Zahn durch ein Trauma so tief frakturiert oder es sind die umgebenden Gewebe wie Knochen und Zahnfleisch so stark beschädigt, dass eine konservierende Behandlung nicht mehr möglich ist und die verbleibende Wurzel entfernt werden muss. In diesem Fall könnte eine komplette Zahnkrone oder, wenn sie unversehrt ist, die Krone des ausgeschlagenen Zahnes entsprechend einer Marylandbrücke mit Komposit in der Lücke befestigt werden (Abbildung 9). Diese Möglichkeit besteht natürlich auch, wenn Lücken vorhanden sind, die nicht durch ein Trauma sondern beispielsweise durch Aplasien oder eine generelle Zahnunterzahl bedingt sind.

Wie in dem zuvor ausführlich beschriebenen Beispiel stammen die Schmelzstücke in solchen Fällen von gesammelten Zähnen (Alani, Austin et al. 2012).



**Abbildung 6:** Patient vor der Behandlung mit frakturiertem Zahn 21 (Demarco, de Moura et al. 2008, Al-Ahmad, Maier et al. 2010)



**Abbildung 7:** Direkt nach Attachement des gewonnenen Fragments (Demarco, de Moura et al. 2008, Al-Ahmad, Maier et al. 2010)



**Abbildung 8:** Sechs Monate nach der Behandlung (Demarco, de Moura et al. 2008)



**Abbildung 9:** Marylandbrücke mit Zahnfragment nach Trauma, linker mittlerer Schneidezahn ergänzt  
(Alani, Austin et al. 2012)

#### 1.4.2. Zähne für Wissenschaft und Forschung

Extrahierte Zähne werden sehr gerne verwendet, um neue Materialien für die konservierende und restaurative Zahnheilkunde zu testen. Hier gilt, wie in der Studierendenausbildung, dass natürliche Zähne andere Eigenschaften haben wie beispielsweise Keramik- oder Kunststoffblöcke.

Ein großer Zweig der Dentalforschung beschäftigt sich mit **plastischen Restaurationsmaterialien**, deren Randdichtigkeit, Stärke der Verbindung mit den Zähnen, Abriebfestigkeit und weiteren Materialeigenschaften. So können Schwachstellen gefunden und beseitigt werden. Der Ablauf und Vorbehandlungen vor dem Legen einer solchen Füllung kann so untersucht und perfektioniert werden.

**Wurzelfüllmaterialien** für endodontische Behandlungen werden ebenfalls untersucht und weiterentwickelt, um den bestmöglichen Behandlungsablauf mit geeigneten Materialien zu ermöglichen.

Auch Spülflüssigkeiten und verschiedene **Konditionierungsmittel** zur Entfernung der Schmierschicht nach der Präparation können so getestet werden.

Abgesehen vom großen Bereich der Materialtestung gibt es noch andere Forschungsfelder. Viele wissenschaftliche Fragestellungen beschäftigen sich aktuell mit dem Wachstum und den **Eigenschaften des nativen Biofilms** und dessen Bedeutung für die parodontale Behandlung. Dazu wird Biofilm, der auf einem Trägerobjekt *in vivo* gewachsen ist, gesammelt. Für eine möglichst naturgetreue Simulation kommen extrahierte Zähne zum Einsatz. Um über extrahierte Zähne verfügen zu können, müssen diese bei jeder Gelegenheit gesammelt und aufbewahrt werden.

### 1.4.3. Sammeln von Zähnen

Gegenwärtig ist die Sammlung von Zähnen, wie sie in Arztpraxen, Ambulatorien und Universitätskliniken stattfindet, nur wenig geregelt. Zähne sind an sich keine Organe, die anderen Menschen transplantiert werden, daher fallen sie nicht unter das Transplantationsgesetz. Werden sie einer Biobank gespendet, müssen gewisse Richtlinien beachtet werden (Bioethikkommission beim Bundeskanzleramt 2007). Da es für Biobanken derzeit noch keine definitiven Gesetze gibt, und jede Biobank bzw. Klinik eigene Regeln aufstellt, sind Vergleiche schwierig. Auch werden das Problem der PatientInneneinwilligung und die Aufklärung vor der Spende von jeder Institution regional unterschiedlich gelöst. Die einen berufen sich auf ein „opt-out“-System, bei dem die PatientInnen von sich aus aktiv einer Spende widersprechen müssen (vergleichbar mit der österreichischen Organspenderegelung (Organtransplantationsgesetz 2012 §7)). Die anderen klären PatientInnen gar nicht darüber auf, dass übriggebliebene Gewebe in die Biobank fließen und damit Forschung betrieben wird (Pawlikowski, Sak et al. 2011). Die OECD-Richtlinie für Biobanken und die österreichische Bioethikkommission empfehlen jedenfalls eine umfassende Aufklärung der PatientInnen zum Thema Gewebespende vor dem Eingriff und viele Biobanken holen auch die Einwilligung der PatientInnen ein, und sei es nur um zukünftige Konflikte zu vermeiden (OECD 2009). Private Zahnsammlungen von ÄrztInnen und Unikliniken sind in dieser Hinsicht noch unklarer geregelt, da mit diesen Zähnen keine medizinische Forschung betrieben wird. Meist werden sie zur Studierendenausbildung verwendet und fallen somit in die Kategorie „menschlicher Probensammlungen“. Diese sind von der Biobankrichtlinie ausgenommen.

Aus therapeutischen Gründen extrahierte Zähne werden im Bericht der Bioethikkommission als „Rückstände eines Heileingriffs“ bezeichnet (ebenso wie entferntes Tumorgewebe, o.Ä.), bei dem unterstellt werden darf, dass die PatientInnen kein Interesse an diesem „Körperabfall“ haben und mit einer Nutzung der extrahierten Zähne durch eine Biobank, ÄrztInnen oder eine Klinik stillschweigend einverstanden sind. Dies gilt natürlich nicht, wenn die PatientInnen diesem Vorgehen ausdrücklich widersprechen und die extrahierten Zähne behalten möchten (Bioethikkommission beim Bundeskanzleramt 2007).

Da der Umgang mit Zahnbanken in Brasilien weit verbreitet ist und brasilianische Zahnbanken am häufigsten wissenschaftlich untersucht werden, gibt es zumindest an der Zahnbank der Universität von São Paulo für jede Art der Zahnspende einen eigenen *Informed Consent*. Privatpersonen, ÄrztInnen und PatientInnen der Uniklinik können individuell aufgeklärt werden und ihre extrahierten oder gesammelten Zähne zu Verfügung stellen (Nassif, Tieri et al. 2003). Eine Auswahl der Aufklärungsformulare in portugiesisch-deutscher Übersetzung findet sich im Anhang. Welche weiteren Punkte für eine Zahnsammlung wichtig sind wird im folgenden Absatz beschrieben.

#### 1.4.4. Aufbereitung von extrahierten Zähnen

Da Zähne in Kontakt mit Blut und Speichel stehen und organisches Material beinhalten, stellen sie eine mögliche Infektionsquelle für diverse Krankheiten, wie z.B. HIV, Hepatitis B und C und weitere dar (Dominici, Eleazer et al. 2001). Deshalb müssen extrahierte Zähne vor jeglicher Weiterverwendung desinfiziert oder sterilisiert werden. Da es für die Aufbereitung von Zähnen keine Richtlinien sondern höchstens Empfehlungen gibt, sollte besondere Aufmerksamkeit auf diesen Bereich gerichtet werden.

Ebenfalls sollte ausreichend Wert auf Schutzkleidung (Handschuhe, Schutzbrille, Mundschutz und Mantel) während dem Umgang mit menschlichen Zähnen gelegt werden. Für die Desinfektion von Zähnen (Aufbereitung vor der Lagerung) gibt es mehrere Möglichkeiten:

- Chemische Sterilisation:  
Einlegen in Formalin, Natriumhypochlorid oder vergleichbare Desinfektionsmittel (Chlorhexamed, Alkohol, Wasserstoffperoxid)  
Der Vorteil der chemischen Sterilisation ist, dass sie einfach durchzuführen ist und die dafür nötigen Chemikalien in der Regel leicht verfügbar sind. Die Erfolgsrate variiert allerdings stark in Abhängigkeit des verwendeten Mittels und der Zeit (Dominici, Eleazer et al. 2001, Kumar, Sequeira et al. 2005)
- Thermische/ Dampfsterilisation:  
Autoklavieren (Vorsicht ist bei Zähnen mit Amalgamfüllungen geboten)  
Sofern ein Dampfsterilisator zur Verfügung steht ist diese Möglichkeit ebenfalls sehr einfach durchzuführen. Die aufbereiteten Zähne zeigen im Anschluss an diese Aufbereitungsmethode kein Keimwachstum mehr (Kumar, Sequeira et al. 2005).
- Strahlensterilisation:  
Bestrahlen mit Gamma-Strahlung (Amaechi, Higham et al. 1998)  
Die Möglichkeit der Strahlensterilisation mittels einer radioaktiven Quelle ist sehr effizient in Bezug auf die Keimreduktion, aber nur in wenigen Fällen möglich, da die dafür nötige Ausstattung nur in ausgewählten Laboren vorhanden ist. Sie darf nur von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.

Diese Möglichkeiten bestehen nur dann, wenn die Zähne für wissenschaftliche Zwecke aufbereitet werden, nicht aber wenn eine Transplantation geplant ist. In diesem Fall müssen die Parodontalzellen am Leben erhalten werden. Um Infektionen zu vermeiden muss dann wie bei einer Organtransplantation vorgegangen werden, da eine Aufbereitung des Zahnes selbst nicht möglich ist.

Dies ist auch der Grund für die seltene Transplantation von Zähnen, vor allem da verlorene Zähne durch künstliche Implantate sehr gut ersetzt werden können.

### 1.4.5. Archivierung und Lagerung von Zähnen

Die Lagerung von extrahierten Zähnen kann auf verschiedenste Weise erfolgen und sollte sich nach den Zielaufgaben richten.

#### 1.4.5.1. Lagerung für klinische Zwecke

Bei der Lagerung von Zähnen für klinische Anwendungen muss unterschieden werden, ob nur ein Teil der Krone oder der komplette Zahn betroffen ist. Wie bereits oben beschrieben ist es zusätzlich ist von Bedeutung was in weiterer Folge mit diesem Zahn passieren soll.

#### Avulsierte Zähne

Zähne die durch einen Unfall komplett aus der Alveole geschlagen werden, können replantiert werden. Davor müssen sie gereinigt und, falls die Versorgung nicht am Unfallort geschehen kann, in einer geeigneten Flüssigkeit aufbewahrt werden. Dies dient dazu die Parodontalzellen am Leben zu erhalten, denn nur so kann der Zahn wieder einheilen und seine ursprüngliche Funktion wiederhergestellt werden. Gute Lagerungsflüssigkeiten sollten neben einer physiologischen Konzentration an Mineralien auch ein Nährmedium für ebendiese Zellen enthalten. Eine geeignete Aufbewahrungsmöglichkeit für ausgeschlagene Zähne bietet die so genannte „Zahnrettungsbox“ (z.B. Dentosafe® von MEDICE Arzneimittel Pütter GmbH & Co. KG oder SOS Zahnbox® von miradent). Sie enthält eine Zellnährlösung. Darin gelagerte Zähne könne bis zu 24 Stunden nach dem Unfall noch replantiert werden (Initiative der Zahnärzte in der Stadt Aachen 2012, Hager & Werken GmbH & Co. KG 2014, MEDICE Arzneimittel Pütter GmbH & Co. KG 2014).

Andere geeignete Aufbewahrungsflüssigkeiten sind: „Hanks balanced salt solution“ (eine gesättigte Lösung aus KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaCl, Glucose, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> und MgCl<sub>2</sub>), Milch, Eiweiß, physiologische Kochsalzlösung oder Speichel.

Sterile Lösungen sind zu bevorzugen, und grundsätzlich gilt, dass die schnellstmögliche Versorgung durch einen Spezialisten erfolgen soll. Je kürzer sich der Zahn außerhalb der Alveole befindet, desto besser stehen die Chancen auf Einheilung (Andersson, Andreasen et al. 2012).

## Zahnfragmente

Wenn Zähne durch einen Unfall oder andere Krafteinwirkungen frakturieren, sollte der abgebrochene Teil nach Möglichkeit feucht gelagert werden um eine Austrocknung zu verhindern. Wird dieser Teil im Rahmen einer konservierenden Behandlung mittels Adhäsivtechnik wieder angeklebt, hält er deutlich besser, als bei trockener Lagerung. Je länger ein Fragment vor dem Reattachement in der Flüssigkeit gelagert wird, desto besser wird die Verbindung zum verbliebenen Zahn. Grundsätzlich eignen sich alle Lagerungsflüssigkeiten, die auch für avulierte Zähne verwendet werden. Hohe Verbindungsstärken findet man bei Eiweiß, 50% Dextroselösung, Milch, Speichel und physiologischer Kochsalzlösung (Sharmin, Thomas 2013, Shirani, Malekipour et al. 2011, Shirani, Sakhaei Manesh et al. 2013).

Trotz des großen Aufwandes in der Aufbewahrung und Wiederbefestigung oder Replantation sind diese Vorgehensweisen die Standardbehandlung bei Zahntraumata, da sie die besten und kostengünstigsten Ergebnisse liefern.

### 1.4.5.2. Lagerung für wissenschaftliche Zwecke

Sollen extrahierte Zähne weder replantiert noch transplantiert werden, müssen die Parodontalzellen nicht am Leben erhalten werden. Es gibt dann verschiedenste Möglichkeiten der Lagerung. Um die physikalischen Eigenschaften durch Austrocknung nicht zu verändern, empfiehlt es sich, Zähne feucht zu lagern. Ebenfalls ist es von Vorteil, die Zähne kühl zu lagern, um die dabei entstehende Geruchsbildung durch die bakterielle Zersetzung organischer Reste zumindest einzudämmen und so gering wie möglich zu halten.

Zähne, die für die weitere Verwendung archiviert werden, sollten systematisch zum Beispiel nach Art oder Farbe sortiert und geordnet werden. Dies erleichtert die Suche nach passenden Zähnen. Außerdem ist es wichtig, dass zu jedem Zahn ein Aufbereitungsprotokoll sowie der *Informed Consent* vorliegen (Nassif, Tieri et al. 2003).

#### 1.4.5.2.1. Lagerungsmöglichkeiten

Grundsätzlich muss die Auswahl des Lagerungsmediums immer in Anhängigkeit des Zieles beziehungsweise der Forschungsfrage erfolgen. Je nach verwendetem Medium sind verschiedene Effekte zu bedenken. Der häufigste ist eine Demineralisation der Hartgewebe durch Säureätzung. Um dem vorzubeugen, sollte die Flüssigkeit einen pH-Wert von ca. 7 aufweisen.

- Hanks balanced salt solution

Nicht nur durch Säuren können mineralisierte Zahnhartgewebe gelöst werden. Dies tritt grundsätzlich immer auf, wenn Zähne und andere Stoffe in Flüssigkeiten gelagert werden, die wenige oder keine dieser Mineralien enthalten. Habelitz et al. konnten in einer Studie zeigen, dass die Demineralisation von Zahnschmelz und Dentin gering gehalten werden kann, wenn die Zähne in „Hanks balanced salt solution“, einer gesättigten Lösung aus KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , NaCl, Glucose,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$  und  $\text{MgCl}_2$  aufbewahrt werden (Habelitz, Marshall et al. 2002). Dieser Effekt ist aus der Chemie als „Eigenioneneffekt“ bekannt und besagt, dass jede Verbindung schlechter löslich ist in einer wässrigen Lösung, die schon einen Teil ebendieser Verbindung enthält.

- physiologische Kochsalzlösung

Es kann durch osmotische Effekte auch zu einer Verschiebung des Gehalts an intrazellulärer Flüssigkeit kommen. Um dies zu vermeiden kann physiologische Kochsalzlösung verwendet werden. Auch zum Wiederbefeuchten von Fragmenten eignet es sich gut (Sharmin, Thomas 2013).

- Leitungswasser

Die gewählte Lagerungsflüssigkeit sollte steril und ohne jede Verunreinigung sein. Leitungswasser sollte nicht benutzt werden, da es in den meisten Fällen weder pH-neutral, noch steril ist.

- entionisiertes, destilliertes Wasser

Manche Autoren verwenden aus Gründen der Einfachheit entionisiertes, destilliertes Wasser als universelles Lagerungsmedium (Sharmin, Thomas 2013). Es ist keimfrei und ohne Verunreinigungen, aber es demineralisiert die darin gelagerten Zähne, da es keine Mineralien mehr enthält (Habelitz, Marshall et al. 2002).

- RNAlater™

Die zuvor genannten Lagerungsflüssigkeiten eignen sich zwar um die chemischen Eigenschaften der gelagerten Zähne zu erhalten, allerdings enthalten auch Zähne noch RNA und DNA sowie Proteine. Während DNA vergleichsweise stabil und länger nachweisbar ist, selbst wenn Gewebeproben nicht speziell gelagert werden, beginnt die RNA schon nach wenigen Augenblicken zu zerfallen. Bisher wurde noch nicht weiter untersucht, ob dies einen Einfluss auf die chemischen oder physikalischen Eigenschaften der extrahierten Zähne hat. Um etwaigen Veränderungen vorzubeugen empfiehlt es sich trotzdem für die Lagerung ein Medium zu verwenden, das den Zustand unmittelbar nach der Extraktion fixiert.

Aus der Molekularbiologie und vor allem aus der Genforschung sind solche Flüssigkeiten bereits

bekannt. Sie werden standardmäßig verwendet um die RNA in Gewebeproben so zu erhalten, wie sie zum Zeitpunkt der Gewinnung war. Ein Beispiel für solch eine Flüssigkeit ist RNA*later*<sup>™</sup>. Hierbei handelt es sich um eine für Menschen nicht toxische Lagerungsflüssigkeit für Gewebeproben. In diesem Medium bleiben frische Proben bei Raumtemperatur (25°C) für eine Woche ohne Veränderung stabil, bei 4°C sind sie für einen Monat lagerbar und bei -20°C für unbegrenzte Zeit. RNA*later*<sup>™</sup> diffundiert in kürzester Zeit durch das Gewebe und fixiert sowohl die RNA im Zellinneren, als auch alle Proteine, sofern die Proben nicht dicker als 0,5cm sind. Überschreitet die Schichtdicke diesen Wert, garantiert der Hersteller nicht mehr dafür, dass die Lösung im Innersten der Probe wirkt. Die Probe muss sofort nach der Gewinnung in einer ausreichende Menge RNA*later*<sup>™</sup> eingelegt werden. Sie muss immer von allen Seiten mit Flüssigkeit bedeckt sein (Life Technologies Corporation 2010). Da es sich bei RNA*later*<sup>™</sup> um ein käufliches Produkt der Firma Ambion handelt, ist die genaue Zusammensetzung nicht bekannt. Allerdings gibt es Rezepte für Flüssigkeiten mit den gleichen Eigenschaften. Meist handelt es sich dabei um eine Lösung aus Ammoniumsulfat, EDTA und Natriumcitrat in Wasser (Human Genome Project 2012).

- Tieffrieren

Zähne können auch gefroren gelagert werden, in diesem Falle wird kein weiteres Medium benötigt. Diese Art der Lagerung hat keine nachteiligen Auswirkungen auf die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Zähne (Francescut, Zimmerli et al. 2006).

#### 1.4.6. Weiterverarbeitung der archivierten Zähne

Wie bereits erwähnt, werden die extrahierten und aufbereiteten Zähne für Forschungszwecke, zur Ausbildung von Studenten und im klinischen Bereich verwendet.

Im Rahmen von wissenschaftlichen Studien ist es in manchen Fällen praktischer, keine ganzen Zähne, sondern nur kleine Plättchen zu verwenden. Erstens werden dann weniger Zähne benötigt und zweitens lässt der Versuchsaufbau manchmal keine größeren Zahnteile zu. Im Folgenden wird die Herstellung und Verwendung derartiger Plättchen kurz beschrieben.

##### 1.4.6.1. Zahnplättchen

Die Gewinnung von Dentinplättchen aus menschlichen Zähnen stößt auf einige Herausforderungen. Manche Autoren verwenden in ihren Versuchen Tierzähne, da diese einfacher zu beschaffen, größer und damit ergiebiger sind als humane Zähne und in ihren Eigenschaften stark menschlichen Zähnen ähneln (Lopes, Yan et al. 2012).

Um mögliche Einflüsse durch die tierische Herkunft der Plättchen ausschließen zu können, werden in vielen wissenschaftlichen Studien sehr wohl humane Zahnplättchen verwendet. Die größte Herausforderung bei der Herstellung von Dentinplättchen aus menschlichen Zähnen ist die Verfügbarkeit ausreichend großer Zähne, sowie die Einverständniserklärung der PatientInnen. Diese sollte vor der Extraktion vorliegen und Erklärungen zu den Versuchen und geplanten Studien beinhalten. Außerdem muss gesichert sein, dass die Extraktion aus medizinisch indizierten Gründen erfolgt.

Die Herstellung von Schmelz- oder Dentinplättchen aus extrahierten menschlichen oder tierischen Zähnen zu Forschungszwecken kann auf unterschiedliche Arten erfolgen. In vielen Fällen wird hierzu eine langsame Diamantsäge mit Wasserkühlung verwendet (Rocha, de Andrade et al. 2012, Lee, Seol et al. 2010).

Die so gewonnenen Plättchen werden sowohl für *in vivo* als auch *in vitro* Studien verwendet, da künstliche Materialien wie Keramiken oder Kunststoffe die natürlichen Eigenschaften echter Zähne nicht so genau imitieren können. Die gewonnenen Zahnplättchen (entweder Dentin oder Schmelz) werden auch verwendet um *in vivo* Biofilm zu sammeln (Al-Ahmad, Maier et al. 2010).

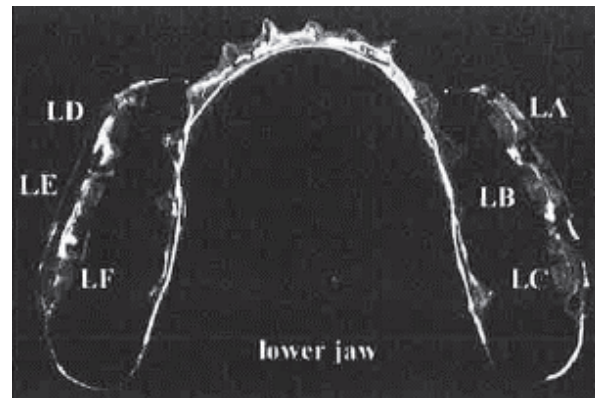
Für solche Versuche bietet sich der Gebrauch von echten Zahnplättchen an, da hiermit möglichst naturidentische Voraussetzungen gegeben sind und man davon ausgehen kann, dass die Ergebnisse der Realität zumindest stark ähneln. Dazu werden kleine Dentinplättchen entweder über Schienensysteme oder direkt an den Zähnen der ProbandInnen befestigt und je nach Studiendesign einige Tage mit oder ohne Mundhygiene im Mund belassen.

Werden Schienen als Trägersysteme verwendet, so sind dies meist thermoplastische vakuumgeformte Tiefziehfolien, die am Modell angepasst werden. Dabei können alle Zähne eingeschlossen werden. Es können auch die Okklusalfächen ausgespart werden um den Tragekomfort zu erhöhen (Abbildung 10) (Auschill, Hellwig et al. 2004). In der Regel werden diese einfachen Schienen gut vertragen, sie sind günstig und schnell in der Herstellung. Man kann sie für den Oberkiefer oder für den Unterkiefer anfertigen.

Al-Ahmad et al. ließen die Probanden eine Schiene mit je 8 Plättchen aus Rinderschmelz für acht Tage tragen um zu testen, ob *Enterococci* aus dem Essen sich in den normalen Biofilm integrieren können. In ihrer Studie durften die Probanden ganz normale Mundhygiene betreiben (Abbildung 11) (Al-Ahmad, Maier et al. 2010).

In einer anderen Studie aus dem Jahre 1997, die sich ebenfalls mit dem Plaquewachstum auf Zahnplättchen beschäftigt, durften die Probanden während der zwei Wochen, in denen sie die

Zahnplättchen tragen, nicht Zähne putzen. Außerdem wurden in dieser Studie die Plättchen direkt auf die Bukkalflächen der Zähne 23, 24, 25 und 26 geklebt (Zee, Samaranayake et al. 1997).



**Abbildung 10:** Unterkieferschiene mit freien Okklusalfächchen (Auschill, Hellwig et al. 2004)



**Abbildung 11:** Oberkieferschiene mit Rinderschmelzplättchen (=BES) an den Bukkalseiten der Zähne (Al-Ahmad, Maier et al. 2010)

Extrahierte menschliche Zähne finden oft Verwendung in der Wissenschaft. Sie werden benutzt um neueste Materialien der Dentalindustrie zu testen und um Techniken der Zahnbehandlung immer weiter zu verbessern. Auch in der Biofilmforschung werden Zähne verwendet. In den meisten Arbeiten werden jedoch nur Zahnplättchen benutzt, deren Herstellung oft nur sehr rudimentär beschrieben wird.

Es gibt auch keine Hinweise wie viele Zähne für die Herstellung einer gewissen Zahl von Plättchen benötigt werden. Aus diesen Gründen versuchten wir ein systematisches Prozedere für die Gewinnung humaner Dentin-Schmelz-Plättchen zu entwickeln.

## **2. Fragestellung und Zielsetzung**

### **2.1. Zielsetzung**

Ziel der vorliegenden Studie war es, eine effektive, ethische und einfache Methodik für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen zu entwickeln.

Für die Planung zukünftiger Studien sollte weiter erfasst werden, wie viele Schmelz-Dentin-Plättchen sich aus einem Zahn herstellen lassen und welche Zähne sich am besten dafür eignen.

### **2.2. Fragestellung**

Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Gewinnung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten Zähnen und a) dem Zahntyp und b) dem Ausmaß der Zahnzerstörung?

### **2.3. Nullhypothese**

H0: Es besteht kein Zusammenhang zwischen der Gewinnung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten Zähnen und a) dem Zahntyp und b) dem Ausmaß der Zahnzerstörung.

### **2.4. Alternativhypothese**

H1: Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Gewinnung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten Zähnen und a) dem Zahntyp und b) dem Ausmaß der Zahnzerstörung.

### **2.5. Sekundäre Fragestellung**

- a) Wieviele Zähne benötigt man für die Gewinnung einer bestimmten Anzahl von Plättchen?
  
- b) Welche Zähne eignen sich besonders gut für die Gewinnung humaner Dentin-Schmelz-Plättchen?

## 3. Material und Methoden

### 3.1. Literaturrecherche

Die Literaturrecherche wurde durchgeführt in PubMed, Suchbegriffe waren:

- dentin
- enamel
- hard tissue
- slabs, plates
- dentin slices
- human
- storage
- teeth, tooth
- cutting, cutted

Über die Referenzliste der gefundenen und für geeignet befundenen Arbeiten wurde weitere Literatur gesucht.

Der allgemeine Teil der Einleitung wurde mit Informationen aus aktuellen Lehrbüchern erarbeitet.

### 3.2. Sammlung der Zähne

Die Sammlung der extrahierten Zähne erfolgte an der Zahnklinik Graz in der oralchirurgischen Ambulanz und im septischen OP.

Zielgröße der Sammlung waren 80 Zähne bei einer Sammeldauer von maximal 6 Wochen:

- 10 Molaren Oberkiefer
- 10 Molaren Unterkiefer
- 10 Weisheitszähne Oberkiefer
- 10 Weisheitszähne Unterkiefer
- 10 Prämolaren Oberkiefer
- 10 Prämolaren Unterkiefer
- 10 Frontzähne Oberkiefer
- 10 Frontzähne Unterkiefer

**Einschlusskriterien** für die Sammlung waren:

- Natürliche Zähne
- Mindestens 50% der Zahnkrone sind erhalten

**Ausschlusskriterien** waren:

- Wurzelreste
- tief zerstörte Kronen (> 50%)
- Überkronung oder prothetische Versorgung des Zahnes

Gesammelt wurden die Zähne von 21 PatientInnen über einen Zeitraum von 6 Wochen, beginnend mit Anfang Juni bis Mitte Juli 2014. War eine der oben angeführten Gruppen vollständig, so wurden nur noch für die verbleibenden Gruppen Zähne gesammelt. Nach 6 Wochen wurde die Sammlung entsprechend dem Studienprotokoll beendet. Die Sammlung bestand am Ende aus insgesamt 67 Zähnen, zu Beginn angestrebt wurden gesamt 80 Zähne.

Zur rechtlichen Absicherung wurde ein zweiseitiger schriftlicher *Informed Consent*, also eine allgemeine Information und Einverständniserklärung, verwendet (Abbildung 12 und Abbildung 13, eine größere Abbildung findet sich im Anhang). Die PatientInnen wurden im Rahmen des Aufklärungsgesprächs über die Zahnsammlung und die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aufgeklärt. Anschließend konnten sie selbst entscheiden, ob ihre extrahierten Zähne zur Verfügung stellen. Die Einwilligung wurde schriftlich eingeholt (Abbildung 13). Auf die weitere Behandlung hatte beides keinen Einfluss.

Das Vorgehen wurde von der Ethikkommission der medizinischen Universität Graz genehmigt (EK 26-357 ex 13/14).



### Allgemeine Information:

Die bei Ihnen vorgesehene Behandlung beinhaltet das Ziehen eines oder mehrerer Zähne. Diese gezogenen Zähne gelten als medizinischer Abfall, können jedoch mit Ihrem Einverständnis für Lehre und Forschung genutzt werden.

Frisch gezogene Zähne werden derzeit für die Herstellung von kleinen Schmelz-Dentin Plättchen für wissenschaftliche Untersuchungen gesammelt. Solche Plättchen eignen sich für die Laboruntersuchung von Zahnbelag. Obwohl solche Zahnplättchen in der Forschung oftmals zum Einsatz kommen, gibt es keine Information darüber wie solche Plättchen gesammelt und hergestellt werden.

Ihre gezogenen Zähne sollen für eine Studie verwendet werden, in der die Herstellung solcher Plättchen untersucht wird. Der Titel der Studie lautet: „Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten menschlichen Zähnen“. In ihr soll eine effektive, ethische und einfache Methodik für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen entwickelt werden.

Weiter soll erfasst werden, wie viele Schmelz-Dentin Plättchen sich aus einem Zahn herstellen lassen und welche Zähne sich am besten dafür eignen.

### Einverständniserklärung:

Name der/des StudienteilnehmerIn in Druckbuchstaben .....

Geb.Datum: ..... Code: .....

Ich erkläre mich hiermit bereit meine extrahierten Zähne für die Studie „Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten menschlichen Zähnen“ zur Verfügung zu stellen. Die Zähne werden aus medizinischen Gründen nach erfolgter Aufklärung gezogen. Mir entstehen durch

**Abbildung 12:** Seite 1 des Informed Consent mit allgemeiner Information



die Einwilligung weder Vor- noch Nachteile, die meine Behandlung betreffen. Die Einwilligung erfolgt freiwillig und ohne Zwang sowie nachdem alle meine Fragen zu der betreffenden Studie beantwortet wurden.

Ich bin von Frau DDr.in med. Elisabeth Santigli meiner behandelnden Studienärztin ausführlich und verständlich über Bedeutung und Tragweite der Studie aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Informationstext zur Einwilligungserklärung, die insgesamt 2 Seiten umfasst gelesen.

Aufgetretene Fragen wurden mir von der Studienärztin verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten aufgezeichnet und statistisch ausgewertet werden.

Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes in der geltenden Fassung werden eingehalten.

Eine Kopie dieser Information für StudienteilnehmerInnen und der Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt bei der Studienärztin.

- Ich stimme hiermit zu, dass meine gezogenen Zähne für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden.
- Ich stimme nicht zu.

.....  
(Datum und Unterschrift StudienteilnehmerIn)

.....  
(Datum, Name und Unterschrift der Studienärztin)

**Abbildung 13:** Seite 2 des Informed Consent mit Einwilligung der PatientInnen

Die Zähne wurden in verschließbaren Bechern aus Plastik gesammelt. In diesen Gefäßen befanden sich 80mL physiologische Kochsalzlösung (Meditrade – Infusionslösung, 500 ml), um eine Austrocknung zu verhindern (Abbildung 14). Einmal pro Woche wurden die gesammelten Zähne abgeholt und der Aufbereitung zugeführt.



**Abbildung 14:** Sammelgefäß mit Zähnen

### 3.3. Aufbereitung der Zähne

Alle Zähne, die bis zu diesem Zeitpunkt gesammelt wurden, wurden wöchentlich nach folgendem Protokoll aufbereitet. Zuerst wurden alle Zähne mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis keine sichtbaren Verunreinigungen mehr in der Flüssigkeit waren. Anschließend wurden sie sterilisiert. Dies geschah mittels Autoklaven im Prionenprogramm (134°C, 20 Minuten bei 2,1 Bar). Dazu wurden die Zähne gepoolt in ein Becherglas gegeben, welches mit 0,9% NaCl aufgefüllt wurde (Abbildung 15). Um einer Austrocknung der Zähne während der Sterilisation vorzubeugen, wurde dieses Becherglas fest mit Alufolie verschlossen (Abbildung 16).

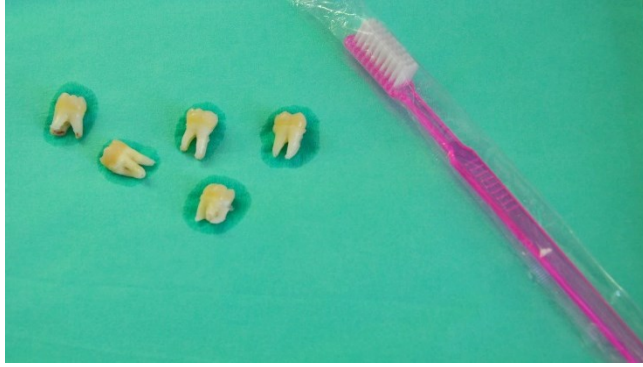


**Abbildung 15:** Gesammelte Zähne im Becherglas mit 0,9% NaCl

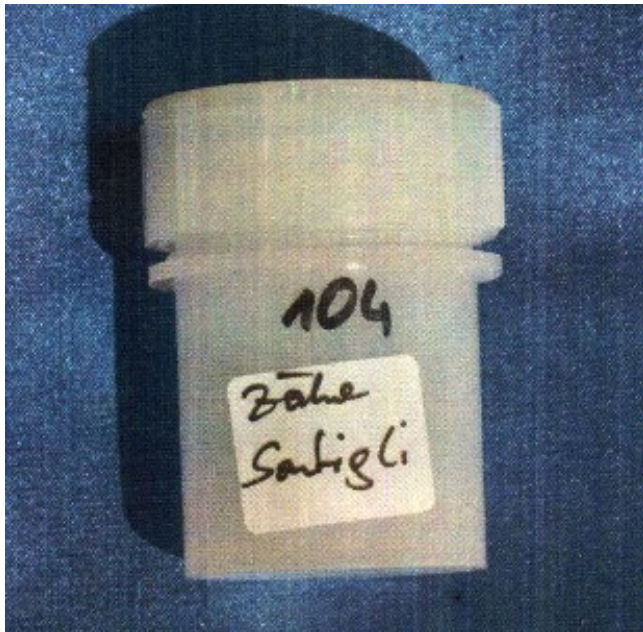


**Abbildung 16:** Becherglas mit gesammelten Zähnen, verschlossen mit Alufolie und bereit zum Sterilisieren

Nach der Sterilisation wurden alle Zähne von organischen Resten wie Wurzelhaut, Zahnstein oder Knochensequestern befreit. Dazu wurden eine Zahnbürste und eine Pinzette verwendet. Anschließend wurden sie bei Bedarf nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung ab gespült, fotografiert (Nikon Kamera mit Makro Objektiv 105mm), einzeln verpackt und beschriftet, sowie mit einer fortlaufenden Nummer versehen. Diese Päckchen wurden dann für die Herstellung der Dentin-Schmelz Plättchen an das *Karl Donath Labor für Hartgewebs- und Biomaterialforschung der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Wien* gesendet (Abbildung 18).



**Abbildung 17:** Reinigung der Zähne mit Zahnbürste



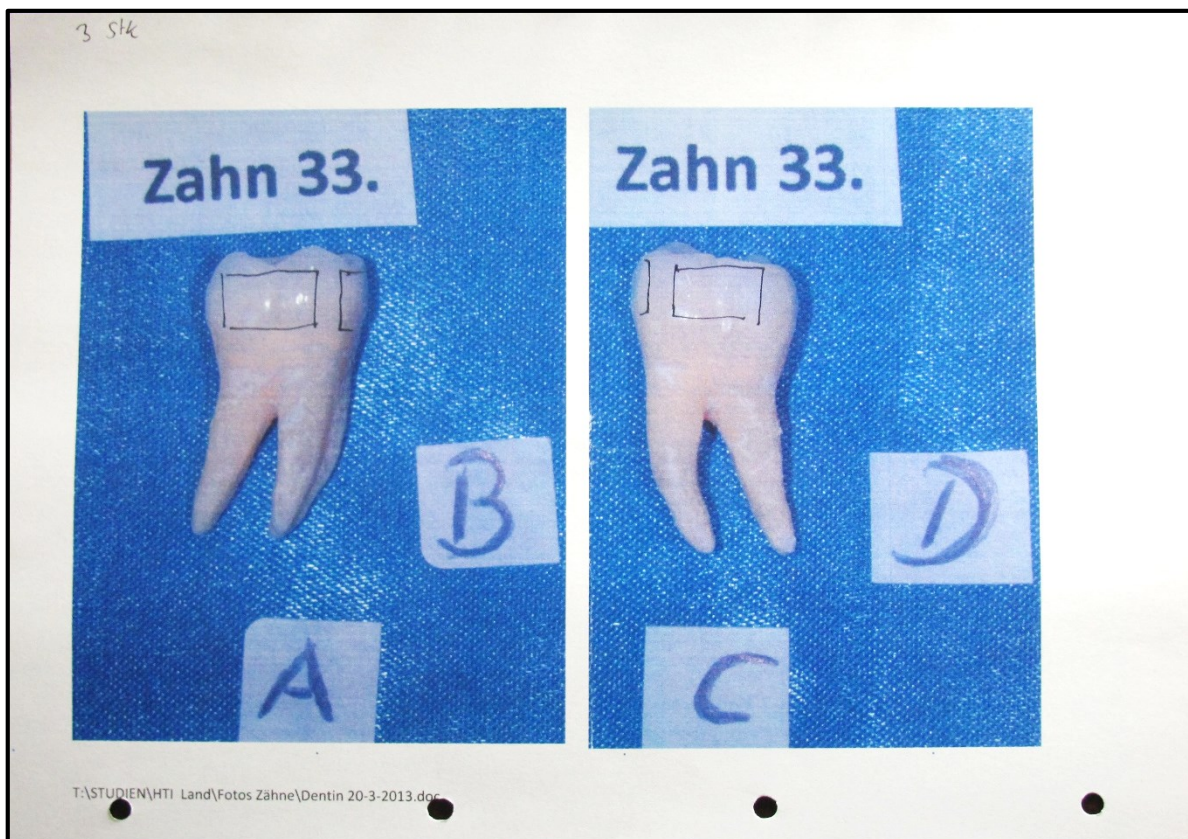
**Abbildung 18:** Einzeln verpackter und beschrifteter Zahn, versandbereit

### 3.4. Organisation der Zahnsammlung

Alle Zähne wurden einzeln fotografiert und nummeriert. Ziel war es herauszufinden, welche Zähne sich am besten zur Gewinnung von Dentin-Schmelz Plättchen eigneten. Die Fotos wurden ausgedruckt gemeinsam mit den einzeln verpackten Zähnen nach Wien an das *Karl Donath Labor für Hartgewebs- und Biomaterialforschung* versandt.

Bei den Fotos war es wichtig, dass jeder Zahn von allen Seiten dargestellt wurde, um genau einzeichnen zu können, welche Flächen Plättchen ergaben und welche nicht. Die Fotos mit diesen Notizen kamen gemeinsam mit den fertigen Plättchen zurück nach Graz (Abbildung 19).

Sowohl die einzeln verpackten Zähne als auch die Plättchen wurden in steriler Kochsalzlösung gelagert um eine Austrocknung zu verhindern.

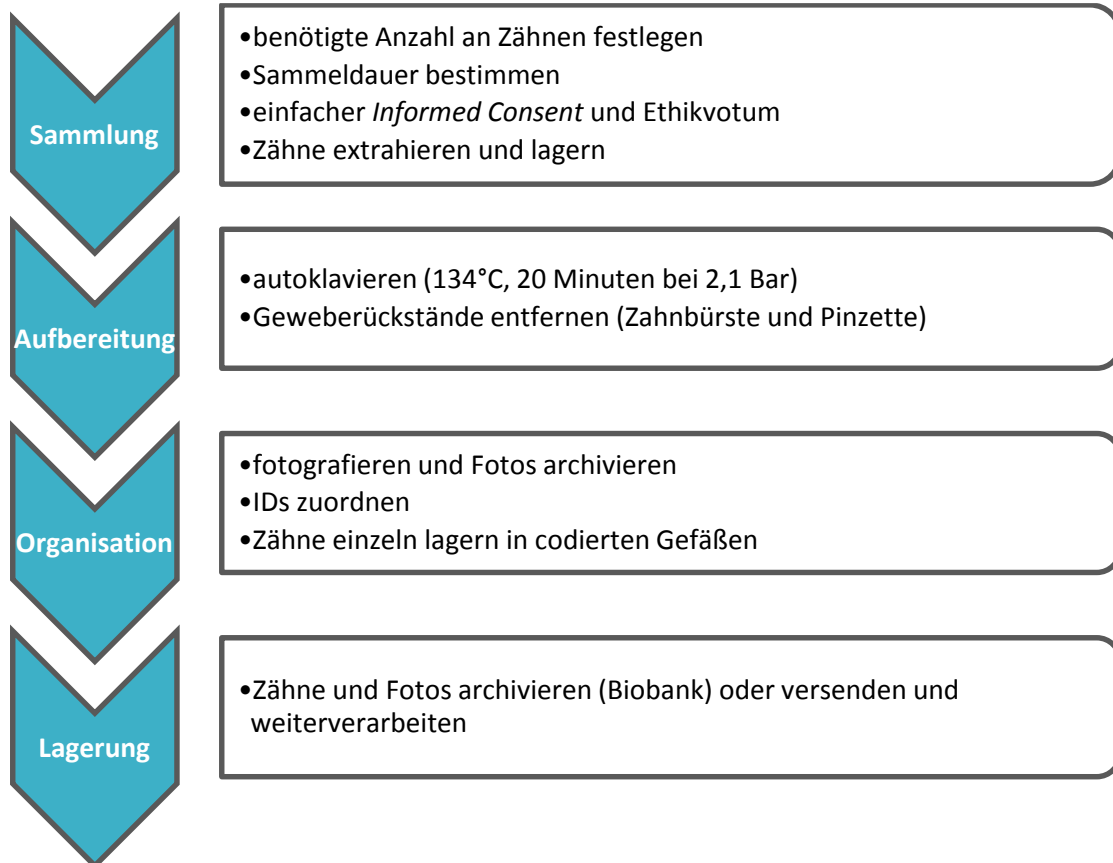


**Abbildung 19:** Fotos von Zahn 33 mit Notizen

Um die statistische Auswertung zu erleichtern, wurden die Anzahl der Plättchen pro Zahn und die Art des Zahnes (Frontzahn, Molar, etc.) sowie der Zustand (Füllungen, Karies, o.Ä.) und Notizen gemeinsam mit der Nummer des Zahnes in eine Excel-Tabelle eingetragen.

## Protokoll für Zahnsammlung und Aufbereitung der Zähne

Das folgende Protokoll fasst die zuvor detailliert beschriebenen Schritte der Zahnsammlung und Aufbereitung kurz zusammen:



### 3.5. Gewinnung der Plättchen

Die Plättchen wurden extern am *Karl Donath Labor für Hartgewebs- und Biomaterialforschung der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Wien* hergestellt.

Die Herstellung dieser Plättchen, bestehend einseitig aus Schmelz und auf der anderen Seite aus Dentin, erfolgte nach folgendem Schema.

#### Auswählen der geeignetsten Flächen

Zuerst wurden bei dem jeweils zu bearbeitendem Zahn die am besten zur Plättchengewinnung geeigneten Flächen ausgewählt. Dies waren meist die größten mit der geringsten Krümmung und ohne Füllungen, Karies oder sonstige Defekte. Bereits am Zahn wurden diese Flächen mit einer Tellerschleifmaschine (Buehler MetaServ® 250 Grinder-Polisher, Abbildung 21) unter Wasserkühlung plan geschliffen, um zu kontrollieren, ob die Fläche tatsächlich ausreichte um ein Schmelz-Dentin Plättchen mit der Größe 2 x 4 x 6mm herzustellen. War dies der Fall, so konnte die geschliffene Fläche mit einer wassergekühlten Bandsäge (EXAKT –Diamantbandsäge, Abbildung 20) abgetrennt und anschließend weiter bearbeitet werden.

#### Vermessen und einzeichnen der Plättchengröße

Die gewonnene Zahnscheibe wurde mit einer Schiebelehre vermessen und die zukünftigen Plättchengrenzen mit wasserfestem Stift gekennzeichnet.

#### Zuschleifen der Plättchen

Mithilfe einer Tellerschleifmaschine (Buehler MetaServ® 250 Grinder-Polisher; Abbildung 21) und Silikon-Nassschleifpapier (1200 Grit; entspricht einer Korngröße von ca. 15µm) unter Wasserkühlung wurde die Zahnschicht soweit reduziert, dass die Markierung noch sichtbar war. Die Größe des entstehenden Zahnplättchens wurde zwischendurch immer wieder mit der Schiebelehre kontrolliert. Die anschließende Politur erfolgte ebenfalls unter Wasserkühlung mit der Tellerschleifmaschine, allerdings mit Nass-Schleifpapier aus Silikon und einer Korngröße von nur noch ca. 6µm (4000 Grit). Die abschließende Größenkontrolle erfolgte wieder mit der Schiebelehre.



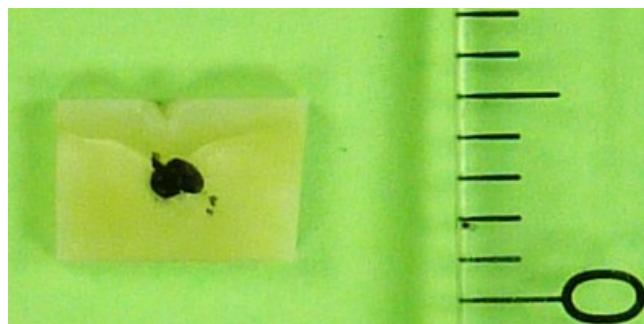
**Abbildung 20:** EXAKT –Diamantbandsäge (EXAKT Advanced Technologies GmbH 2014)



**Abbildung 21:** Buehler MetaServ® 250 Grinder-Polisher, Tellerschleifmaschine mit Wasserkühlung (Buehler 2014)

### Markierung der Dentinseite

Die Dentinseite wurde mit einem Punkt (wasserfester Stift) markiert, um später Verwechslungen auszuschließen. Der Rand der Dentinseite besteht teilweise aus Schmelz, dies war bedingt durch die Krümmung der Zahnoberfläche (Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Dentinseite eines fertigen Plättchens, an der oberen Kante ist deutlich der Schmelzrand sichtbar

## Protokoll für die Plättchenherstellung

Entsprechend dem Protokoll für die Zahnsammlung zeigt folgendes Protokoll überblicksmäßig die Schritte der Plättchenherstellung. Im Anhang findet sich ein Protokoll, das alle Schritte von der Zahnsammlung bis zur Fertigstellung der Plättchen zeigt.



### 3.6. Datensammlung

#### 3.6.1. Qualitative Daten

Die gesammelten Fotos der Zähne wurden von Beginn der Sammlung an nach Zahntypen geordnet in einer Tabelle gesammelt. Jeder Zahn wurde somit einer Gruppe zugeordnet (Abbildung 23). So konnte kontrolliert werden, ob von einem Zahntyp bereits genügend Zähne gesammelt wurden.

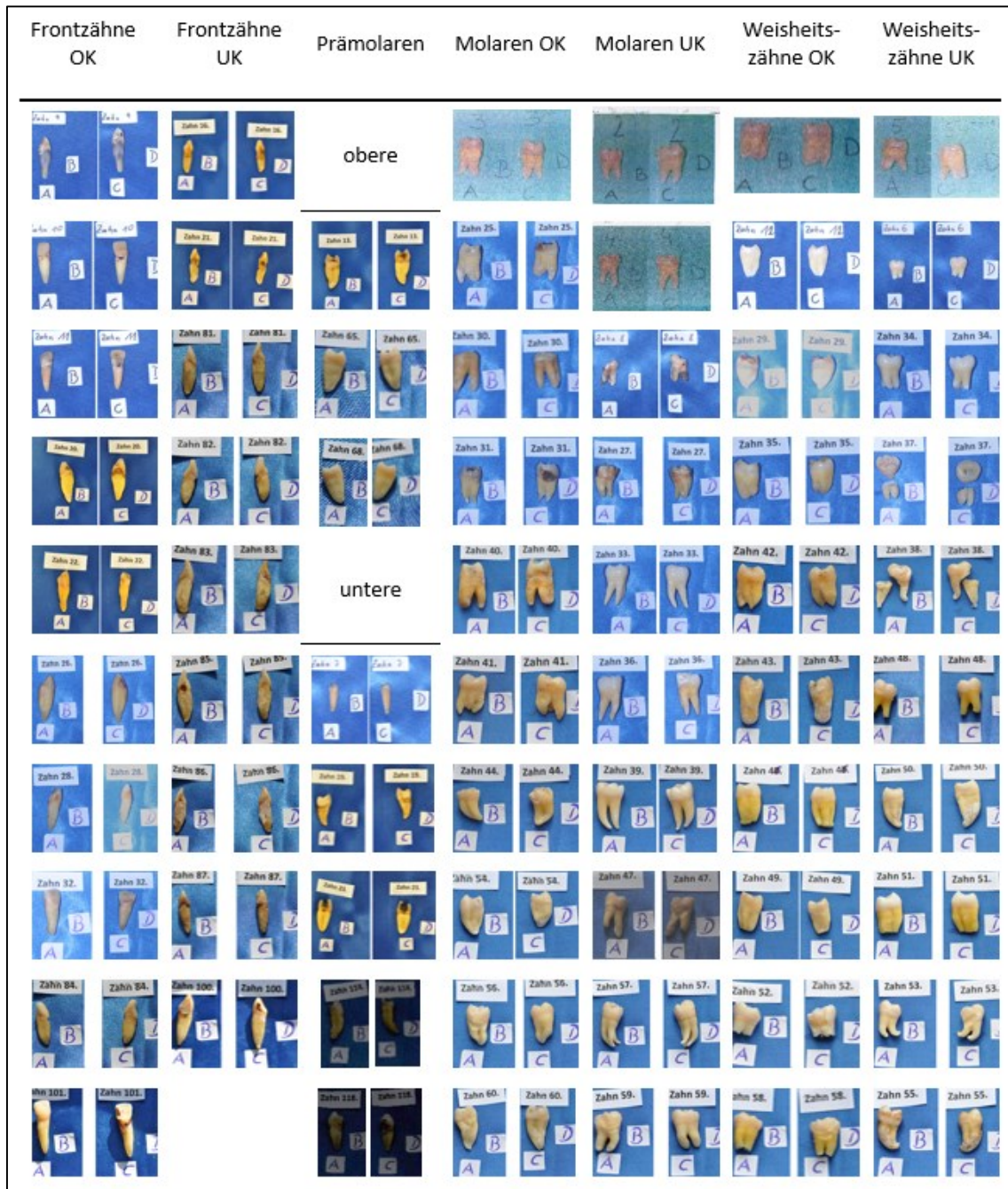


Abbildung 23: Fotoarchiv der Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp sortiert

Zur einfacheren Auswertung wurde jedem Zahn eine einzigartige dreistellige Identifikationsnummer (=ID) zugewiesen.

### 3.6.2. Quantitative Daten

Die Fotos wurden nach der Sammlung ausgewertet. Folgende Kenngrößen wurden in einer Datenmatrix erfasst (Excel 2013): Zahntypus, Anzahl der intakten Zahnflächen und Anzahl der hergestellten Schmelz-Dentin Plättchen (Abbildung 24).

ID	Typ	dt	Plättchen (n)	intakte Flächen (n)
110	1	OK1	1	1
109	1	OK1	1	0
108	1	OK1	1	0
104	1	OK1	1	2
107	1	OK1	0	2
106	1	OK1	0	2
105	1	OK1	0	2
102	1	OK1	0	2
103	1	OK1	0	2
101	1	OK1	0	1
201	2	UK1	0	2
203	2	UK1	0	2
204	2	UK1	0	2
205	2	UK1	0	2
206	2	UK1	0	1
209	2	UK1	0	1
207	2	UK1	0	1
208	2	UK1	0	1
202	2	UK1	0	1
302	3a	OK45	0	3
303	3a	OK45	0	4
301	3a	OK45	0	4
308	3b	UK45	0	1
305	3b	UK45	0	2
307	3b	UK45	0	2
306	3b	UK45	0	3
304	3b	UK45	0	3

**Abbildung 24:** Auszug aus der Datenmatrix zur Erfassung quantitativer Kenngrößen aus der Zahnsammlung (n=67)

## 3.7. Datenauswertung

### 3.7.1. Qualitative Datenauswertung

Nach Abschluss der Sammlung wurden die Zahnfotos absteigend sortiert nach dem Anteil der noch erhaltenen Zahnschubstanz. Die unversehrtesten und größten Zähne einer jeden Gruppe stehen deher ganz oben in der Tabelle.

Anschließend wurden die Plättchenzahlen sowie die Anzahl der intakten Flächen pro Zahn farbcodiert in Tabellen aufbereitet.

### 3.7.2. Quantitative Datenauswertung

Die Auswertung erfolgte mittels deskriptiver Statistik in Excel 2013.

Die gesammelten Daten aus der Datenmatrix konnten direkt in eine eigene Tabelle eingefügt werden und Summe, Mittelwert und Verhältnis von Plättchen zu Zähnen sowie Plättchen zu intakten Zahnflächen berechnet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Zahnsammlung

Die Zahnsammlung umfasste am Ende insgesamt 67 Zähne, 33 aus dem Oberkiefer und 34 aus dem Unterkiefer (Tabelle 1). Sowohl die Gruppe der unteren Frontzähne wie auch beide Prämolarengruppen konnten wegen zeitlicher Limitierung laut Studienprotokoll nicht vervollständigt werden, da zu wenige Zähne dieser Typen im Zeitraum der Sammlung gezogen wurden. Aufgrund ihrer geringen Gesamtzahl wurden die erste und zweite Prämolarengruppe zu einer Gruppe zusammengefasst. Alle weiteren Gruppen (obere Schneidezähne, Molaren und Weisheitszähne) beinhalteten je 10 Zähne.

	<b>Oberkiefer</b>	<b>Unterkiefer</b>
	<b>(n)</b>	<b>(n)</b>
Frontzähne	0	0
Prämolaren	3	5
Molaren	10	10
Weisheitszähne	10	10
<b>Summe</b>	<b>23</b>	<b>25</b>

**Tabelle 1:** Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp und Lokalisation

### 4.2. Zahnsammlung und Plättchengewinnung

Die Plättchen wurden unter den gesammelten Zahnbildern in einer Tabelle notiert. Dazu wurde unter den Zähnen die Anzahl der Plättchen vermerkt. So ist auf einen Blick ersichtlich, welche Gruppe und welcher Zahn den größten Ertrag an Schmelz-Dentin-Plättchen lieferten.

Einige Plättchen brachen bei der Herstellung, sie wurden in der Tabelle mit Klammern eingetragen und anschließend mitgezählt (Abbildung 25).

Frontzähne OK	Frontzähne UK	Prämolaren	Molaren OK	Molaren UK	Weisheits- zähne OK	Weisheits- zähne UK
110 	201 		406 	505 	602 	710 
109 	203 	302 	409 	509 	607 	709 
108 	204 	303 	405 	507 	606 	707 
104 	205 	301 	407 	506 	608 	703 
107 	206 		410 	510 	609 	708 
106 	209 	308 	408 	508 	601 	706 
105 	207 	305 	402 	501 	605 	702 
102 	208 	307 	401 	502 	604 	705 
103 	202 	306 	404 	504 	603 	701 
101 		304 	403 	503 	610 	704 
<b>Gesamtsumme Plättchen:</b>						
<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>16</b>	<b>12</b>	<b>16</b>

**Abbildung 25:** Zahnsammlung (n=67) nach Zahntyp und Ausmaß der vorhandenen Zahnschubstanz ergänzt durch Schema der Plättchenausbeute in Rangordnung  
 ■ Plättchen intakt; (■) Plättchen bei der Verarbeitung gebrochen



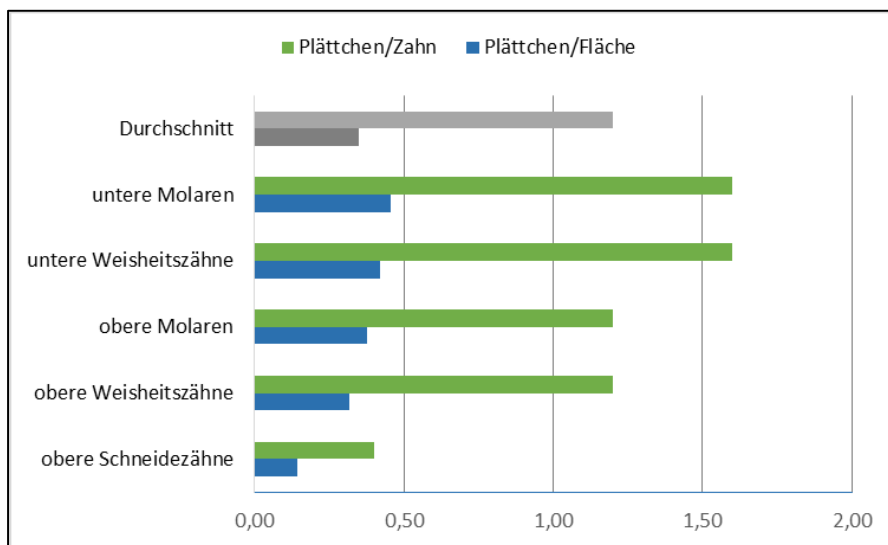
### 4.3. Ausbeute von Schmelz-Dentin Plättchen

Tabelle 2 zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse: die Anzahl der Zähne pro Zahntyp, die Anzahl der intakten Flächen und Plättchen je Zahn, die Ausbeute je Zahntyp (Plättchen je Fläche und Plättchen pro Zahn) und den Durchschnitt über alle und über die geeignetsten Zähne.

Zahntyp (n)	Rang	intakte Zahnflächen			Schmelz-Dentin Plättchen			Ausbeute		
		n	Mittel	(range)	n	Mittel	(range)	Plättchen/ Fläche	Plättchen/ Zahn	
geeignet	untere Molaren (10)	1	35	3,5	(1-4)	16	1,60	(1-3)	0,5	16,0
	untere Weisheitszähne (10)	2	38	3,8	(3-4)	16	1,60	(0-2)	0,4	8,0
	obere Molaren (10)	3	32	3,2	(0-4)	12	1,20	(0-3)	0,4	4,0
	obere Weisheitszähne (10)	4	38	3,8	(3-4)	12	1,20	(0-3)	0,3	3,0
	obere Schneidezähne (10)	5	28	2,8	(0-4)	4	0,40	(0-1)	0,1	0,8
<b>Gesamt (geeignete Zähne)</b>			<b>171</b>	<b>3,4</b>	<b>(0-4)</b>	<b>60</b>	<b>1,2</b>	<b>(0-1)</b>	<b>0,35</b>	<b>1,2</b>
nicht geeignet	untere Prämolaren (5)	6	11	2,2	(1-3)	0	0,00	(0-0)	0,0	0,0
	obere Prämolaren (3)	6	11	3,7	(3-4)	0	0,00	(0-0)	0,0	0,0
	untere Schneidezähne (9)	6	13	1,4	(2-4)	0	0,00	(0-0)	0,0	0,0
<b>Gesamt</b>			<b>206</b>	<b>3,1</b>	<b>(0-4)</b>	<b>60</b>	<b>0,75</b>	<b>(0-3)</b>	<b>0,29</b>	<b>0,9</b>

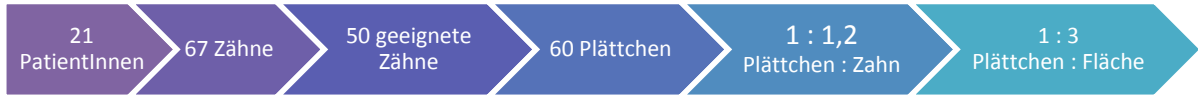
**Tabelle 2:** Zahnsammlung (n=67) nach Schmelz-Dentin Plättchenausbeute

Die Plättchenanzahl je Zahntyp beziehungsweise intakter Zahnfläche kann auch in einem Diagramm dargestellt werden (Abbildung 28). Bei einer Plättchengröße von 2 x 4 x 6mm lieferten größere Zähne wie Molaren die meisten Plättchen, auch Oberkiefer-Frontzähne waren geeignet. Prämolaren (Oberkiefer und Unterkiefer) und die unteren Frontzähne wurden in dem Diagramm nicht berücksichtigt, da sie keine Plättchenherstellung ermöglichten.



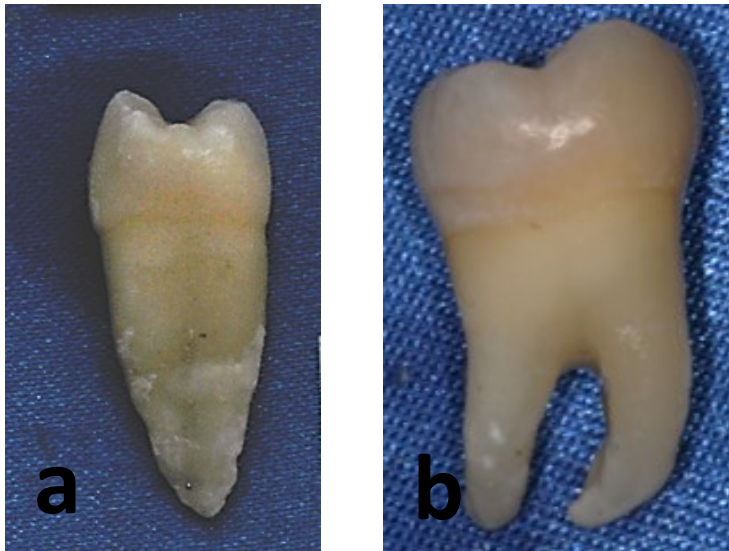
**Abbildung 28:** Zahnsammlung (n=50) und Schmelz-Dentin Plättchenausbeute von geeigneten Zähnen:  
a) Plättchen / Zahnverhältnis und b) Plättchen / Flächenverhältnis

Die wichtigsten Kenngrößen sowie die Plättchenausbeute pro Zahn und pro Fläche ist in Abbildung 29 nochmals zusammengefasst:



**Abbildung 29:** Schmelz-Dentin Plättchen Ausbeute

Abbildung 30 zeigt einen sehr gut geeigneten Zahn (Molar) und einen sehr schlecht geeigneten Zahn (Prämolar).



**Abbildung 30:** Zahnauswahl für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen a: Prämolar – nicht geeignet; b: Molar – sehr gut geeignet

## 5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit ist es gelungen eine effektive Methode zur Herstellung von humanen Schmelz-Dentin Plättchen zu entwickeln. Die Sammlung von menschlichen Zähnen und die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen bergen mehrere Herausforderungen:

### **Ethik und Zahnsammlung:**

Laut Gesetz ist ein *Informed Consent* nicht erforderlich aber empfehlenswert. Die Aufklärung sollte so einfach wie möglich gehalten werden um den klinischen Ablauf nicht zu stören.

Alternative Quellen für Zähne wären die Institute für Anatomie und Pathologie. Ebenso besteht die Möglichkeit tierische Zähne zu verwenden. In diesen Fällen kann auf einen *Informed Consent* verzichtet werden. Die Sammlung selbst würde dadurch vereinfacht und beschleunigt.

### **Plättchenausbeute:**

Die Verhältnisse Plättchen zu Zahn  $\sim 1:1$  und Plättchen zu Fläche =  $1:3$  ergeben sich, wenn auch ungeeignete Zähne gesammelt werden.

Bei geeigneten Zähnen kann von einer Ausbeute von etwas mehr als einem Plättchen mit einer Größe von  $2 \times 4 \times 6$  mm pro Zahn ausgegangen werden (Plättchen zu Zahn =  $1:1,2$ ).

Deshalb empfiehlt es sich, die gleiche Menge, die an Plättchen benötigt wird, an Zähnen zu sammeln. So bleiben einige Plättchen übrig, wodurch ein möglicher Verlust durch die Bearbeitung abgefangen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit ist es gelungen in 6 Wochen genau 60 Schmelz-Dentin Plättchen herzustellen aus 67 Zähnen, wovon 50 Zähne geeignet waren.

### **Eignung der Zähne:**

Je nach geplanter Größe der Plättchen kann auf die Sammlung und Aufbereitung einzelner Zähne aufgrund ihrer Größe oder Form im Vorhinein verzichtet werden. Bei  $2 \times 4 \times 6$  mm nominativer Plättchengröße sind dies die Unterkiefer-Frontzähne sowie die seitlichen Oberkiefer-Inzisivi, da sie zu klein sind. In einer weiteren Untersuchung sollte die Sammlung von Schneidezähnen die zentralen oberen Frontzähne beschränkt werden.

Selbst kariesfreie Prämolaren eignen sich für Plättchen mit dieser Größe ebenfalls schlecht, da sie eine zu starke Krümmung aufweisen.

**Sammeldauer:**

Abhängig davon, wie viele menschliche Zähne benötigt werden, muss auch der Zeitraum für die Sammlung entsprechend großzügig gewählt werden. So wird gewährleistet, dass am Ende ausreichend Zähne zur Weiterverarbeitung zur Verfügung stehen.

Es bietet die Möglichkeit nicht oder nur schlecht geeignete Zähne von vorne herein auszuschließen. So kann der Arbeitsaufwand bei der Dokumentation und Herstellung der Plättchen verringert werden.

Im Fall der vorliegenden Arbeit war die anberaumte Zeitspanne von 6 Wochen nicht ausreichend um wie geplant 80 Zähne zu sammeln. Es fehlen sowohl Unterkiefer-Frontzähne als auch Prämolaren in der Sammlung. Die Sammlung erfolgte nur an der Ambulanz und im OP der Zahnklinik der Universität Graz, werden von mehreren Ambulanzen Zähne gesammelt kann die Sammeldauer verkürzt werden.

Mit dem neu gewonnenen Wissen darüber, welche Zähne besonders ergiebig sind, ist die Menge von 60 Plättchen in der vorliegenden Arbeit zwar als Minimum anzusehen, eine Sammeldauer von einer Woche je 10 benötigter Plättchen könnte aber als Richtwert dienen.

Alternativ kann schon vor Beginn der wissenschaftlichen Forschung eine Zahnbank nach brasilianischen Vorbild angelegt werden. Hierzu werden immer dann Zähne gesammelt, wenn sie extrahiert werden. Dies geschieht unabhängig von Forschungsfragen. Aus der Sammlung kann später eine beliebige Anzahl an Zähnen für Forschungszwecke verwendet werden.

**Lagerungsflüssigkeit:**

Eine weitere Hürde stellt die Wahl der Lagerungsflüssigkeit dar. Einerseits soll sie die Zähne möglichst gut konservieren, darf die Gewebe aber auch nicht verändern. Welche Lagerungsflüssigkeit gewählt wird, hängt von der Fragestellung ab. In der vorliegenden Arbeit wurde physiologische Kochsalzlösung gewählt, da die Mineralienkonzentration in etwa der von menschlichem Speichel entspricht. Eine Austrocknung soll unbedingt vermieden werden um die Zähne nicht spröde werden zu lassen. Sharmin et al. erzielten bei ihren Versuchen gute Ergebnisse mit diesem Medium (Sharmin, Thomas 2013). Unbeachtet blieben Parameter wie pH-Wert, mögliche Enzymaktivitäten sowie Bakterienwachstum im Sammelgefäß.

Um eine Infektion durch die gesammelten Zähne auszuschließen, wurden sie vor der weiteren Bearbeitung direkt nach der Extraktion bei 20 Minuten bei 134°C und 2,1 Bar autoklaviert. Durch diese Behandlung kann weiteres Keimwachstum ausgeschlossen werden (Kumar, Sequeira et al. 2005).

Die weitere Bearbeitung der Zähne erfolgte unter Wasserkühlung, hierfür wurde normales Leitungswasser verwendet. Da die Bearbeitungszeit (einige Stunden) im Verhältnis zur Dauer der Lagerung der extrahierten Zähne (mehrere Tage) kurz ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Zahnschmelze nicht verändert wird. Die fertigen Plättchen wurden wieder in 0,9% NaCl gelagert um eine mögliche negative Wirkung des Wassers auf die Zahnhartgewebe zu unterbrechen. Andere Autoren, die mit Zahnplättchen arbeiten verwenden bei der Herstellung ebenfalls normales Wasser zur Kühlung (Lee, Seol et al. 2010, Rocha, de Andrade et al. 2012, Amaechi, Higham et al. 1998).

#### **Biobank und Bedarfssammlung:**

Wenn an einer Universität oder einer ähnlichen Einrichtung für die Zukunft weitere Studien geplant sind, für die extrahierte menschliche Zähne benötigt werden, so kann eine Zahnbank von Nutzen sein. Gegenüber einer Bedarfssammlung hat diese den Vorteil, dass zu jedem Zeitpunkt eine ausreichende Menge an Zähnen zur Verfügung steht. Es kann also jederzeit mit dem Forschungsprojekt begonnen werden. Allerdings müssen die personellen Ressourcen und die Räumlichkeiten vorhanden sein. Es muss auch gewährleistet sein, dass die Zähne ordentlich aufbereitet und archiviert werden. Ein weiterer Nachteil gegenüber einer Bedarfssammlung ist, dass die Lagerungsflüssigkeit nicht mehr dem Forschungszweck angepasst werden kann.

#### **Hartgewebslabor:**

Für eine Arbeit wie die vorliegende ist es wichtig, dass die Zusammenarbeit mit einem Hartgewebslabor reibungslos funktioniert. Ohne ein solches Labor ist es nicht möglich, Zähne in dieser Weise zu bearbeiten. Ein/e erfahrene/r Histologe/in ist nötig, um die Plättchen so exakt herzustellen. Dabei steht er/sie vor einigen Herausforderungen. Eine Schwierigkeit bei der Herstellung der Zahnplättchen ist, dass sämtliche Schneide- und Schleifmaschinen auf rechte Winkel und plane Flächen ausgelegt sind. Diese Eigenschaften weisen menschliche Zähne nicht auf. Erschwerend kommt hinzu, dass kein Zahn einem anderen gleicht. Zusätzlich sind die Plättchen sehr klein und deshalb schwer zu bearbeiten. Gerade bei der Politur kommt es vor, dass fast fertiggestellte Plättchen brechen.

Der in der vorliegenden Arbeit mitwirkende Histologe perfektionierte den Arbeitsablauf rasch, die benötigte Arbeitszeit pro Plättchen konnte beträchtlich reduziert werden auf 1-2 Stunden.

## 6. Konklusion

Die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen ist mit großem organisatorischem Aufwand verbunden. Zur Aufklärung der PatientInnen empfiehlt sich ein möglichst einfacher *Informed Consent*, Beispiele sind der wissenschaftlichen Literatur zu entnehmen (der *Informed Consent* der Universitätsklinik von São Paulo findet sich im Anhang).

Bei der Sammlung von Zähnen und der Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen mit einer Größe von 2 x 4 x 6mm ist mit einem Plättchen pro Zahn zu rechnen.

Um diese Ausbeute zu verbessern ist es möglich, sich auf die Sammlung von Molaren zu beschränken. Aufgrund ihrer Größe liefern sie mehr Plättchen. Je unversehrter und größer die Zähne sind desto mehr Plättchen können hergestellt werden.

Es gibt also einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Plättchengewinnung und dem Ausmaß der vorhandenen Zahnschubstanz. Prämolaren und untere Schneidezähne eignen sich jedoch auch dann nicht, wenn sie karies- und füllungsrei sind.

Insgesamt können 10 Plättchen pro Woche erwartet werden, wenn die Sammlung an der Ambulanz der Grazer Zahnklinik erfolgt.

In einer weiteren Arbeit kann nun untersucht werden, wie viele Plättchen in je einer Woche hergestellt werden können, wenn nur sehr gut oder gut geeignete Zähne gesammelt werden. Um das Vorgehen für Sammlung und der Zähne und Gewinnung der Plättchen für die Zukunft zu vereinfachen, befindet sich im Anhang eine Checkliste.

Die gewonnenen Erkenntnisse dienen der Biofilmborschung. Diese entwickelt sich immer weiter weg von klinischer Forschung an oralpathogenen Keimen und immer mehr Richtung Grundlagenforschung. Die Schmelz-Dentin Plättchen dienen hierbei als Trägerplättchen für nativen, humanen Biofilm.

## 7. Referenzen

AL-AHMAD, A., MAIER, J., FOLLO, M., SPITZMULLER, B., WITTMER, A., HELLWIG, E., HUBNER, J. and JONAS, D., 2010. Food-borne enterococci integrate into oral biofilm: an in vivo study. *Journal of endodontics*, **36**(11), pp. 1812-1819.

ALANI, A., AUSTIN, R. and DJEMAL, S., 2012. Contemporary management of tooth replacement in the traumatized dentition. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, **28**(3), pp. 183-192.

AMAECHE, B.T., HIGHAM, S.M. and EDGAR, W.M., 1998. Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation. *Caries research*, **32**(6), pp. 441-446.

ANDERSSON, L., ANDREASEN, J.O., DAY, P., HEITHERSAY, G., TROPE, M., DIANGELIS, A.J., KENNY, D.J., SIGURDSSON, A., BOURGUIGNON, C., FLORES, M.T., HICKS, M.L., LENZI, A.R., MALMGREN, B., MOULE, A.J., TSUKIBOSHI, M. and INTERNATIONAL ASSOCIATION OF DENTAL TRAUMATOLOGY, 2012. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, **28**(2), pp. 88-96.

AUSCHILL, T.M., HELLWIG, E., SCULEAN, A., HEIN, N. and ARWEILER, N.B., 2004. Impact of the intraoral location on the rate of biofilm growth. *Clinical oral investigations*, **8**(2), pp. 97-101.

BIOETHIKKOMMISSION BEIM BUNDESKANZLERAMT, 9. Mai 2007. *Biobanken für die medizinische Forschung*. Wien: <http://www.bka.gv.at/DocView.axd?CobId=23690>;

BROMAGE, T., 2014-last update, Human Enamel. Available: <http://hdl.handle.net/2451/23319> [20.1.2014, 2014].

BRUZELL, E.M., JOHNSEN, B., AALERUD, T.N., DAHL, J.E. and CHRISTENSEN, T., 2009. In vitro efficacy and risk for adverse effects of light-assisted tooth bleaching. *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, **8**(3), pp. 377-385.

BUEHLER, A.I.C., 2014-last update, MetaServ® 250. Available:

<http://www.buehler.com/equipment/grindingpolishing-equipment/tabletop-grinder-polishers/metaserve-250-grinder-polisher> [09.April, 2014].

BUNDESGESETZ ÜBER KRANKENANSTALTEN UND KURANSTALTEN (KAKUG), 2014. *Bundesgesetz über Krankenanstalten und Kuranstalten (KAKuG), § 8f.*

DEMARCO, F.F., DE MOURA, F.R., TARQUINIO, S.B. and LIMA, F.G., 2008. Reattachment using a fragment from an extracted tooth to treat complicated coronal fracture. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, **24**(2), pp. 257-261.

DOMINICI, J.T., ELEAZER, P.D., CLARK, S.J., STAAT, R.H. and SCHEETZ, J.P., 2001.

Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *Journal of dental education*, **65**(11), pp. 1278-1280.

EXAKT ADVANCED TECHNOLOGIES GMBH, 2014-last update, EXAKT Diamantbandsäge. Available:

<http://www.exakt.de/Cutting-Grinding.10+M52087573ab0.0.html> [9. April, 2014].

FRANCESCUT, P., ZIMMERLI, B. and LUSSI, A., 2006. Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two-year study. *Caries research*, **40**(3), pp. 181-185.

GÄNGLER, P. and ET AL., 2010. *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie*. 3. Auflage edn. Georg Thieme Verlag.

HABELITZ, S., MARSHALL, G.W., Jr, BALOOCH, M. and MARSHALL, S.J., 2002. Nanoindentation and storage of teeth. *Journal of Biomechanics*, **35**(7), pp. 995-998.

HAGER & WERKEN GMBH & CO. KG, 2014-last update, miradent Zahnrettungsbox SOS Zahnbox.

Available: [http://www.miradent.de/produkte/miradent\\_sos\\_zahnbox.php](http://www.miradent.de/produkte/miradent_sos_zahnbox.php).

HASHEMIPOUR, M.A., MOZAFARINIA, R., MIRZADEH, A., ARAMON, M. and NASSAB, S.A., 2013.

Knowledge, attitudes, and performance of dental students in relation to sterilization/disinfection methods of extracted human teeth. *Dental research journal*, **10**(4), pp. 482-488.

HELLWIG, E., KLIMEK, J. and ATTIN, T., 2010. *Einführung in die Zahnerhaltung*. 5. Auflage edn.

Deutscher Zahnärzte Verlag.

HUMAN GENOME PROJECT, 2012-last update, RNA Later. Available:

<http://itghumangenomprojectwallpapars.blogspot.co.at/2012/12/rna-later.html> [01.2014, 2014].

INITIATIVE DER ZAHNÄRZTE IN DER STADT AACHEN, 2012-last update, Zahnrettungsbox. Available: <http://www.zahnrettungsbox.de/zahnrettungsbox.html> [25.2.2014, 2014].

KUMAR, M., SEQUEIRA, P.S., PETER, S. and BHAT, G.K., 2005. Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian journal of medical microbiology*, **23**(4), pp. 256-258.

LEE, J.Y., SEOL, Y.J., PARK, J.R., PARK, Y.J. and CHUNG, C.P., 2010. Biological effects of a root conditioning agent for dentin surface modification in vitro. *Journal of periodontal & implant science*, **40**(6), pp. 257-264.

LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION, 2010-last update, RNAlater Handbook. Available: <http://www.lifetechnologies.com/content/dam/LifeTech/migration/en/filelibrary/nucleic-acid-purification-analysis/pdfs.par.18819.file.dat/bp-7020.pdf> [1.2014, 2014].

LOPES, M.B., YAN, Z., CONSANI, S., GONINI JUNIOR, A., ALEIXO, A. and MCCABE, J.F., 2012. Evaluation of the coefficient of thermal expansion of human and bovine dentin by thermomechanical analysis. *Brazilian dental journal*, **23**(1), pp. 3-7.

MEDICE ARZNEIMITTEL PÜTTER GMBH & CO. KG, 2014-last update, Dentosafe®. Available: <https://www.medice.de/produkte/zahnrettung/dentosafe>.

NASSIF, A.C., TIERI, F., DA ANA, P.A., BOTTA, S.B. and IMPARATO, J.C., 2003. Structuralization of a human teeth bank. *Pesquisa odontologica brasileira = Brazilian oral research*, **17 Suppl 1**, pp. 70-74.

OECD, 2009. *OECD Guidelines on Human Biobanks and Genetic Research Databases*.

ORGANTRANSPLANTATIONSGESETZ, 2012. *Organtransplantationsgesetz - OTPG, §6, §8*.

PAWLIKOWSKI, J., SAK, J. and MARCZEWSKI, K., 2011. Biobank research and ethics: the problem of informed consent in Polish biobanks. *Archives of medical science: AMS*, **7**(5), pp. 896-901.

RIEGMAN, P.H. and VAN VEEN, E.B., 2011. Biobanking residual tissues. *Human genetics*, **130**(3), pp. 357-368.

ROCHA, A.W., DE ANDRADE, C.D., LEITUNE, V.C., COLLARES, F.M., SAMUEL, S.M., GRECCA, F.S., DE FIGUEIREDO, J.A. and DOS SANTOS, R.B., 2012. Influence of endodontic irrigants on resin sealer bond strength to radicular dentin. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, **53**(1), pp. 1-7.

SCHROEDER, H.E., 2000. *Orale Strukturbiologie*. 5. Auflage edn. Georg Thieme Verlag.

SHARMIN, D.D. and THOMAS, E., 2013. Evaluation of the effect of storage medium on fragment reattachment. *Dental traumatology: official publication of International Association for Dental Traumatology*, **29**(2), pp. 99-102.

SHIRANI, F., MALEKIPOUR, M.R., TAHRIRIAN, D. and SAKHAEI MANESH, V., 2011. Effect of storage environment on the bond strength of reattachment of crown fragments to fractured teeth. *Journal of conservative dentistry: JCD*, **14**(3), pp. 269-272.

SHIRANI, F., SAKHAEI MANESH, V. and MALEKIPOUR, M.R., 2013. Preservation of coronal tooth fragments prior to reattachment. *Australian Dental Journal*, **58**(3), pp. 321-325.

STAATSGRUNDGESETZ, 1867. *Staatsgrundgesetz, Art. 17*.

THE FACULTY OF DENTISTRY, UNIVERSITY OF OSLO, 2014-last update, Dentinal tubules. Available: <http://www.odont.uio.no/studier/ressurser/histologi/snitt/snitt.php?katalog=052> [20.1.2014, 2014].

VDW, 2014-last update, Endo Übungszubehör. Available: <http://www.vdw-dental.com/produkte/endo-zubehoer-allgemein/uebungszubehoer.html> [01.2014, 2014].

ZEE, K.Y., SAMARANAYAKE, L.P. and ATTSTROM, R., 1997. Scanning electron microscopy of microbial colonization of 'rapid' and 'slow' dental-plaque formers in vivo. *Archives of Oral Biology*, **42**(10-11), pp. 735-742.

## Anhang

### *Informed Consent* für Patienten der Universitätsklinik von São Paulo

Der nachstehende *Informed Consent* wurde aus dem Portugiesischen frei ins Deutsche übersetzt von Mikhael Iaronka Menezes.

Original *Informed Consent* der Universitätsklinik von São Paulo für Patienten (Nassif, Tieri et al. 2003):

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_,  
natural de \_\_\_\_\_, sexo \_\_\_\_\_,  
cor \_\_\_\_\_, residente à \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_, telefone \_\_\_\_\_, portador  
do RG \_\_\_\_\_, aceito doar o(s) dente(s)

\_\_\_\_\_ para o BANCO DE DENTES PERMANENTES HUMANOS DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – SP, ciente de que o(s) mesmo(s) será(ão) utilizado(s) pelos alunos desta Faculdade para estudo e treinamento pré-clínico. Estou consciente de que este(s) dente(s) foi(ram) extraído(s) por indicação terapêutica para a melhoria da minha saúde, como documentado em meu prontuário. Caso este(s) dente(s) seja(m) utilizado(s) em pesquisa, esta deverá ter sido previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP-SP, sendo preservada a minha identidade na divulgação.

São Paulo, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do doador ou responsável

Cirurgião-dentista: \_\_\_\_\_  
CRO : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Testemunha

## FREIE EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

Ich, \_\_\_\_\_,  
geboren in \_\_\_\_\_, Geschlecht \_\_\_\_\_,  
Hautfarbe \_\_\_\_\_, wohnhaft in \_\_\_\_\_,  
Telefon \_\_\_\_\_, Personalausweis Nummer \_\_\_\_\_,  
möchte die folgenden Zähne \_\_\_\_\_ an DIE  
ZAHNBANK FÜR BLEIBENDE MENSCHLICHE ZÄHNE DER UNIVERSITÄT VON SÃO PAULO spenden. Mir  
ist bewusst, dass die Zähne zur vorklinischen Ausbildung von Studierenden der Universität und für  
Forschungszwecke verwendet werden. Es ist mir bewusst, dass die Zähne aus medizinischer  
Indikation für die Verbesserung meiner Gesundheit extrahiert wurden, wie in der Krankenakte  
dokumentiert wurde. Falls diese Zähne zu Forschungszwecken benutzen werden, soll dies von der  
Forschungsethikkommission der Universität genehmigt werden, meine Identität soll geschützt  
werden.

São Paulo, am \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Spenders oder Erziehungsberechtigten

verantwortlicher Zahnchirurg: \_\_\_\_\_ persönliche Nummer: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Chirurgen

\_\_\_\_\_  
Zeuge

## *Informed Consent* an der Medizinischen Universität Graz

Für die Sammlung von Zähnen zur Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen wurde folgender *Informed Consent* verwendet:

Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 12.  
Internet: <http://www.meduni-graz.at/zahnklinik>



Medizinische Universität Graz

Mag.DDr. Elisabeth SANTI GLI  
Senior Scientist, Abteilung für Kieferorthopädie  
Tel.: +43/316/385 83488

### Allgemeine Information:

Die bei Ihnen vorgesehene Behandlung beinhaltet das Ziehen eines oder mehrerer Zähne. Diese gezogenen Zähne gelten als medizinischer Abfall, können jedoch mit Ihrem Einverständnis für Lehre und Forschung genutzt werden.

Frisch gezogene Zähne werden derzeit für die Herstellung von kleinen Schmelz-Dentin Plättchen für wissenschaftliche Untersuchungen gesammelt. Solche Plättchen eignen sich für die Laboruntersuchung von Zahnbelag. Obwohl solche Zahnplättchen in der Forschung oftmals zum Einsatz kommen, gibt es keine Information darüber wie solche Plättchen gesammelt und hergestellt werden.

Ihre gezogenen Zähne sollen für eine Studie verwendet werden, in der die Herstellung solcher Plättchen untersucht wird. Der Titel der Studie lautet: „Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten menschlichen Zähnen“. In ihr soll eine effektive, ethische und einfache Methodik für die Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen entwickelt werden.

Weiter soll erfasst werden, wie viele Schmelz-Dentin Plättchen sich aus einem Zahn herstellen lassen und welche Zähne sich am besten dafür eignen.

### Einverständniserklärung:

Name der/des StudienteilnehmerIn in Druckbuchstaben .....

Geb.Datum: ..... Code: .....

Ich erkläre mich hiermit bereit meine extrahierten Zähne für die Studie „Herstellung von Schmelz-Dentin Plättchen aus extrahierten menschlichen Zähnen“ zur Verfügung zu stellen. Die Zähne werden aus medizinischen Gründen nach erfolgter Aufklärung gezogen. Mir entstehen durch



die Einwilligung weder Vor- noch Nachteile, die meine Behandlung betreffen. Die Einwilligung erfolgt freiwillig und ohne Zwang sowie nachdem alle meine Fragen zu der betreffenden Studie beantwortet wurden.

Ich bin von Frau DDr.in med. Elisabeth Santigli meiner behandelnden Studienärztin ausführlich und verständlich über Bedeutung und Tragweite der Studie aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Informationstext zur Einwilligungserklärung, die insgesamt 2 Seiten umfasst gelesen.

Aufgetretene Fragen wurden mir von der Studienärztin verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten aufgezeichnet und statistisch ausgewertet werden.

Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes in der geltenden Fassung werden eingehalten.

Eine Kopie dieser Information für StudienteilnehmerInnen und der Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt bei der Studienärztin.

- Ich stimme hiermit zu, dass meine gezogenen Zähne für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden.
- Ich stimme nicht zu.

.....  
(Datum und Unterschrift StudienteilnehmerIn)

.....  
(Datum, Name und Unterschrift der Studienärztin)

## Protokoll für Zahnsammlung, Aufbereitung und Plättchenherstellung

