

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE
DIREKTOR: PROF. DR. G. SCHMALZ

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**ENTWICKLUNG EINER IN-VITRO-METHODE ZUR PRÜFUNG
DER ANTIBAKTERIELLEN WIRKUNG VON
DESINFIZIATIONSMITTELN FÜR DIE
WURZELKANALBEHANDLUNG**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von Sandra Kandlbinder
aus Bernhardswald

2009

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE
DIREKTOR: PROF. DR. G. SCHMALZ

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**ENTWICKLUNG EINER IN-VITRO-METHODE ZUR PRÜFUNG
DER ANTIBAKTERIELLEN WIRKUNG VON
DESINFIZIATIONSMITTELN FÜR DIE
WURZELKANALBEHANDLUNG**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von Sandra Kandlbinder
aus Bernhardswald

2009

Dekan:

Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Gottfried Schmalz

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

Tag der mündlichen Prüfung:

07. September 2009

**Diese Arbeit widme ich in Liebe und Dankbarkeit
meiner Familie.**

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Literaturübersicht | 4 |
| 2.1 Dentin | 4 |
| 2.1.1 Zusammensetzung und Aufbau des Dentins | 4 |
| 2.1.2 Pulpa-Dentin-System und Dentintubuli | 6 |
| 2.1.3 Versuchsrelevante Besonderheiten in der Dentinstruktur | 8 |
| 2.2 Pulpitis und apikale Parodontitis | 10 |
| 2.2.1 Definition | 10 |
| 2.2.2 Ätiologie und Pathogenese | 10 |
| 2.2.3 Wurzelkanalbehandlung | 13 |
| 2.3 Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem | 19 |
| 2.3.1 Einteilung und Vorkommen | 19 |
| 2.3.2 Pathomechanismen | 21 |
| 2.3.3 Enterococcus faecalis | 24 |
| 2.4 Schmierschicht | 27 |
| 2.4.1 Entstehung und Definition der Schmierschicht im Wurzelkanal | 27 |
| 2.4.2 Eigenschaften und Funktion der Schmierschicht | 27 |
| 2.4.3 Entfernung der Schmierschicht | 28 |
| 2.5 Desinfektionsmittel | 32 |
| 2.5.1 Natriumhypochlorit (NaOCl) | 34 |
| 2.5.2 Chlorhexidindigluconat (CHX) | 36 |
| 2.5.3 Andere Desinfektionsmittel | 39 |
| 2.5.3.1 Kalziumhydroxid | 39 |
| 2.5.3.2 Chlorphenole | 40 |
| 2.5.3.3 Wasserstoffperoxid | 41 |
| 2.5.3.4 Jod- und Ammoniumverbindungen | 41 |
| 2.5.3.5 MTAD | 42 |
| 2.6 Experimentelle Modelle zur Überprüfung antibakterieller Eigenschaften in der Endodontie | 43 |
| 3. Fragestellung | 45 |
| 4. Material und Methode | 46 |
| 4.1 Material | 46 |
| 4.1.1 Rinderzähne | 46 |
| 4.1.2 Bakterienstamm | 46 |
| 4.1.3 Verwendete Materialien und Geräte | 47 |
| 4.2 Methode | 51 |
| 4.2.1 Vorversuche | 51 |
| 4.2.1.1 Anatomie der Rinderzähne | 51 |
| 4.2.1.2 Nährmedium und Infektionsmodus | 53 |
| 4.2.2 Hauptversuche | 55 |
| 4.2.2.1 Versuchsplanung | 55 |
| 4.2.2.2 Herstellung und Vorbereitung der Dentinproben | 56 |
| 4.2.2.3 Infektion und Inkubation der Wurzelsegmente | 57 |
| 4.2.2.4 Probenentnahme und Desinfektion | 58 |
| 4.2.2.5 Herstellung, Inkubation und Auszählung der Bakterienkulturen | 60 |
| 4.2.2.6 Statistische und graphische Auswertung | 61 |

| | |
|--|------------|
| 5. Ergebnisse | 63 |
| 5.1 Vorversuche | 63 |
| 5.1.1 Anatomie der Rinderzähne | 63 |
| 5.1.2 Nährmedium und Infektionsmodus | 68 |
| 5.2 Ergebnisse Hauptversuche | 73 |
| 5.2.1 Sterilitätskontrollen | 73 |
| 5.2.2 Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion | 73 |
| 5.2.3 Überlebensraten der Bakterien nach der Desinfektion | 78 |
| 6. Diskussion | 84 |
| 6.1 Material | 84 |
| 6.1.1 Rinderzähne | 84 |
| 6.1.2 Bakterienstamm | 85 |
| 6.1.3 Desinfektionsmittel | 87 |
| 6.2 Methode | 90 |
| 6.2.1 Vorbehandlung | 90 |
| 6.2.2 Versuchsaufbau | 91 |
| 6.2.3 Infektions- und Desinfektionsvorgang | 94 |
| 6.3 Ergebnisse | 98 |
| 7. Zusammenfassung | 104 |
| 8. Tabellarischer Anhang | 105 |
| 8.1 Vorversuche | 105 |
| 8.2 Hauptversuche | 109 |
| 9. Abkürzungsverzeichnis | 123 |
| 10. Literaturverzeichnis | 124 |
| 11. Tabellarischer Lebenslauf | 143 |
| 12. Danksagung | 144 |

1. Einleitung

Noch lange bevor sich Mitte des 19. Jahrhunderts Eduard Albrecht und sein Schüler Adolf Witzel mit den Krankheiten der Zahnpulpa sowie ihrer Pathologie und Therapie intensiv auseinandersetzten [172], galten die Zähne schon als hohes Gut, deren Besitz und Erhaltungswürdigkeit oberste Priorität besaß. Bereits zum Zeitpunkt der Entstehung der Bibel wurde das gewaltsame Ausschlagen eines Zahnes als schwere Körperverletzung betrachtet und rechtlich in demselben Gesetz wie Totschlag mit Schadensersatzansprüchen geahndet (Bücher Moses, Exodus Kapitel 21, Vers 18-27), was bis zum heutigen Tag auch im Zivilrecht (§823 Schadensersatzpflicht und §847 Schmerzensgeld, BGB) und im Strafgesetzbuch (§§223,226,229 Körperverletzung und §228 Einwilligung, StGB) fest verankert ist. Zur Zeit der französischen Revolution machte Pierre Fauchard „extrem kleine Würmer“ für Zahnschmerzen durch Karies verantwortlich. Die Weiterentwicklungen bezüglich der Endodontologie wurden zu dieser Zeit stark beeinflusst von den Erkenntnissen von Louis Pasteur (Frankreich), Joseph Lister (England) und Robert Koch (Deutschland), die allesamt eine ähnliche Keimtheorie aufstellten und die Ideen zur Verhütung von Infektionen vorantrieben. In der Mitte des 20. Jahrhunderts spaltete sich im Jahre 1963 in den USA die Endodontologie im Zuge der Anerkennung durch die *AMERICAN DENTAL ASSOCIATION* als eigenständiges Teilgebiet der Zahnheilkunde ab. Seinerzeit führend auf diesem Gebiet beschäftigten sich wissenschaftlichen Aufzeichnungen von 1894 und 1940 zufolge insbesondere Miller und Grossman intensiv mit der Reinigung von Wurzelkanälen unter Zuhilfenahme von Desinfektionsmitteln [10,126,131,137].

Seither liefert die Endodontologie, die sich mit der Zahnpulpa als spezialisierte Gewebestruktur sowie der Prävention, Diagnose und Therapie von Pulpaerkrankungen befasst, eine wichtige Basis für die Gesunderhaltung der Zähne. Auch im Rahmen der zahnmedizinischen Notfallversorgung nimmt die Endodontologie einen hohen praktischen Stellenwert ein, da die akute Abszessbildung als Folge einer Entzündung des Endodonts den häufigsten Grund für echte zahnmedizinische Notfälle darstellt. Das wissenschaftliche Interesse geht jedoch schon längst über die Erforschung der Anatomie, Histologie und Physiologie des Pulpa-Dentin-Systems als funktionelle Einheit hinaus. Inzwischen sind ätiologische, pathologische und epidemiologische Gesichtspunkte mehr und mehr in den Vordergrund getreten, um bei der Therapie in Zukunft auch neue Wege gehen zu können [2,47,57,69,72,95,102,114,116,145,151,152,157,160,174,175,181,183].

Die Möglichkeiten der Therapie beginnen dabei nicht erst bei der konventionellen Wurzelkanalbehandlung, sondern können bereits im Vorfeld präventiv gesteuert werden. Aber auch bei der Wurzelkanalbehandlung selbst treten noch Schwierigkeiten bezüglich der Keimfreiheit des Wurzelkanals nach der mechanischen Aufbereitung auf. Zwar kann die Keimbelastung durch konsequente Desinfektion mit geeigneten Mitteln auf ein Minimum beschränkt werden, jedoch gelingt es immer noch nicht, wiederaufflammende Infektionen gänzlich auszuschließen [96,109,110,145,155,174]. Neueste Forschungen beschäftigen sich daher sowohl mit der detaillierten Zusammensetzung des involvierten Keimpektrums sowie dessen Verteilung und Ausbreitung im Wurzelkanal, als auch zum Beispiel mit der ultraschall-gestützten oder photo-aktivierten Desinfektion von mechanisch nicht oder nur schwer erreichbaren Wurzelkanalabschnitten [16,84,108,188,193]. Mit der Entwicklung und dem Einsatz von OP-Mikroskopen, Mikroinstrumenten und Ultraschallgeräten ist in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts wieder ein wichtiger Fortschritt in der Wurzelkanalbehandlung gelungen. Diese Hilfsmittel ermöglichen dem Behandler in der zahnärztlichen Praxis eine bessere Übersicht im Wurzelkanal. Sie lassen eine leichtere Lokalisierung des Apex und ein genaueres Erkennen von anatomischen Strukturen wie Kanalverengungen, Seitenkanälchen und Mikrofrakturen oder Perforationen zu. Auf diese Weise kann gewebeschonender gearbeitet und eine exaktere Wurzelkanalfüllung erzielt werden als mit den bisherigen Methoden [78,199,200]. Parallel dazu werden vermehrt Untersuchungen zur Laseranwendung, vor allem des ER:YAG-Lasers, als Behandlungsalternative für die mechanische Wurzelkanalreinigung durchgeführt [67,112]. In jüngster Zeit sind außerdem Versuche gemacht worden, die die desinfizierende Wirkung von elektrochemisch-aktiviertem Wasser und Ozongas erforschen sollen [39,53,58,100], da die meisten der heute eingesetzten Desinfektionsmittel, wie zum Beispiel Natriumhypochlorit, Wasserstoffperoxid und Chlorphenol-Lösungen, in therapeutisch sicher wirksamen Konzentrationen nicht immer toxikologisch unbedenklich sind [3,4,6,59,133,155,166,198]. Zudem weisen beliebte Wurzelkanalbehandlungspräparate wie Kalziumhydroxid desöfteren eine Wirkungslücke für einige Keime auf, die nach endodontischen Misserfolgen vorrangig aus dem Wurzelkanal isoliert werden können, wozu insbesondere der *Enterococcus faecalis* zu zählen ist [12,42,73].

Im Rahmen dieser Arbeit soll nun auf der Basis des Modells von Orstavik und Haapasalo ein Versuchsaufbau entwickelt werden, der die praxisnahe Testung von derzeit routinemäßig eingesetzten Desinfektionsmitteln in vitro verfeinert. Durch solche In-vitro-Versuche können die neu auf den Markt gelangenden Produkte der Pharmaindustrie auf ihre Wirksamkeit und

praktische Anwendbarkeit hin bereits vorab untersucht werden, ohne dass dabei eventuell auftretende gesundheitliche Risiken für die Patienten eingegangen werden müssen.

2. Literaturübersicht

2.1 Dentin

Da sich Rinderzähne und menschliche Zähne in ihrer Morphologie und den chemischen, physikalischen und physiologischen Eigenschaften sehr ähnlich sind, sollen an dieser Stelle ihre anatomischen Strukturen gemeinsam dargestellt werden.

2.1.1 Zusammensetzung und Aufbau des Dentins

Das Dentin, welches volumenmäßig den größten Anteil des Zahnes ausmacht, bildet das Gerüst der Zähne. Im Inneren befindet sich ein komplexes Kammersystem, das die Pulpa mit ihren Nerven und Gefäßen beherbergt. Zum Schutz vor schädlichen äußeren Einwirkungen, die thermischer, chemischer und mechanischer Natur sein können, wird das relativ weiche Dentin mit einer Druckfestigkeit von 60-70 Brinell-Härte (entspricht 600-700 N/mm²) im Bereich der Zahnkrone von Schmelz und im Bereich der Zahnwurzel von Zement überzogen [61,130]. Aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung aus 70 Gew.% anorganischen Bestandteilen, 20 Gew.% organischen Bestandteilen und 10 Gew.% Wasser wird das Dentin nicht selten auch mit dem Knochenskelett verglichen. So besteht das hauptsächlich vorkommende Hydroxylapatit zu knapp 75 % seiner Masse aus Kalziumphosphat. Hinzu kommen in charakteristischer Verteilung Spurenelemente wie Fluor, Eisen, Zink und Kupfer. Die circa 20 nm langen, 18-20 nm breiten und 3,5 nm dicken Hydroxylapatitkristalle sind unterschiedlich dicht gepackt in eine organische Matrix eingelagert. Diese enthält zu 92 % Kollagenfasern, überwiegend vom Typ I, und zu 8 % amorphe Grundsubstanz, welche sich wiederum aus spezifischen, zum Beispiel Osteocalcin, und unspezifischen Matrixproteinen, wie verschiedene Glycosaminoglykane, Glykoproteine und Proteoglykane, zusammensetzt [49,59,60].

Bei genauerer Betrachtung kann man von der Schmelz- beziehungsweise Zement-Dentin-Grenze zur Dentin-Pulpa-Grenze mehrere verschiedene Schichtungen des Dentins erkennen, die sich aufgrund ihres Mineralisationsgrades und der Ausrichtung der Kollagenfasern

voneinander unterscheiden lassen. Die äußerste 80-100 µm dicke Schicht bildet demnach das Manteldentin, auch Korff-Dentin genannt. Dieses ist weniger stark mineralisiert als das zirkumpulpare Dentin und seine Kollagenfaserbündel sind radiär in einem S-förmigen Verlauf parallel zu den Odontoblastenfortsätzen ausgerichtet. Im Wurzelbereich erscheint seine Struktur körnerartig, weshalb diese dort auch als Tomes'sche Körnerschicht bezeichnet wird. Das Manteldentin dient der Schmelz- beziehungsweise Zementverankerung und verfügt über eine große Anzahl von Ausläufern der Odontoblastenfortsätze, die für die Auslösung von Schmerzempfindungen mitverantwortlich sind [49,60]. Zur Pulpa hin schließt sich das zirkumpulpare Dentin an, dessen Kollagenfibrillen senkrecht zu den Odontoblastenfortsätzen verlaufen. Die besondere Eigenschaft dieser Dentinstruktur liegt in der Fähigkeit, dass lebenslang bis zu 0,5 µm Sekundärdentin pro Tag nachgebildet werden können [25,49]. In Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Regeneration unterscheidet man das Primärdentin, das vor dem Zahndurchbruch bis einschließlich zur Fertigstellung der Zahnwurzel gebildet wird, und solches, das erst nach dem Zahndurchbruch die zirkumpulpare Dentinschicht verbreitert. Dieser Dentinbildung können zwei Aktivierungsmechanismen zugrunde liegen: Das Sekundärdentin, das im Bereich der Zahnkrone im Gegensatz zu den medialen und apikalen Zahnwurzelabschnitten meist noch gut strukturiert ist, wird ganz regulär kontinuierlich nachgebildet, da durch die tägliche Nahrungsaufnahme ständig thermische Reize, zum Beispiel durch die Temperaturunterschiede der Nahrung, und durch den Kauvorgang selbst hervorgerufene Belastungen auf die Pulpa ausgeübt werden. Das Tertiärdentin wird dagegen irregulär als Folge einer unphysiologischen, pathologischen Reizung, vor allem durch Karies und iatrogene Einflüsse, von den primären Odontoblasten oder, wenn diese bereits untergegangen sind, von den bis dahin undifferenzierten Ersatzzellen der Pulpa, den sekundären Odontoblasten, produziert. Ausdruck von periodisch wiederkehrenden Mineralisationsphasen während der präeruptiven Dentinentwicklung sind die im mikroskopischen Schnittbild sichtbaren Wachstumslinien, die parallel zur Zahnoberfläche angeordnet sind. Diese sogenannten Ebner'schen Linien charakterisieren dabei leicht hypomineralisierte Bereiche, die ein Resultat der Ruhephasen der Odontoblastenaktivität während der Dentinogenese darstellen. Die Owen'schen Linien zeugen dagegen von einer starken Verminderung der Mineralisationstätigkeit während durchgemachter Allgemeinerkrankungen im Kindesalter, die den Organismus als Ganzes geschwächt haben. Aber auch unter normalen Umständen verkalken manche Stellen im Dentin nur sehr unregelmäßig. Solche meist kugelartigen Zonen werden Interglobulardentin genannt. Auf die breite Schicht des zirkumpulparen Dentins folgt eine Zone der intensiven Mineralisation, das

Zwischendentin. Direkt an der Dentin-Pulpa-Grenze befindet sich das Prädentin, das an den Odontoblastensaum angrenzt und unverkalkt bleibt [49,60,61].

2.1.2 Pulpa-Dentin-System und Dentintubuli

Ursprung dieser unter dem Begriff Endodont zusammengefassten Funktionseinheit ist das Mesenchym, aus dem sich im Zuge der Dentinogenese die Zahnpapille entwickelt. Sie stellt das embryonale Bildungsorgan sowohl für das Dentin als auch für die Pulpa dar [59,61].

Als posteruptives Verbindungsglied dieser beiden Strukturen sind die in der Peripherie der Pulpa unmittelbar an der Dentin-Pulpa-Grenze palisadenartig angeordneten Odontoblasten anzusehen, welche in der äußersten Schicht des gallertartigen Pulpagewebes, einer spezialisierten Form des Bindegewebes, liegen und über Desmosomen untereinander verbunden sind. Über Tight-Junctions finden sie außerdem Anschluss an das 5-20 µm breite Prädentin. Sie sind zuständig für die Dentinbildung und produzieren während ihrer Aktivitätsphasen, welche schubweise auftreten, dieses mit einer Geschwindigkeit von 4-8 µm pro Tag [49,61]. Sofort nach dem Durchbruch reduziert die Sekundärdentinbildung, induziert durch die Attrition, innerhalb der ersten Monate schnell die Größe der Pulpakammer, später schreiten Sekundär- und Tertiärdentinbildung aufgrund von Adaptationsvorgängen an die oralen physikalischen und chemischen Umgebungsreize nur noch langsam voran. Pulpawärts schließt sich, zumindest im zervikalen Wurzeldrittel, die zellarme Weil'sche Zone an, gefolgt von einer zellreichen Schicht aus überwiegend Fibroblasten sowie den undifferenzierten Mesenchymzellen [49,59,60,92].

Eine der wesentlichen Aufgaben der Pulpa besteht in der Innervation des Zahnes. Der subodontoblastische Raschkow'sche Plexus, ein Nervengeflecht, von welchem in den Pulpahörnern bis zu 1.000 Nervenendigungen pro mm² gezählt werden können, entsendet seine marklosen Endäste an die Odontoblastenschicht [59]. Die nozizeptiven Nervenendigungen erstrecken sich zusammen mit den eng benachbarten Odontoblastenfortsätzen, den Tomes-Fasern, circa 0,2 mm weit in das Hohlraumssystem der Dentinkanälchen im Prädentin und damit mindestens bis zur Mineralisationsgrenze [49,130]. Die myelinisierten A-Fasern des Nervengeflechts sind verantwortlich für die Schmerzempfindlichkeit des Dentins, wobei man davon ausgeht, dass die Nervenfasern durch

hydrodynamische Flüssigkeitsbewegungen des Dentinliquors mechanisch aktiviert werden. Die deutlich langsamer leitenden, nicht-myelinisierten C-Fasern lösen erst bei thermischer oder chemischer Reizung Schmerzsymptome aus. Die Nervenfasern induzieren daraufhin die Freisetzung von Transmittersubstanzen und führen zu einer Vasodilatation in den Pulpaarterien. Infolge dessen kommt es zu einem Anstieg des Gewebedrucks in der Pulpa, um im Falle einer Infektionsgefahr das Eindringen von Bakterientoxinen in die Pulpa zu verhindern. In einer gesunden Pulpa beträgt dieser Druck normalerweise 20-30 mmHg [59,60,64].

In der Zahnwurzel verlaufen die Dentinkanälchen weitgehend gerade von der Pulpa in Richtung Wurzelzement, im Gegensatz zu den Dentinkanälchen in der Zahnkrone, die das Dentin S-förmig durchqueren [60,61,130,183]. Die Dichte der Dentinkanälchen unterliegt einer großen individuellen Variabilität und nimmt sowohl bei menschlichen Zähnen als auch bei Rinderzähnen von der Zahnkrone zur Zahnwurzelspitze hin ab. Bei menschlichen, permanenten Zähnen ist sie mit 30.000-50.000 Kanälchen pro mm² an der Dentin-Pulpa-Grenze größer als an der Schmelz-Dentin-Grenze mit nur noch 10.000-25.000 Kanälchen pro mm². Für Rinderzähne werden ebenfalls Werte von mehreren 10.000 Dentinkanälchen pro mm² angegeben, wobei das Wurzelentin der Rinderzähne die größte Anzahl an Dentinkanälchen pro mm² aufweist und diese dort auch relativ konstant bleibt. Der Durchmesser der Dentinkanälchen nimmt in der Zahnkrone von pulpanahen 2,5 µm auf pulpaferne 0,9 µm ab. In der Zahnwurzel beträgt er circa 1-3 µm [64,89,122,130]. Gelegentlich kommen im Rinderdentin auch „Riesentubuli“ vor [194]. Die Dentinkanälchen selbst werden von stark mineralisiertem, peritubulärem Dentin ummantelt. Zwischen den Dentinkanälchen lagert sich intertubuläres, weniger stark mineralisiertes Dentin ab, das von zahlreichen intertubulären Anastomosen durchzogen wird, über die die Seitenäste der Odontoblastenfortsätze, sogenannte Mikrovilli, miteinander kommunizieren können. Eine altersabhängige Sklerosierung der Dentintubuli, welche an der Zement-Dentin-Grenze im Zahnwurzelbereich beginnt und sich dann in die Zahnkrone fortsetzt, führt zu einer drastischen Verkleinerung des Dentinkanälchendurchmessers durch intrapulpaes, im Schliffbild transparentes Dentin, so dass sich die Odontoblastenfortsätze schließlich in Richtung Pulpa zurückziehen und die Dentinkanälchen sogar vollständig obliterieren können. Gleichzeitig nimmt auch die Schichtstärke des intertubulären Dentins weiter zu und sorgt seinerseits für eine abnehmende Weiterleitung von sensiblen Reizen an die Odontoblastenfortsätze [60,64,134,136].

Neben der Innervierung des Dentins übernimmt die Pulpa als gut vaskularisiertes Gewebe auch die Ernährung des Dentins. Der Blutfluss erreicht in der Kronenpulpa Geschwindigkeiten von 40-50 ml pro Minute und 100 g Pulpagewebe und ist damit etwa doppelt so hoch wie in der Wurzelpulpa [59]. Mit den Blutgefäßen, die über das Foramen apicale an der Wurzelspitze in die Pulpa ein- und austreten, gelangen die Nährstoffe und auch die Abwehrzellen aus dem peripheren Blut in die Pulpa und von dort aus mit dem Dentinliquor, einer eiweißarmen und phosphatreichen, extrazellulären Flüssigkeit, die sich in den Dentinkanälchen befindet, bis in das Dentin. Gleichzeitig besteht umgekehrt auch eine Verbindung zum parodontalen Gewebe, woraus sich bei einer Infektion der Pulpa oder aber des Parodonts im ungünstigsten Fall ein Kreislauf von Reinfektionen aufbauen kann. Verstärkt werden kann dieser Zustand über die akzessorischen Seitenkanälchen, die sich vor allem im apikalen Drittel der Zahnwurzel befinden, und die Furkationskanälchen [49,59,60,130].

2.1.3 Versuchsrelevante Besonderheiten in der Dentinstruktur

Vereinzelt kann der Verlauf der Dentinkanälchen bei Rinderzähnen von 1-3 mm breiten Höhlen inmitten des Dentins unterbrochen werden. Diese sogenannten Howship'schen Lakunen sind auf amorphe zum Teil bindegewebig durchzogene Stellen zurückzuführen, die durch fehlende oder nur mangelhafte Mineralisation von Pulparesten im Falle einer Odontoporus congenita und im Falle der Odontoporus aquisita durch interne oder externe Resorptionsprozesse entstanden sind [68].

Im Wurzeldentin sind außerdem häufig interstitielle Dentikel oder Pulpasteine, wie speziell die Dentikel der Zahnpulpa bezeichnet werden, zu beobachten. Interstitielle Dentikel entstehen als kugel- oder strichförmig angeordnete Gebilde durch eine verstärkte diffuse Mineralisation von amorphen Stellen mit unregelmäßigen Dentinkanälchen mitten im Dentin, während die adhärennten Dentikel der Zahnpulpa meistens als Fibrodentinkügelchen der Pulpahöhlenwand anhaften. Bei Tieren treten solche Dentikel nur sehr selten auf, wohingegen sie bei Menschen sowohl in Milchzähnen als auch in bleibenden Zähnen als pathologische Gebilde aus versprengten Odontoblastenzellen vorkommen können, insbesondere in Gegenwart chronischer Pulpaentzündungen [59,60,68]. Schon ein Jahr nach dem

Zahndurchbruch findet man in der mesiozervikalen Region des Wurzelkanallumens adhärenente Dentikel aus irregulärem Dentin [92]. Jugendliche bleibende Zähne weisen in histologischen Untersuchungen bereits eine Dentikelhäufigkeit von 30-60 % auf, die sich bis zum 50. Lebensjahr, stimuliert durch die Freilegung der Wurzeloberfläche infolge eines Attachmentverlustes, auf rund 90 % steigern kann. Röntgenologisch ist eine mittlere Häufigkeit von 21 % zu erkennen [59]. Solche sogenannten adhärenenten Dentikel können infolge ihres Wachstums durch die Verkleinerung des Pulpenkavums zu Pulpairritationen und neuralgischen Beschwerden führen [12,49].

2.2 Pulpitis und apikale Parodontitis

2.2.1 Definition

Der Wurzelkanal stellt ein komplexes System aus einem Zentralkanal und zahlreichen lateralen, akzessorischen und interkanalären Kanälen mit mehreren foraminale Öffnungen dar [108].

Unter einer Pulpitis versteht man eine Entzündungsantwort des Immunsystems auf mechanische, chemische oder thermische Reize oder das Eindringen von opportunistischen, pathogenen Mikroorganismen aus der Mundhöhlenflora oder dem Parodontium in das Endodontium. Der Übergang von einer reversiblen Pulpitis in eine irreversible Pulpitis ist fließend und klinisch nur schwer zu diagnostizieren [12,49,117,204].

Als apikale Parodontitis wird ein entzündlicher Prozess des Zahnbettes um die Wurzelspitze herum bezeichnet, der in erster Linie als Folge einer Pulpitis mit einer mikrobiellen Infektion der Pulpakammer zu sehen ist. Die Häufigkeit ihres Auftretens nimmt mit fortschreitendem Alter zu, vor allem dann, wenn circa ab dem 50. Lebensjahr systemische Erkrankungen auftreten und dadurch die Immunitätslage nachhaltig beeinträchtigt ist [24,46,47].

Akute Entzündungen führen zu Schmerzen und Schwellungen im Bereich des betroffenen Zahnes. Bei chronischen Krankheitsverläufen stellt sich ein Gleichgewicht zwischen dem Angriff der Mikroorganismen und der Abwehr des Wirtsorganismus ein. Dieser chronische Zustand kann bei reduzierter Immunitätslage jederzeit in eine akute Exazerbation übergehen [144,145,177].

2.2.2 Ätiologie und Pathogenese

Die pathologische Ausgangssituation von Zähnen, die eine endodontische Behandlung benötigen, ist sehr unterschiedlich und reicht von der partiellen koronalen Entzündung der Pulpa über die infizierte Pulpanekrose bis hin zu komplizierten periradikulären Osteolysen. Grundsätzlich kann jede Unterbrechung der die Pulpa überdeckenden Strukturen zu einem Befall des Zahnes mit Mikroorganismen führen [104].

Pulpale und periapikale Entzündungsprozesse werden durch polymikrobielle Mischinfektionen hervorgerufen und zu 90 % von anaeroben Bakterienstämmen dominiert [101,148,164,164]. Bis zu 35 Bakterienarten können an der Entstehung von Wurzelkanalinfektionen beteiligt sein. Unklar ist allerdings, ob eine Bakterienspezies alleine oder eine spezifische Mischung verschiedener Bakterien als Auslöser zu sehen ist, da polymikrobielle Infektionen im Gegensatz zu Monoinfektionen oft einen synergetischen Effekt zeigen [118,145]. Allerdings kann nur eine devitale, infizierte Pulpa auch eine apikale Parodontitis hervorrufen, nicht dagegen eine vitale oder devitale, nicht-infizierte Pulpa. Die Pulpa ist dabei solange zum größten Teil als nicht-infiziert anzusehen, bis das Pulpagewebe nekrotisch wird [1,128,144,155,204]. Im devitalen und nekrotischen Zustand gelingt es den Mikroorganismen dann jedoch sehr leicht und schnell, die Pulpa zu infizieren, da die Abwehrmechanismen des Körpers im Wurzelkanal nur eingeschränkt wirksam sind. Man spricht dann von einer primären Wurzelkanalinfektion. Die periapikalen Erkrankungen hingegen nehmen ihren Ausgang von der Aktivierung verschiedener Immunreaktionen im Wirtsgewebe, welche entweder durch die Mikroorganismen selbst oder deren Toxine und Stoffwechselprodukte hervorgerufen werden [15,114,168].

Als Ursache für eine primäre Pulpaerkrankung ist in erster Linie eine Caries profunda zu nennen. Aber auch ein Trauma mit Zahnfraktur und Irritationen der Pulpa, die iatrogen während der Präparation von Karieskavitäten oder Pfeilern für Kronen- oder Brückenrestorationen ausgelöst werden, sowie insuffiziente Restaurationen oder die dazu verwendeten Füllungsmaterialien selbst können dafür verantwortlich sein [59,66,183,184,204]. Eine Infektion mit Mikroorganismen ist von koronal oder über den Apex und die lateralen Wurzelkanäle möglich und kann innerhalb von wenigen Wochen oder Monaten vonstatten gehen [81]. Sekundäre Wurzelkanalinfektionen können sowohl bei schon nekrotischer als auch bei noch vitaler Pulpa auftreten und werden durch Mikroorganismen verursacht, die an der Primärinfektion noch nicht beteiligt waren. Diese können entweder während der Wurzelkanalbehandlung in den Wurzelkanal eindringen, häufig dann, wenn die hygienischen Richtlinien, die das Anlegen eines Kofferdams und die Desinfektion des Arbeitsfeldes verlangen, nicht sorgfältig beachtet werden. Oder aber sie breiten sich erst zwischen den Behandlungssitzungen aus, wenn keine medikamentöse Zwischeneinlage gemacht und auf einen einwandfrei dichten, provisorischen Verschluss verzichtet wurde. Die dritte Möglichkeit einer sekundären Wurzelkanalinfektion besteht nach der Wurzelkanalbehandlung als Folge einer insuffizienten Wurzelkanalfüllung oder einer

verzögerten Versorgung mit einer permanenten Restauration. Infektionsquellen für Reinfektionen sind dabei vor allem Plaque, zurückgelassene Karies und kontaminierte Instrumente beziehungsweise Verbrauchsmaterialien [124,145,184]. Chronische persistierende Infektionen sind dann zu beobachten, wenn es Mikroorganismen aus einer primären oder sekundären Infektion gelungen ist, das gesamte Wurzelkanalsystem zu durchwandern und in die Seitenkanäle, Dentinkanälchen und apikalen Ramifikationen des Wurzelkanaldeltas einzudringen, zum Beispiel in kleine Resorptionslakunen in der Nähe des Foramen apicale und vereinzelt auch in das periradikuläre Gewebe. Dort bilden sie dann Bakteriencluster, die in ihrer Gesamtheit weder mithilfe einer chemomechanischen Aufbereitung erreichbar, noch einer Immunabwehr der benachbarten Abwehrzellen des Wirtsorganismus in Form von Phagozytose und Antikörperreaktionen zugänglich sind. In einigen Fällen existiert auch ein Isthmus im Wurzelkanalverlauf. Dieser kann meist circa 3-5 mm oberhalb des anatomischen Apex gefunden werden, häufig dann, wenn zum Beispiel bei unteren Inzisivi, Prämolaren und Molaren in einer Zahnwurzel zwei Kanäle vorhanden sind. Wird nur einer dieser beiden Kanäle gereinigt und abgefüllt, kann der zweite Kanal eine persistierende Infektion unterhalten, die für den Misserfolg der Wurzelkanalbehandlung verantwortlich ist [47,78,152,177,193]. Mit fortschreitender Infektionsdauer ändert sich für gewöhnlich die Zusammensetzung der Mikroflora. Oft handelt es sich dabei um eine einzige Art von Mikroorganismen oder eine weitaus kleinere Gruppe als bei primären Infektionen, vor allem aus der Gruppe der obligat oder fakultativ anaeroben Bakterien und der Pilze [39,48]. Als weitere Ursachen für eine fehlgeschlagene Wurzelkanalbehandlung kommen außerdem mechanische und chemische Irritationen, unvollständige Wurzelkanalfüllungen und zurückgelassenes nekrotisches Gewebe mit Bakterien im apikalen Wurzelkanaldrittel sowie fehlende oder insuffiziente Restaurationen der Zahnkrone, die eine koronale Durchlässigkeit aufweisen, oder gar eine fehlerhafte Indikationsstellung bei einer Parodontitis oder einer traumatischen Okklusion in Betracht [44,81,87,100,135,197]. Manchmal wird auch periapikales Reparationsgewebe mit einer radiologischen Aufhellung verwechselt und fälschlicherweise als endodontischer Misserfolg eingestuft [39,42,47]. Auch Reaktionen auf Fremdstoffe, wie überstopftes Wurzelfüllmaterial, meist des Sealers oder anderer Füllmaterialien als Guttapercha, und überpresste Spülflüssigkeiten kommen gelegentlich vor, wenn dadurch eine körpereigene Abwehrreaktion ausgelöst wurde. Sie gehen einher mit Schädigungen des periapikalen Gewebes und des parodontalen Ligaments sowie Irritationen des Nervus mandibularis im Unterkiefer oder der Kieferhöhle im Oberkiefer [5,44,52,69,70,104,132,135,164,176,181]. Seltener liegt der Grund für einen

Behandlungsmisserfolg in Wurzel- oder Instrumentfrakturen und Wurzelperforationen, die übersehen und nicht korrigiert wurden [135,181]. Bei einem Misserfolg nach einer korrekt durchgeführten Wurzelkanalbehandlung muss dagegen in erster Linie an eine persistierende extraradikuläre bakterielle Infektion gedacht werden. Da diese normalerweise von der körpereigenen Abwehr angegangen wird, ist sie sehr selten und auch nur schwer nachweisbar [110,173,176]. Eine chirurgische endodontische Behandlung sollte daher solchen Fällen vorbehalten sein, bei denen eine konventionelle Wurzelkanalbehandlung fehlgeschlagen beziehungsweise nicht durchführbar ist, oder wenn es gleichzeitig notwendig wird, eine Gewebebiopsie zu entnehmen. Eine postoperative Antibiose unterstützt zwar die Elimination der Mikroorganismen, verbessert das Heilungsergebnis allerdings nicht wesentlich, da im pulpalosen Zahn keine Blutzirkulation mehr vorhanden ist. Sie sollte deshalb nur in ausgewählten Fällen bei systemisch reduzierter Abwehrlage eingesetzt werden, weil sonst die Gefahr der Resistenzbildung gegen Antibiotika unnötig erhöht wird [144,176,186].

2.2.3 Wurzelkanalbehandlung

Neuesten Angaben der Deutschen Gesellschaft für Endodontie zufolge werden in Deutschland jährlich mehr als 13 Millionen Zahnextraktionen vorgenommen, von denen mehrere hunderttausend Zähne durch eine professionelle Wurzelkanalbehandlung gerettet werden könnten [29,169]. Eine genauere Stellungnahme zur Herkunft und Erfassung dieser Daten war weder auf schriftliche, noch auf telefonische Anfrage bei der DG-Endo zu bekommen. Dennoch sollte jede Wurzelkanalbehandlung nicht zuletzt auch bezüglich ihrer Rentabilität und Erfolgsaussichten immer zuerst vor dem Hintergrund der Diagnose einer reversiblen oder irreversiblen Pulpitis sowie dem Vorhandensein einer periapikalen Parodontitis und des jeweiligen mikrobiologischen Status überdacht werden [169,204].

Maßgebliches Ziel der Wurzelkanalbehandlung ist es, vor der definitiven Abfüllung des Wurzelkanallumens die für die Entzündung der Pulpa ursächlichen Bakterien sowie ihre Stoffwechselprodukte und Toxine möglichst schnell und vollständig zu eliminieren oder zumindest das Wachstum der Bakterien im Kanal soweit einzudämmen, dass es von der körpereigenen Abwehr wieder beherrscht werden kann. Gleichzeitig muss das degenerierte Pulpagewebe und kontaminiertes Dentin entfernt werden [24,39,108,147,173].

Die klassische Indikation für eine einzeitige Wurzelkanalbehandlung stellt die nicht-infizierte Pulpitis vitaler Zähne dar. Dieses Vorgehen spart hier viel Zeit und ist nicht weniger erfolgversprechend als eine mehrzeitige Wurzelkanalbehandlung [104,185,204]. Wird die Pulpa dagegen nekrotisch, ist eine Infektion des Pulpagewebes und des umgebenden Dentins nahezu unvermeidbar. An dieser Stelle muss der Eindämmung der Infektion oberste Priorität eingeräumt werden, um ein weiteres Übergreifen der Infektion auf das periapikale Gewebe zu verhindern. Erst im Anschluss daran kann eine adäquate Wurzelkanalbehandlung durchgeführt werden [190,204]. Einer mehrzeitigen Wurzelkanalbehandlung mit antiseptischen Maßnahmen ist in diesen Fällen daher der Vorzug zu geben. Denn nach der ersten Sitzung bleiben immerhin noch in einem Drittel der Wurzelkanäle Infektionskeime zurück, da die Dauer der Wurzelkanalbehandlung häufig nur für eine Desinfektion des Hauptkanals ausreicht [158,204]. Studien von Sjögren et al. [163] und Trope et al. [185] zufolge verringert ein zweizeitiges Vorgehen bei der Wurzelkanalbehandlung das Risiko eines Behandlungsmisserfolges gegenüber der einzeitigen Methode signifikant. Aber auch hier gibt es Untersuchungen, die diesen Sachverhalt widerlegen und keinen wesentlichen Unterschied in der Ausheilung der apikalen Läsion zwischen der einzeitigen (81%) und der zweizeitigen (71%) Behandlungsmethode verifizieren konnten [113,202].

Eine seit langem anerkannte und auch von der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde wiederholt empfohlene Behandlungsmethode bei irreversibler Pulpitis und periapikaler Parodontitis sieht deshalb nach der Vitalexstirpation der Pulpa eine sukzessive mechanische Erweiterung des Wurzelkanallumens sowie ein häufiges Spülen des Wurzelkanals mit antimikrobiellen Desinfektionsmitteln, bevorzugt Natriumhypochlorit, zwischen den einzelnen Aufbereitungsschritten vor [199,200]. Denn auch die Menge, Häufigkeit und Art der Zwischenspülungen mit antimikrobiellen Desinfektionsmitteln beeinflusst das Ergebnis der Wurzelkanalbehandlung nachhaltig, da einige Mikroorganismen, wie zum Beispiel der *E.faecalis*, eine außerordentlich große Widerstandsfähigkeit gegen selbst extreme physikalische Milieubedingungen besitzen und sich bis circa 1.000 µm weit in die Dentinkanälchen zurückziehen können [55].

Eine Studie von Pataky et al. [109] konnte zeigen, dass zwischen mechanisch behandelten Zähnen und unbehandelten oder nur gespülten Zähnen ein deutlicher Unterschied in der Reduktion der Bakterienpopulation besteht. Die verschiedenen Präparationstechniken hingegen lassen keine nennenswerten Unterschiede erkennen, egal ob der Wurzelkanal per Hand mit Edelstahlfeilen in Step-back-Technik oder maschinell mit rotierenden Nickel-Titan-Feilen in Crown-down-Technik aufbereitet wurde [15,158]. Kritik an der alt bewährten

Standardmethode mittels Handaufbereitung wird jedoch bei ovalen und gekrümmten Wurzelkanälen laut, da hier oft nicht einmal im Zentralkanal die gesamte Kanalwand erreicht wird, was einer Untersuchung von Grande et al. [52] zufolge bis zu 35 % der Kanaloberfläche ausmachen kann. Solche nicht bearbeiteten Kanalabschnitte sind vor allem im koronalen und mittleren Wurzel Drittel zu finden. In diesen Fällen sollte man sich deshalb die Vorteile der neueren maschinellen Ni-Ti-Systeme zunutze machen, die aufgrund einer größeren Flexibilität der Feilen zudem auch eher den Erhalt der ursprünglichen Wurzelkanalform ermöglichen. Als Nachteil muss allerdings die Inkonzanz des Reinigungsergebnisses gesehen werden [5,108,147,151]. Eine vollständige Elimination der Infektionskeime ist jedoch grundsätzlich nahezu unmöglich [128,141,193]. Insgesamt kann durch die mechanische Aufbereitung mit allen Instrumententypen auch ohne antimikrobielle Wirkung der Spüllösung schon eine deutliche Reduktion der Bakterienanzahl im Wurzelkanal um mehr als 90 % erreicht werden [58]. Deshalb empfehlen manche Autoren, neben dem Abtragen des infizierten Dentins und antimikrobiellen Spülungen auch auf eine anschließende Applikation einer medikamentösen Zwischeneinlage für einen Zeitraum von mindestens einer Woche, zum Beispiel mit Kalziumhydroxid im Falle von Primärinfektionen oder mit Chlorhexidindigluconat bei Sekundär- und Reinfektionen, nicht zu verzichten, da andernfalls die Anzahl der Bakterien schnell wieder zunimmt [7,21,76,93,120]. Durch die Maßnahmen der mechanischen Aufbereitung und wiederholten Zwischenspülungen mit einer 1,0 % NaOCl-Lösung kann bereits in 50-70 % der infizierten Wurzelkanäle eine vordergründige Keimfreiheit des Zentralkanals erzielt werden, nicht jedoch in den Dentinkanälchen und anderen geschützten Nischen wie Rezessus, Divertikeln und Zementausstülpungen [15,111,119,133,139,167,171,202].

Allerdings setzt sich im klinischen Alltag zusehends die Theorie durch, dass die nach der Desinfektion im Wurzelkanal zurückgebliebenen Bakterien durch eine dichte Wurzelkanalfüllung mit Sealer und Guttapercha, deren Haftung durch die Aufrauung der Wurzelkanaloberfläche bei der mechanischen Aufbereitung begünstigt wird, entweder eliminiert, oder zumindest die Bakterienvermehrung durch die Einbettung in die Wurzelkanalfüllung und den Nahrungsmangel beträchtlich eingeschränkt wird. Meist verhindern sogar das Wurzelzement und das parodontale Ligament sowie Sklerosierungen im apikalen Wurzel Drittel schon vorab, dass Bakterien in die Dentinkanälchen eindringen und den Erfolg einer Wurzelkanalbehandlung gefährden können [150,163,204]. Der Sealer kann die Dentinkanälchen 10-80 μm penetrieren und weist bis in Dentinschichttiefen von 300 μm eine antimikrobielle Aktivität auf [129,183]. Die Guttapercha enthält als bakterientoxischen

Bestandteil Zinkionen. Zudem sollten auch die Guttaperchastifte vor dem Einbringen in den Kanal mit NaOCl desinfiziert und dann erst mit ZnO-haltigem Sealer benetzt werden. Eine suffiziente restaurative Versorgung der Zahnkrone soll außerdem insbesondere ein koronales Leakage verhindern und die Abgrenzung aller etwaigen Nahrungsquellen in Form von Geweberesten und Gewebsflüssigkeiten zum Wurzelkanallumen hin sicherstellen, um eine Reinfektion des Wurzelkanals weitgehend ausschließen und den Erfolg der Wurzelkanalbehandlung dauerhaft gewährleisten zu können [43,46,54,109,129,150,173,178,189].

Orstavik definierte in einer seiner Studien eine erfolgreiche Wurzelkanalbehandlung als eine Verkleinerung der radiologischen Aufhellung und die Symptomfreiheit des Zahnes über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr nach der Behandlung [204]. Man unterscheidet hierbei weiter zwischen zwei Typen: Als Kurzzeiterfolg, der bei rund 98 % der behandelten Zähne beobachtet werden kann, sind die fehlenden klinischen Symptome, wie Schmerzen und Schwellung, innerhalb der ersten zwei Tage nach erfolgter Wurzelkanalbehandlung zu bewerten. Ein Langzeiterfolg stellt sich nach einer Vitalexstirpation und einer Gangränbehandlung immerhin in 71-96 % der Fälle ein [135]. Eine hohe Erfolgsrate ist meist dann zu erwarten, wenn eine Vitalexstirpation durchgeführt werden konnte, das Röntgenbild noch keine apikale Aufhellung zeigte und zum Zeitpunkt der Wurzelkanalfüllung anhand einer mikrobiologischen Kontrolle von einer relativen Bakterienfreiheit des Wurzelkanals ausgegangen werden kann. Sind nach Abschluss der Wurzelkanalbehandlung immer noch Bakterien im Wurzelkanal vorhanden, kann nur noch für 33-68 % der behandelten Zähne eine positive Prognose angenommen werden [42,120,135,161,163]. Wenn bei Behandlungsbeginn jedoch schon eine periapikale Beteiligung vorhanden ist, kann ein Heilungserfolg auch erst nach ein bis zwölf Jahren zu verzeichnen sein. Zähne mit kleineren apikalen Läsionen haben dabei bessere Heilungschancen als Zähne mit größeren Läsionen. Eine erhebliche Größe der periapikalen Läsion und eine Zystenbildung reduzieren die Erfolgsaussichten um circa 10 %, da die Größe der Knochenläsion mit der Anzahl, Dichte und Aktivität der Bakterien im Wurzelkanal korreliert und dementsprechend höher ausfällt [36,44,113,135,148,164,174,176]. Eine spezielle Behandlung muss auch denjenigen Zähnen zukommen, die trotz bereits durchgeführter adäquater Wurzelkanalbehandlung immer noch eine apikale Parodontitis aufweisen. Nach fünf Jahren zeigen sich in 32 % der Fälle immer noch zwar asymptomatische, aber dennoch persistierende, periapikale Läsionen. Hier liegt meist eine besonders resistente Infektion zugrunde, sei es aufgrund eines schwer zugänglichen Wurzelkanalverlaufs oder eines reduzierten Allgemeinzustandes [56]. Vor allem können dann in ungewöhnlich hoher Anzahl *Enterococcus faecalis* und häufig auch *Candida albicans*

vorgefunden werden, wobei *E.faecalis* bei bis zu 50-70 % der untersuchten Proben als einer der beteiligten Bakterienstämme isoliert wird, oft sogar als Monoinfektion [47,139,176]. Hier reichen eine konventionelle Desinfektion und eine unterstützende, medikamentöse Zwischeneinlage mit Ca(OH)_2 nicht mehr aus. Am besten eignen sich dann Spül- und Einlagepräparate auf CHX-Basis mit einer Konzentration von 2,0 % [37,43,133,167,169,202,204]. Die Misserfolgsrate nach einer Revisionsbehandlung muss dabei mit 20-50 % einkalkuliert werden. Dennoch verlaufen nach einer Revision der Wurzelfüllung immerhin 74-84 % erfolgreich. Bei Infektionen mit *E.faecalis* werden dagegen mit einer Erfolgsrate von 66 % geringfügig schlechtere Ergebnisse ermittelt [47,87,119,120,135,139,176].

Das Ergebnis einer Wurzelkanalbehandlung ist also zum einen abhängig vom Zustand der Pulpa und des periapikalen Gewebes zum Zeitpunkt der Wurzelkanalfüllung. Prinzipiell ist davon auszugehen, dass bei einer vitalen Pulpa bessere Ergebnisse zu erwarten sind als bei einer Gangrän [135]. Außerdem spielen die Aufbereitungsgröße im Zusammenhang mit der Menge des Dentinabtrags und dem Platzangebot für die Spülnadel sowie die anatomische Ausgangssituation bezüglich der Größe des Wurzelkanals und eventuell vorhandener Krümmungen eine wichtige Rolle [151]. Zum anderen wird der Langzeiterfolg wesentlich von der Qualität der Wurzelkanalbehandlung und der restaurativen Versorgung beeinflusst. Die wirkungsvollste, derzeit verfügbare Behandlungsstrategie besteht daher in einer ausreichend dimensionierten Aufbereitung des Wurzelkanals über die gesamte Länge der Zahnwurzel, auch im apikalen Wurzelkanaldrittel, und einer dichten Wurzelkanalfüllung im Abstand von weniger als 2 mm zum Apex [163,164]. Bezüglich der Durchführung der Wurzelkanalfüllung lässt sich folgender Trend beobachten: Bei normalen periapikalen und pulpalen Verhältnissen übt die Position des apikalen Stops keinen wesentlichen Einfluss auf die Prognose der Wurzelkanalbehandlung aus und sollte circa 1,0-1,5 mm über dem anatomischen Apex liegen. Bei nekrotischer Pulpa mit periapikaler Parodontitis wirkt sich ein geringerer Abstand zum Apex von circa 0,5-0,7 mm dagegen vorteilhaft auf das Heilungsergebnis aus. Bei einem Verlust der Aufbereitungslänge von 1,0 mm schwinden hier die Chancen für eine erfolgreiche Wurzelkanalbehandlung bereits um 14-20 %. Die Qualität und damit die Dichte der Wurzelkanalfüllung scheint bei einer initialen Wurzelkanalbehandlung im Gegensatz zum Revisionsfall unerheblich zu sein. Dennoch kann aber davon ausgegangen werden, dass die Erfolgsaussichten umso höher einzuschätzen sind, je dichter die Wurzelkanalfüllung gelungen ist. Das Patientenalter spielt ebenfalls keine Rolle. Bei Wurzelkanalobliterationen, Wurzelresorptionen, Brückenpfeilern und

Wurzelperforationen reduziert sich allerdings die Vorhersagbarkeit eines Behandlungserfolges zusehends [24,135,164,177].

2.3 Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem

2.3.1 Einteilung und Vorkommen

Mehr als 300 Bakterienarten konnten bisher in der normalen Mundhöhlenflora identifiziert werden. In ihrer genauen Zusammensetzung variiert die orale Mikroflora jedoch sehr stark, sowohl von Mensch zu Mensch, als auch an verschiedenen Stellen in der Mundhöhle und sogar an der gleichen Stelle zu unterschiedlichen Zeitpunkten, sowie für jeden einzelnen Zahn. Theoretisch könnten alle diese Mikroorganismen in den Wurzelkanal gelangen und dort an einer Wurzelkanalinfektion beteiligt sein. Dennoch scheint die weniger komplexe Bakterienflora des infizierten Wurzelkanals meist auf eine bestimmte kleinere Gruppe von Bakterien aus ein bis zwölf verschiedenen Spezies beschränkt zu sein. Einige davon kommen auch in entzündeten parodontalen Taschen vor, so dass vermutet wird, dass die Zusammensetzung der Mikroflora bei endodontischen Infektionen mit wenigen Ausnahmen derjenigen bei parodontalen Erkrankungen entspricht [13,66,138,154,174,175].

Dass Mikroorganismen und ihre Stoffwechselprodukte ursächlich für die Entstehung von pulpalen und periradikulären Entzündungsgeschehen sind, ist daher schon seit langer Zeit unumstritten. Mehr als 50 % der beteiligten Mikroorganismen sind jedoch mit konventionellen Kulturmethode nicht oder nur schwer anzüchtbar, so dass man bis etwa ins Jahr 1970 vor allem fakultative Anaerobier für endodontischen Infektionen verantwortlich gemacht hatte. Inzwischen stehen auch spezielle anaerobe Bebrütungstechniken zur Verfügung [123,144,154]. Ein weiteres Problem bei der Bakterienzüchtung in Flüssigmedien ergibt sich zudem daraus, dass oft nur schnell wachsende Spezies wie Enterokokken und Bazillen erfolgreich vermehrt werden können und dadurch die ursprüngliche Zusammensetzung der Mikroflora von diesen Bakterienarten verschleiert wird. Mit den modernen hochsensiblen, molekular-technischen Analysemethoden (16S-rDNA-PCR und Gelelektrophorese; Nachweisgrenze 25-50 KBE) ist es schließlich gelungen, auch die Mikroorganismen mit hohen Ernährungsansprüchen zu identifizieren, was immerhin auf mehr als 80 % der involvierten Bakterienarten zutrifft. Auf diese Weise konnte der Nachweis erbracht werden, dass bis zu 90 % der charakteristischen pathogenen Bakterienflora im infizierten Wurzelkanal aus der Gruppe der obligat anaeroben Bakterien stammt. Desweiteren sind mit diesem Verfahren noch weitere, bisher unbekannte Mikroorganismen gefunden

worden, so dass seit 1989 an einer neuen Klassifizierung der Bakterienarten gearbeitet wird [22,101,146,154,156].

Unbehandelte Zähne mit nekrotischer Pulpa beherbergen meist eine polymikrobielle Flora aus überwiegend gram-negativen, obligat anaeroben Bakterien. Aus bereits gefüllten Wurzelkanälen mit therapieresistenter, persistierender Infektion und chronischer apikaler Parodontitis dagegen werden meist gram-positive, fakultativ anaerobe Bakterien isoliert. Einige dieser Bakterien können nämlich in Form von Biofilmen viele Jahre in den wurzelgefüllten Zähnen überleben und eine vollständige Heilung der chronischen apikalen Parodontitis lange Zeit verhindern [36,44,135]. Zur Gattung der obligat anaeroben Bakterien gehören hauptsächlich gram-positive Kokken und gram-negative Bazillen. Am häufigsten wird das gram-negative *Fusobacterium nucleatum* isoliert. Die Gruppe der Streptokokken wird vor allem durch die Stämme *Streptococcus anginosus* und *Streptococcus mitis* vertreten. In einem Drittel der Fälle werden außerdem Peptostreptokokken entdeckt, wobei die Unterklassen *Peptostreptococcus micros* und *Peptostreptococcus anaerobius* meist zusammen gefunden werden. Aus der Gruppe der schwarz-pigmentierten anaeroben Bakterien dominieren mit 34 % *Prevotella intermedia* sowie die asaccharolytischen Stämme *Porphyromonas endodontalis* und gelegentlich *Porphyromonas gingivalis*. Wiederum ein Drittel der Wurzelkanäle enthält die Spezies *Eubacterium alactolyticum* und *Eubacterium lentum*. Besonders aggressiv gegen das periapikale Gewebe scheint *Actinomyces israelii* vorzugehen. Dieser Stamm kann bei 11 % der nekrotisierenden Pulpaentzündungen nachgewiesen werden. Schließlich sind noch Lactobazillen und Spirochäten im infizierten Wurzelkanal zu finden. Vereinzelt tauchen auch aerobe Bakterien auf, wie zum Beispiel *Pseudomonas aeruginosa*, die während der Wurzelkanalbehandlung aus der Mundhöhle eingeschleppt werden können [56,89,116,144,149,205].

Die Anzahl der Mikroorganismen pro infiziertem Wurzelkanal beläuft sich auf 100 bis 100 Millionen, wobei anaerobe und aerobe Spezies in einem Verhältnis von circa 2:1 vertreten sind [2,141,174]. Sie verteilen sich auf das gesamte Wurzelkanalsystem und besiedeln auch die Dentinkanälchen in vivo bis in eine Tiefe von 150 µm. In vitro ist eine Eindringtiefe von bis zu 300 µm möglich. Allerdings nimmt die Bakterienanzahl mit der Tiefe der Dentinschichten deutlich ab und auch an verschiedenen Stellen der Zahnwurzel variiert der Grad der Bakterieninvasion. Im zervikalen und medialen Drittel penetrieren meist mehr Bakterien die Dentinkanälchen als im apikalen Wurzel Drittel, so dass die Anzahl der

eindringenden Bakterien auch entlang des Wurzelkanalverlaufs von der zervikalen Trepanationsöffnung zur Wurzelspitze hin kontinuierlich geringer wird. Im apikalen Wurzel Drittel findet man vor allem obligat anaerobe Bakterien mit proteolytischer Aktivität und eine kleinere Anzahl von fakultativ anaeroben Bakterien, die auch in direkten Kontakt zum vitalen periapikalen Gewebe treten können [15,27,110,116,128].

2.3.2 Pathomechanismen

Sobald eine infizierte, devitale Pulpa beginnt, sich zu zersetzen, verändert sich auch das Wurzelkanalmilieu. Mit der Zeit kristallisieren sich dann spezielle Selektionsbedingungen heraus, die das Wachstum und die Besiedelung des Wurzelkanals mit weiteren Bakterien beeinflussen und dadurch den Ausbruch eines akuten Infektionensgeschehens begünstigen. Diese Selektionsbedingungen betreffen die Populationsdichte, den Sauerstoffgehalt und das Redoxpotential, den pH-Wert, die Temperatur sowie das eingeschränkte Nahrungsangebot und bewirken, dass nur noch diejenigen Mikroorganismen fortbestehen können, die über eine ausgezeichnete Anpassungsfähigkeit verfügen. Die meisten oralen Mikroorganismen, die in nekrotisches Pulpagewebe eindringen, sind opportunistische Pathogene [144]. Anfangs, wenn noch genügend Nahrung vorhanden ist, können die Mikroorganismen leicht überleben, zumal die Immunreaktion des Wirtsorganismus im Wurzelkanal, anders als bei Entzündungen im periapikalen Gewebe, nur in einer eingeschränkten Form existiert und die Mikroflora in einer nekrotischen Pulpa nicht in direkten Kontakt mit den körpereigenen Immunzellen tritt [123]. Die anspruchsloseren Spezies unter den involvierten Mikroorganismen können ihre Nährstoffe direkt von Serumproteinen aus der Gewebeflüssigkeit oder von losen Geweberesten beziehen. Andere Bakterien wiederum verstoffwechseln mithilfe ihrer proteolytischen Enzymaktivität Aminosäuren und einfache Peptide, die sie aus den Serum-Glykoproteinen selbst herstellen können. Je länger eine Infektion anhält, insbesondere dann, wenn sie einen Zeitraum von drei und mehr Monaten überschreitet, desto mehr der vorhandenen Sauerstoffreserven werden verbraucht und das Redoxpotential nimmt ab. Stoffwechselprodukte wie Kohlendioxid, Ammoniak und Wasserstoff, die nicht weiterverarbeitet werden, reichern sich im Wurzelkanal an, bis sie schließlich für manche Bakterien eine toxische Grenze überschreiten. Andere Bakterien wiederum sind essentiell auf diese Gase angewiesen, da sie deren Funktion als Elektronendonatoren und -akzeptoren nutzen. Als weiterer wichtiger ökologischer Faktor sind die Bacteriocine zu nennen, die es

den Bakterien ermöglichen, andere konkurrierende Bakterien auszuschalten. So setzen Streptokokken Wasserstoffperoxid ein, um viele anaerobe Bakterien in ihrem Wachstum zu hemmen [144,174,175]. Daraus resultiert eine verminderte Anzahl an verschiedenen Bakterienarten. Gleichzeitig wechselt der Bakterientyp von vormals aeroben zu fakultativ anaeroben Spezies wie Streptokokken, Enterokokken, Lactobazillen und Pilzen, allen voran *Enterococcus faecalis* und *Candida albicans*. Die fakultativ anaeroben Bakterien begünstigen ihrerseits wieder die Überlebenschancen für die obligat anaeroben Bakterienarten im Wurzelkanal, da sie gegenüber Veränderungen des Umgebungsmilieus unempfindlicher sind und ein Redoxpotential für Sauerstoff besitzen. Sie sind jedoch nicht Voraussetzung für das Überleben der anaeroben Bakterien. Je mehr Bakterienarten kombiniert werden, desto höher ist die Überlebensrate der Gesamtflora [48,96,138,149,173]. Für *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas endodontalis* und *Peptostreptococcus micros* kann eine typische 2-Wochen-Überlebenskurve aufgestellt werden [118]. *E.faecalis* zerstört das periapikale Gewebe entweder selbst oder induziert eine körpereigene Abwehrreaktion des Wirtes durch Stimulation der Leukozyten, Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen [72,173].

Als typische Lebensform beobachtet man charakteristische, unstrukturierte Aggregate von einem oder mehreren Mikroorganismen, die sich vorrangig aufgrund der Ernährungslage bilden. Man spricht hier von der Ausbildung eines Biofilms, wofür insbesondere Gelatinasen essentiell benötigt werden [140]. Ein Biofilm ist ganz allgemein definiert als eine mikrobielle Gemeinschaft von Zellen (15 %), die mit einer Oberfläche in Verbindung steht und in eine amorphe Matrix (85 % der Gesamtmasse) aus extrazellulären, anionischen Polysacchariden, den Glukanen, und Teichonsäuren eingebettet ist [32,105]. Innerhalb dieses Biofilms befinden sich die aeroben Bakterientypen eher in den oberflächlichen Schichten, während in den tieferen Schichten vor allem die anaeroben Bakterien leben, so dass insgesamt eine metabolische Heterogenität herrscht. Das Bakterienwachstum findet nur mit gedrosselter Geschwindigkeit statt und auch veränderte Wachstumsphenotypen können gelegentlich vorkommen. Zwischen den Mikroorganismen existieren sowohl positive als auch negative Wechselbeziehungen. Die synergetisch wirksamen Mechanismen beruhen zum einen auf Schutzreaktionen gegen Phagozytose durch die Schädigung der Leukozyten und zum anderen auf der Basis des aufeinander abgestimmten Nährstoffwechsels der involvierten Bakterien, vor allem hinsichtlich des Eisenbedarfs. Spezielle Enzyme, die in der Lage sind, Plasmaproteine wie die Immunglobuline und Komplementfaktoren zu inaktivieren, unterstützen das Eindringen der Bakterien, indem sie die Abwehrmechanismen des Wirtes

schwächen [171,177]. Synergetische Verbindungen bestehen zwischen *Fusobacterium nucleatum* und *Peptostreptococcus micros* sowie *Porphyromonas endodontalis*. Außerdem leben *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus micros* und Eubakterien zusammen. Ähnlich verhält es sich bei Actinomyceten und Propionibakterien, die insbesondere bei extraradikulären Entzündungen vorherrschen [32,116,152,174].

Nach der Kontamination des Wurzelkanals besiedeln die Bakterien die Dentinwände, indem sie an die mineralischen Bestandteile des Dentins und das ortsständige Kollagen binden. Im weiteren Verlauf penetrieren sie auch die Dentinkanälchen, wo sie vor den endodontischen Aufbereitungsmaßnahmen und Medikamenten bis zu einem gewissen Grad geschützt sind [72]. Die Bakterienbesiedelung der Dentinkanälchen ist in vitalen Zähnen weniger ausgeprägt als in avitalen Zähnen, da in vitalen Zähnen zum einen die Odontoblastenfortsätze, unterstützt durch Kollagenfasern, eine physikalische Barriere gegen eindringende Bakterien bilden, und zum anderen der Fluss des Dentinliquors durch den intrapulpalen Druck von der Pulpa weg Richtung Peripherie gelenkt wird. In avitalen Zähnen degenerieren die Odontoblastenfortsätze und der Dentinliquor versiegt [98,178]. Zudem findet eine physiologische Sklerosierung des Dentins statt, beginnend an der Wurzelspitze, die eine Besiedelung mit Bakterien verhindern kann. Pathologische externe Wurzelresorptionen können hingegen die Bakterieninvasion durch Diffusionskräfte zusätzlich anregen [49,60,89,89-91,150].

Im Rahmen einer Wurzelkanalinfektion können die Mikroorganismen jedoch auch bis in das periapikale Gewebe absteigen. Eine apikale Parodontitis ist demzufolge immer mit einer Infektion des Wurzelkanals verbunden [175]. Haben die Mikroorganismen oder ihre Stoffwechselprodukte erst einmal das periradikuläre Gewebe angegriffen, kommt es zu einer Gewebeschädigung, die direkter oder indirekter Natur sein kann. Zu den direkten Faktoren zählen diesbezüglich Enzyme, Exotoxine und Metaboliten der Mikroorganismen. Als indirekter Faktor ist zum Beispiel die Gewebeerstörung durch die Immunreaktion selbst mit der Konsequenz der Pusbildung zu nennen [144]. Klinisch kann sich dieses Krankheitsbild in Form von Schmerzen, Schwellung, Fistelbildung und fauligem Atemgeruch äußern [101,159]. Die zunehmende Größe einer periapikalen Läsion korreliert zudem mit einer wachsenden Anzahl von Bakterien und einer größeren Artenvielfalt [174]. Weiterhin konnten Siqueira et al. [157] anhand einer umfangreichen Untersuchung mittels Polymerasekettenreaktion und Gelelektrophorese einen Unterschied in der Anzahl und der Zusammensetzung der Bakterienarten bei symptomatischen (zwölf Bakterienspezies) und asymptomatischen

(sieben Bakterienspezies) Wurzelkanalinfektionen nachweisen. Einen bestimmten Schlüsselpathoorganismus scheint es jedoch nicht zu geben. Allerdings können desöfteren charakteristische Bakterienkombinationen beobachtet werden. Zum Beispiel sind Fusobakterien sowie *Porphyromonas endodontalis* und *Porphyromonas gingivalis* an der Entstehung von symptomatischen Pulpaerkrankungen und akuten Abszessen beteiligt. Schwarz-pigmentierte, anaerobe Bakterien, insbesondere *Prevotella intermedia*, werden mit symptomatischen Infektionen in Verbindung gebracht [123,156,195].

Die Infektiösität der Mikroorganismen kann jedoch nicht mit ihrer Pathogenität gleichgesetzt werden. Sie hängt in erster Linie ab von der Virulenz und Anzahl der ursächlichen Bakterien sowie von den Umgebungsbedingungen [2]. Als Einflussfaktoren fungieren die Expression von Virulenzgenen durch die Mikroorganismen und die Immunitätslage des Wirtsorganismus, welche insbesondere bei Kindern und alten Menschen schwächer ausgeprägt ist. Bestimmte Erkrankungen und die regelmäßige Einnahme immunsuppressiver Medikamente verschlechtern die Situation ebenfalls, so dass dann auch Heilungsprozesse bei periapikalen Läsionen viel länger dauern können [144]. Wenn eine Bakteriengemeinschaft zu einem Zeitpunkt mit reduzierter Abwehrlage des Wirtsorganismus eine ausreichende Anzahl und Pathogenität erreicht, kann eine akute Entzündungsreaktion ausgelöst werden. Werden von ein- und demselben Bakterienstamm sowohl symptomatische als auch asymptomatische Infektionen verursacht, hat man es vermutlich mit Zellklonen verschiedener Virulenz oder mit synergetischen und antagonistischen Beziehungen zu anderen Bakterien zu tun. Zudem exprimieren einige Pathogene nicht ununterbrochen ihre Virulenzfaktoren, sondern nur dann, wenn sie durch veränderte Umgebungsbedingungen einer Stresssituation ausgesetzt sind. Auch neue Bakterienarten können hinzugekommen sein [145,206].

2.3.3 Enterococcus faecalis

Von den bekannten 20 Arten der Enterokokken, die man derzeit durch gentechnische Methoden differenzieren kann, sind die meisten völlig harmlos und werden sogar für lebensmitteltechnische Zwecke eingesetzt. Einen humanpathogenen Stellenwert besitzen lediglich zwei Arten, der *Enterococcus faecalis* und der *Enterococcus faecium* [90]. Beide Bakterienarten kommen ubiquitär in der Umwelt vor und besiedeln als natürlicher Mitbewohner in nicht unerheblicher Anzahl sowohl bei den Menschen und als auch bei den

Tieren den gesamten Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt [63,71]. Die ATCC-Sammlung listet derzeit 69 *E.faecalis*-Subtypen auf, von denen jedoch nur 31 Stämme endodontisch bedeutsam sind. 25 Stämme davon besitzen wiederum ein Plasmid, welches Antibiotikaresistenzgene codiert. Die Resistenzeigenschaften nehmen einen entscheidenden Einfluss auf die Pathogenität der Bakterien. Zwischen den Stämmen selbst können sowohl antagonistische als auch synergistische Beziehungen vorkommen [79,124,140].

Beim *Enterococcus faecalis* handelt es sich um ein gram-positives, katalase-negatives, nicht sporenbildendes, unbewegliches, fakultativ anaerobes Bakterium mit einem Durchmesser von 0,5-1,0 µm. Die Enterokokken können einzeln, in Paaren oder als kurze Ketten auftreten. Auf Kulturagar formieren sie sich als runde, glatte und ebene Kolonien [77,124]. Sie verstoffwechseln hauptsächlich Kohlenhydrate, Glycerol, Laktate und Malate, Zitate und viele α -Keto-Säuren. Bei Temperaturen von 10-45 °C zeigen sie ein uneingeschränktes Wachstum auf Schafsblutagar, wobei auch andere Nährmedien meist problemlos verwendet werden können. Selbst Spitzenwerte von 60 °C können von dieser Bakterienspezies in etwa eine halbe Stunde lang überstanden werden. *E.faecalis* ist außerdem imstande, mit Hilfe einer niedrigen passiven Membranpermeabilität und der Pufferkapazität des Zytoplasmas sowie einer aktiven Protonenpumpe den intrazellulären pH-Wert trotz eines steigenden extrazellulären, alkalischen pH-Wertes bis maximal 11,5 über die Zytoplasmamembran hinweg im Zytoplasma konstant zu halten [42,121]. Auch der ständige Angriff durch die Gallensalze im Duodenum, Schwermetalle, Ethanol und andere Reinigungsmittel, Säuren oder Trockenheit kann ihm kaum Schaden zufügen. Bei Glucosemangel entwickeln diese Bakterien auch eine Schutzfunktion gegenüber Hitze, Wasserstoffperoxid, Säuren, Alkohol und NaOCl [73,121,173]. Zu den Virulenzfaktoren des *E.faecalis* zählen die Aggregationssubstanz (Bindung von Leukozyten und extrazellulären Matrixbindungsproteinen), extrazelluläre Oberflächenadhäsine (vor allem **ace**: adhesin of collagen from enterococci und **esp**: enterococcus surface protein; binden an Fibronectin- und β -Integrin-Rezeptoren) und Lipoteichonsäure (Adhäsion und Kolonisation), Geschlechtspheromone (Entzündungsinduktion, Plasmidtransfer), extrazelluläre Superoxidproduktion (ein hoch reaktives Sauerstoffradikal) und lytische Enzyme wie Proteasen, Gelatinase und Hyaluronidase, sowie das Zytolysin A (Zerstörung von Wirtsgewebe, zum Beispiel durch Lyse der Zellmembranen, Inhibition anderer Bakterien) [39,40,79,82,124,140].

Auch während einer Wurzelkanalbehandlung verändert sich durch die chemomechanische Aufbereitung zwangsläufig das chemische und physikalische Milieu im Wurzelkanal. Neben der direkten antimikrobiellen Wirkung der eingebrachten Desinfektionsmittel erhöht sich bereits durch die Trepanation der Sauerstoffgehalt im Kanal. Im Anschluss an die Aufbereitung werden die Mikroorganismen bei Verwendung von Kalziumhydroxid als medikamentöse Zwischeneinlage einem alkalischen Milieu ausgesetzt und müssen eine längere Hungerperiode überstehen können, weil das Nahrungsangebot sehr eingeschränkt ist oder völlig fehlt. Unter diesen extremen Umgebungsbedingungen kann sich, sowohl bei primären als auch bei sekundären Infektionen, das fakultativ anaerobe Bakterium *E.faecalis* ausbreiten, indem es in solchen Stresssituationen in eine Ruhephase eintritt und seine Zellwand modifiziert. Klinisch äußert sich seine Anwesenheit häufig durch persistierende endodontische Infektionen [47,139,144,145,157,161,174,175,206]. Als alleiniger Pathoorganismus besitzt es jedoch noch keinen hohen Krankheitswert und kann im Rahmen einer Monoinfektion in infizierten Wurzelkanälen bis zu sechs Monate lang überleben. Es verursacht dabei allerdings nur eine schwache periapikale Entzündung. Treten dagegen synergetische Effekte mit gram-negativen Bakterien auf, die insbesondere durch deren Endotoxine an der äußeren Zellmembran zustande kommen, kann dies fatale Auswirkungen auf das Infektionsgeschehen zeigen und periapikale Entzündungen größeren Ausmaßes mit den typischen Schmerzen hervorrufen. Persistierende, nicht heilende Läsionen werden daher häufiger von Mischinfektionen als von Monoinfektionen begleitet [44,75,161].

2.4 Schmierschicht

2.4.1 Entstehung und Definition der Schmierschicht im Wurzelkanal

Während der Wurzelkanalaufbereitung entsteht sowohl bei der manuellen als auch bei der maschinellen Technik, hier allerdings in etwas geringerer Menge, an der Kanalwandoberfläche eine Schmierschicht aus organischen und anorganischen Komponenten. Man unterscheidet einen circa 0,5-2,0 µm dicken äußeren Anteil und einen inneren Anteil, der die Dentinkanälchen bis in eine Tiefe von etwa 40 µm penetriert. Beide Schichten setzen sich annähernd gleich zusammen, nämlich aus einer Mischung von anorganischen Dentinpartikeln, organischen Resten von nekrotischem oder vitalem Pulpagewebe, Fragmenten von Odontoblastenfortsätzen, Mikroorganismen und Blutzellen. Mikroskopisch besteht die Schmierschicht typischerweise aus einer ungeordneten Mischung von Kollagen, dem amorphen Anteil der Schmierschicht, und Mineralien als granulären Anteil [1,14,66,91,179,182,183,189,192].

2.4.2 Eigenschaften und Funktion der Schmierschicht

Über die Belassung oder Entfernung der Schmierschicht wird in der Fachwelt kontrovers diskutiert. Der Vorteil einer Schmierschicht besteht sicherlich darin, die Anheftung der Bakterien an der Dentinoberfläche und deren anschließendes Eindringen in die Dentinkanälchen physikalisch weitgehend zu verhindern. Allerdings muss diesbezüglich auch erwähnt werden, dass eine vorhandene Schmierschicht die Bakterieninvasion lediglich verzögert, indem sie die Dentinpermeabilität um bis zu 78,5 % herabsetzt [91], sie aber nicht völlig unterbinden kann [89,95,99]. Auch der Durchtritt von Stoffwechselprodukten der Bakterien wird vermutlich zwar eingeschränkt, die ausgeschiedenen Säuren können aber die Schmierschicht auflösen und die Dentinkanälchen auf diese Weise wieder für die Bakterieneinwanderung öffnen. Dennoch leistet die Schmierschicht, die bei jeder Art der Präparation von Zahnhartsubstanz entsteht, bei vitalen Zähnen auch eine gewisse Schutzfunktion gegenüber Flüssigkeitsbewegungen durch das Dentin hindurch zur Pulpa, auf denen letztlich der Mechanismus der Dentinsensibilität beruht [58,64,107]. Als Nachteil bei

der Wurzelkanalbehandlung ist jedoch zu sehen, dass gleichzeitig das Eindringen von antibakteriellen Desinfektionsmitteln in tiefere Wurzelzementinschichten erschwert und dadurch die Elimination bereits in die Dentinkanälchen eingewanderter Bakterien verschlechtert wird. Außerdem steht eine Schmierschicht der dichten Anlagerung von Sealer und Wurzelfüllmaterial an die Wurzelkanalwand im Wege, da sie die Diffusion von kleinen und großen Molekülen in die oberflächlichen Dentinareale nicht erlaubt [26,106]. Daher ist es ratsam, die Schmierschicht nach der Aufbereitung des Wurzelkanals zu entfernen, um die Diffusionsfähigkeit der Desinfektionsmittel in die Dentinkanälchen zu verbessern, zumal diese häufig auch selbst mit Bakterien infiziert ist [8,14,21,58,78,132,179,204].

2.4.3 Entfernung der Schmierschicht

Derzeit werden zur Entfernung der Schmierschicht sowohl chemische als auch mechanische Verfahren, ER:YAG-Laser (Verdampfung von Gewebe) und Ultraschalltechniken angewandt. Als Reinigungslösungen werden dabei Säuren bevorzugt, weil sich die kleinen Partikel der Schmierschicht mit ihr gut von der Kanalwand lösen lassen [14,183]. Am häufigsten im klinischen Alltag eingesetzt werden Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) oder Zitronensäure und Natriumhypochlorit (NaOCl). Die Zitronensäure entfernt die Schmierschicht und spült Bakterientoxine aus dem infizierten Dentin aus. EDTA löst vor allem anorganische Auflagerungen auf. NaOCl zersetzt nekrotisches und vitales Gewebe, vor allem das Kollagen, besitzt antimikrobielle Eigenschaften und dient als Gleitmittel bei der Instrumentierung [70]. Durch den Ätzzvorgang der Dentinoberfläche bei der Schmierschichtentfernung werden die Schmierschichtplugs aus den Dentinkanälchenöffnungen herausgelöst und das Kollagenetzwerk freigelegt, so dass die Dentinkanälcheneingänge größtenteils geöffnet sind. Durch die Säureeinwirkung verliert das Kollagen seine Faserstruktur und wird denaturiert, wobei auch die geordnete Helixstruktur der Kollagenfibrillen verloren geht. Nur teilweise denaturiertes Kollagen kann ebenso wie die Mineralien nicht vollständig entfernt werden, so dass sich das dann ungeordnete Kollagen als eine gelartige Matrix um die zurückgebliebenen Mineralien lagert und die intertubuläre Dentinoberfläche dadurch weich erscheint. Der Mineraliengehalt des Dentins nimmt jedoch durch die Säurebehandlung beträchtlich ab, wodurch wiederum auch die physikalischen und mechanischen Eigenschaften des Dentins verändert werden. Der mittlere Durchmesser der Dentintubulieingänge erhöht sich dabei von

1,5 µm auf 4,0 µm. Gleichzeitig nimmt die Dentinpermeabilität um das Fünffache zu und erleichtert zusätzlich sämtliche Diffusionsvorgänge [134,179,192].

Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass 20 % der infizierten Zähne nach einer Spülung mit Zitronensäure und NaOCl immer noch Bakterienkolonien enthalten. Als Grund dafür wird eine mangelhafte Benetzung der Kanalwände angenommen, bedingt durch die relativ hohe Oberflächenspannung dieser Substanzen [16]. Während im zervikalen und medialen Wurzelkanaldrittel die vollständige Schmierschichtentfernung von der Kanalwand meist problemlos gelingt, wird im apikalen Drittel teilweise noch eine Schmierschicht zurückgelassen, wobei unterschiedliche Einwirkzeiten von einer, drei und fünf Minuten dabei keine größere Rolle zu spielen scheinen. Was die Applikationform der Spüllösung anbelangt, eignet sich die Spritzentechnik meist besser als niedrige Ultraschallenergie, da die Spritzentechnik verglichen mit der Ultraschalltechnik eine bessere taktile Kontrolle der Injektionstiefe und -volumina erlaubt [188]. Im Gegensatz dazu verbessert eine zusätzliche passive Ultraschallaktivierung nach einer Handaufbereitung des Wurzelkanals die Entfernung von Debris deutlich, so dass gegenüber der rein manuellen Spül- und Aufbereitungstechnik statt rund 30 % Debris nur noch circa 15 % im Wurzelkanal zurückbleiben [26]. Durch die mechanischen Ultraschallbewegungen, die unter Aufwendung von hohen Energiemengen mittels dünner, frei schwingender Feilen der Größe ISO 15 im Wurzelkanal erzeugt werden, entsteht Wärme, die die Wirksamkeit des NaOCl nochmals in etwa um den Faktor 100 verbessert, da die Lösung bei 40 °C in ihre verschiedenen Spaltprodukte dissoziiert [162,188,204]. Außerdem bewirken die oszillierenden Bewegungen bei der Ultraschallspülung ein Zu- und Abnehmen des hydrostatischen Druckes im Wurzelkanal. Dabei bilden sich Gasblasen, die das Chlorid aufnehmen und verteilen und gleichzeitig den Debris in Richtung Wurzelkanalausgang treiben [108].

Die Wirkungsweise des EDTA beruht auf einer Chelatreaktion mit den anorganischen Bestandteilen des Dentins, also den Kalziumionen im Hydroxylapatit, und ist damit vor allem abhängig von der Kontaktzeit mit dem Dentin. Diese Reaktion führt zu einer Freisetzung von Wasserstoffprotonen, wodurch der pH-Wert in der Umgebung in den stark sauren Bereich absinkt und die Chelationen in einem selbst-limitierenden Effekt verbraucht werden. Innerhalb von sieben Stunden stellt sich bereits mit bis zu 73 % der verfügbaren anorganischen Dentinkomponenten ein Gleichgewicht ein [26,59,99]. Auch die Dentindemineralisation limitiert sich selbst, indem sich während der fortlaufenden Demineralisation die zurückbleibende organische Matrix auf der Kanalwandoberfläche

ablagert und somit eine weitere Auflösung der anorganischen Dentinkomponenten verhindert. Da EDTA jedoch auch die Makrophagen des wirtseigenen Abwehrsystems inhibiert und im Zuge dessen die Entzündungsmechanismen bei periradikulären Läsionen verändert, sollte ein Überpressen der Spüllösung in das periapikale Gewebe vermieden werden, um dessen Ausheilung nicht zu gefährden, beziehungsweise dieses durch gewebetoxische Reaktionsprodukte des EDTA erst gar nicht zu schädigen [14,26,52,99,183].

Crumpton et al. [26] führten quantitative Analysen zur benötigten Menge an 17 % EDTA für eine effektive Entfernung der Schmierschicht nach maschineller Wurzelkanalaufbereitung durch und sprachen sich für eine Kombination aus EDTA und NaOCl aus. Sie empfehlen zuerst eine Spülung mit 1 ml 17 % EDTA, das für ein bis drei Minuten im Wurzelkanallumen belassen werden sollte, und danach eine Abschlusspülung mit 3 ml 5,25 % NaOCl. Bereits eine Einwirkzeit von zehn Minuten verursacht nämlich sowohl bei Verwendung von EDTA als auch bei Zitronensäure, Tetracyclin und Phosphorsäure ausgeprägte Erosionen, die infolge einer Demineralisation des peritubulären und intertubulären Dentins zum Bruch von intertubulären Septen führen. Deshalb sind ihrer Meinung nach drei Minuten Einwirkzeit völlig ausreichend, zumal auch berücksichtigt werden sollte, dass durch die Anwendung von 5 % NaOCl als Abschlusspülung weitere Veränderungen des Kollagens hervorgerufen werden können. Außerdem führt die Oxidationsreaktion zwischen NaOCl und EDTA zu einem sehr langsam fortschreitenden Abbau der EDTA-Verbindungen. Die Komplexierungseigenschaften des EDTA werden dadurch jedoch in einer klinisch relevanten Zeit nicht eingeschränkt [52].

Nakashima und Terata [99] fanden heraus, dass die Permeabilität des Wurzeldentins nach Behandlung mit EDTA-Lösungen von 3 % und 15 % in gleichem Maße ansteigt, so dass angenommen werden kann, dass die Permeabilität nicht wesentlich durch die Beschaffenheit des erweichten, demineralisierten peri- und intertubulären Dentins und den Grad der Dentinkanälchenöffnung beeinträchtigt wird. Daher erscheint für die klinische Anwendung eine 3 % EDTA-Lösung als ausreichend und sinnvoll, da EDTA mit einer Konzentration von 15 % das benachbarte Dentin erheblich stärker demineralisiert und erweicht [143].

Bis heute steht allerdings noch keine Spüllösung zur Verfügung, die sowohl die organischen als auch die anorganischen Bestandteile der Schmierschicht sicher entfernen kann. Sowohl ein neu entwickelter Medikamentenmix, der unter dem Namen MTAD gehandelt wird, als auch EDTA lassen geringe Mengen an organischem Material an der Wurzelkanaloberfläche

zurück [14]. Deshalb wird in der Praxis meist eine Kombination aus EDTA, welches das Dentin demineralisiert, und NaOCl, das hauptsächlich die organischen Pulpareste auflöst, eingesetzt. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Qualität der Schmierschichtentfernung von der verwendeten Spüllösung, deren pH-Wert und der Einwirkzeit, weniger jedoch vom applizierten Spülvolumen abhängt. Für eine Spülung mit 17 % EDTA ist ein Applikationsvolumen von 1 ml und eine Einwirkzeit von einer Minute ausreichend [26,52,188].

2.5 Desinfektionsmittel

Die ersten experimentellen Studien, in denen verschiedene Desinfektionsmittel bezüglich ihrer gewebeauflösenden Eigenschaften gegeneinander getestet wurden, führte Louis Grossman um das Jahr 1940 durch. Schon kurze Zeit später postulierte er, dass der mechanischen Aufbereitung eine Wurzelkanalspülung folgen sollte, um Reste von Pulpagewebe und Dentinspänen herauszuwaschen [10,137].

Das ideale Desinfektionsmittel besitzt aus heutiger Sicht ein breites antimikrobielles Wirkspektrum, auch gegen obligat und fakultativ anaerobe Bakterien in Biofilmen, sowie gewebeauflösende Eigenschaften. Es sollte eine niedrige Oberflächenspannung aufweisen, so dass auch in weniger zugänglichen Bereichen eine gute Verteilung gewährleistet ist. Außerdem sollte es eine Schmierfunktion erfüllen, um die Kanalwände für die Instrumentierung gleitfähig zu machen, denn eine trockene Kanalwandoberfläche würde das Penetrationsverhalten der Desinfektionsmittel einschränken. Schließlich sollte es dazu imstande sein, Endotoxine zu neutralisieren oder zu deaktivieren sowie die Schmierschicht zu entfernen beziehungsweise deren Entstehung sogar zu verhindern. Gleichzeitig ist aber auch zu fordern, dass es nicht toxisch gegenüber periapikalem Gewebe oder sogar systemtoxisch wirkt und keine allergischen Reaktionen auslöst [6,16,39,41,104,131,158,193,204].

Jede Spüllösung, auch ohne desinfizierende Zusätze, genügt generell dem Anspruch, losen Debris aus dem Wurzelkanal herauszuschwemmen, wobei die Art der Spüllösung weniger relevant erscheint als die Aufbereitungsgröße des Kanallumens, der Durchmesser der Applikationsnadel und die Penetrationstiefe [1,45,50]. Die Nähe der Spülnadel zum Apex spielt dabei ebenfalls eine wichtige Rolle, da sie Kontakt mit dem Abtragsmaterial haben muss, um eine effiziente Spülwirkung zu erzeugen. Khademi et al. [75] kamen in ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass für eine effektive Spülwirkung im apikalen Wurzelkanaldrittel eine Mindestgröße der apikalen Masterfeile von ISO 30 notwendig ist. Mit Feilengröße ISO 25 können zwar bereits 75 % der Schmierschicht und des Debris entfernt werden, aber erst ab ISO 30 wird annähernd eine 100 % Reinigungswirkung erreicht. Feilen mit einer Größe von mehr als ISO 40 dagegen schwächen die Stabilität der Wurzel unnötig und bergen die Gefahr von Perforationen und der Stufenbildung. Daher sollte in der Regel eine Aufbereitung des Wurzelkanals bis Feilengröße ISO 40 angestrebt werden. Denn je größer die apikale Masterfeile gewählt wird, desto effektiver gelingt die Bakterienreduktion,

da durch die Größe der apikalen Masterfeile auch die Größe der Spülnadel bestimmt wird [141]. Außerdem kann durch die Verwendung größerer Endfeilen auch eine Vielzahl von Wandunregelmäßigkeiten in den Aufbereitungsvorgang eingeschlossen werden. Gleichzeitig wird auf diese Weise das apikale Wurzelkanaldrittel besser in den Spülvorgang miteinbezogen [141,158,198]. In gewissen Grenzen kann die Aufbereitungsgröße des Kanaldurchmessers jedoch auch vernachlässigt werden, wenn der Durchmesser der Spülkanüle zugunsten der Strömungsverhältnisse um ein bis zwei Größen kleiner als die Masterfeile gewählt wird und dann idealerweise bis 1-2 mm vor den Apex eingeführt werden kann, da die Spülwirkung nur 1 mm über die Nadelspitze hinausreicht. Ein Durchmesser der Spülnadel von 300-400 μm ist deshalb als günstig einzustufen. Zudem kann auch das Nadeldesign die Spülwirkung beeinflussen [1,151,158,177,180,182,198,204]. Die Reinigungswirkung selbst kommt schließlich in erster Linie durch eine Schaumbildung sowie einen Hin- und Rückfluss der Spüllösung zustande, was als Microstreaming bezeichnet wird [49]. Die Spülung sollte daher immer mit drucklosen Auf- und Abbewegungen durchgeführt werden. Eine Bewegung der Spülflüssigkeit mit einer Feile oder einem Lentulo verbessert dabei insbesondere die Spülwirkung im apikalen Wurzelkanaldrittel, indem dort Luftblasen vermieden werden [5,179]. Einen ganz entscheidenden Einfluss auf die Reinigungswirkung der Desinfektionsmittel nimmt aber auch die Wurzelkanalmorphologie, wie das Vorhandensein von Resorptionsdefekten, Seitenkanälen oder Kanalverengungen [26,177].

Eine Ultraschall-Applikation führt in Abhängigkeit von der Applikationszeit, ähnlich wie bei der Schmierschichtentfernung, fast immer zu einer noch besseren physikalischen und chemischen Reinigungswirkung als die konventionelle Spritzen-Applikation [66,97,108,153]. In engen und gekrümmten Kanälen jedoch bringt eine Ultraschall-Behandlung keinerlei Vorteile mehr, weil die Feile dort nicht frei schwingen kann, so dass sich die Reinigungsergebnisse im apikalen Wurzelkanaldrittel dann auch nicht mehr wesentlich voneinander unterscheiden [147]. Eine antimikrobielle Zusatzkomponente unterstützt die Zerstörung von Mikroorganismen und die Neutralisation ihrer Stoffwechselprodukte, wobei allerdings die Desinfektionswirkung mit der zunehmenden Tiefe der Dentinschichten abnimmt [132,155,198]. Die antimikrobielle Aktivität der Desinfektionsmittel ist dabei *in vitro* abhängig vom pH-Wert des Probenmaterials und des Nährmediums, der Sensitivität des Medikaments, der Anzahl der Bakterien, der Inkubationsdauer und der Stoffwechselaktivität der Bakterien. *In vivo* korreliert die Wirkungsdauer eines Medikaments außerdem mit der Temperatur, dem Kontaminationsgrad und eventuell vorhandener Abflussmöglichkeiten des

Desinfektionsmittels im Mund [6,39]. Außerdem können Interaktionen mit organischen Gewebekomponenten, Gewebsflüssigkeiten, Blut und vor allem organischen und anorganischen Dentinkomponenten die Wirksamkeit der antibakteriellen Spüllösungen zum Teil erheblich herabsetzen [149,204]. Erst ab einem Spülvolumen von 6 ml tritt ein deutlich Bakterien-reduzierender Effekt ein. Häufige Zwischenspülungen dienen schließlich auch dazu, einer Akkumulation des Abtragsmaterials im Wurzelkanal vorzubeugen [45,141,183,188,193]. Für das gesamte Spülvolumen am Ende des Aufbereitungsvorganges werden daher mindestens 3-6 ml Spülvolumen empfohlen [45,141,183,188].

2.5.1 Natriumhypochlorit (NaOCl)

Natriumhypochlorit (NaOCl) weist ein breites Wirkungsspektrum gegen vegetative, sporenbildende und säurefeste Bakterien, Pilze, Protozoen und Viren auf. Seine gewebeauflösende Wirkung (0,3-0,5 mg/min) wird beeinflusst durch die Frequenz der Bewegungen der Lösung, dem Verhältnis von organischen Materialien zu Desinfektionsmittel und der Größe der Gewebeoberfläche, wobei die Auflösungsgeschwindigkeit von der Konzentration und weniger von der Einwirkzeit abhängig ist [50,102,103]. Als Nachteile sind die hohe Toxizität, das Unvermögen, auch die Schmierschicht im gleichen Arbeitsgang zu entfernen, sowie sein schlechter Geschmack zu nennen. Eine vermehrte Korrosion der Aufbereitungsinstrumente, insbesondere bei höheren Konzentrationen, ist ebenfalls als nachteilig zu bewerten [50,59,143,187].

NaOCl reagiert mit Wasser zu hypochloriger Säure. Diese enthält aktivierte Chloride (OCl^- mit einem $\text{pH} = 9$ und HOCl mit einem pH -Wert von 4 bis 7), welche als starke Oxidationsmittel fungieren. Durch eine irreversible Oxidation der Sulfhydryl-Gruppen werden essentielle Bakterien-Enzyme blockiert und so der bakterielle Zellstoffwechsel lahmgelegt. Gleichzeitig wird auch das Dentin deproteiniert. Oxidradikale zerlegen die Proteine in lange Peptidketten und chlorieren die Endgruppen zu N-Chloraminen, die daraufhin abbrechen. Sowohl ein direkter Kontakt des NaOCl zu den Mikroorganismen als auch die toxischen, im Zytoplasma gebildeten N-Chloramin-Verbindungen sorgen für eine Zerstörung der Mikroorganismen. Durch den Kontakt mit organischem Material werden die Chloride innerhalb von zwei Minuten verbraucht und die antibakterielle Aktivität des NaOCl herabgesetzt [6,38,39,102,153,158,188,204]. Die Wirksamkeit des Natriumhypochlorits

nimmt dabei unter der Voraussetzung eines konstanten pH-Wertes proportional zur Konzentration zu. Außerdem beeinflussen die Temperatur der Lösung sowie der Gehalt an organischen Bestandteilen im Gewebe das Desinfektionsergebnis [15]. Ein häufiger Austausch des Desinfektionsmittels während der gesamten Aufbereitung sollte immer stattfinden, weil nur so gewährleistet ist, dass auch ausreichend große Mengen an Chloriden in den Wurzelkanal eingebracht werden können, zumal NaOCl ein relativ schlechtes Penetrationsverhalten und eine kurze Halbwertszeit aufweist, so dass bei einer zusätzlich kurzen Verweildauer keine zufriedenstellende Desinfektionswirkung in den Dentintubuli, Seitenkanälchen und apikalen Ramifikationen erzielt werden kann [104,155].

Bezüglich der idealen Konzentration der NaOCl-Lösung für die klinische Anwendung herrscht innerhalb der Zahnärzteschaft auch heute immer noch weitgehend Uneinigkeit. Schon vor langer Zeit wies Koch darauf hin, dass die Desinfektionswirkung der damals verwendeten milden Phenole und ebenso des Hypochlorits, das durch Dakin und Crane bekannt geworden war, abhängig sei von der Konzentration und Einwirkzeit der Substanzen [10,137]. Im Jahre 1919 wurde NaOCl als 0,5 %-Lösung erstmals von Coolidge in der Endodontie eingesetzt, 1936 erhöhte Walker die Konzentration dann bereits auf 5,0 % [104,108,155,158].

Untersuchungen von Beltz et al. [14] zufolge sind sowohl 5,25 % NaOCl als auch 2,6 % NaOCl imstande, innerhalb von zwei Stunden über 90 % eines pulverisierten und lyophilisierten Pulpagewebes aufzulösen. 1,3 % NaOCl wirkt etwas langsamer, zersetzt aber bei geringerer Toxizität bei gleicher Einwirkzeit immerhin noch 83 % des Pulpagewebes. Isotone Kochsalzlösung, 17 % EDTA und MTAD erreichen für das Pulpagewebe ebenfalls noch Auflösungsraten von rund 49-62 %. Anders verhält es sich dagegen beim Auflösungsvermögen für lyophilisiertes Dentinpulver. Hier liegen die verschiedenen NaOCl-Lösungen mit Auflösungswerten von rund 22 % für 5,25 % NaOCl, 18 % für 2,6 % NaOCl und 12 % für 1,3 % NaOCl deutlich hinter dem Ergebnis von 17 % EDTA mit über 70 % Auflösungsrate zurück. Isotone Kochsalzlösung und MTAD zersetzen das Dentinpulver praktisch nicht. Nach Auffassung von Spangberg et al. [166] ist 5,25 % NaOCl jedoch für den Routineeinsatz im klinischen Alltag nicht geeignet, da es beim Überpressen dieser hoch konzentrierten Spüllösung in das periapikale Gewebe zu massiven Gewebeschädigungen kommen kann, die mit Schmerzen, Schwellungen und gelegentlich sogar Gewebenekrosen einhergehen können [5,20,162]. Zudem verändert das NaOCl durch seine proteolytische Aktivität gegenüber der Kollagenmatrix die Elastizitätseigenschaften des

Dentins [204]. 0,5 % NaOCl ist dagegen nach Meinung von Ohara et al. [101] und Gomes et al. [50] für die Anforderungen in der Endodontie zu schwach. Insgesamt konnte bei den drei gängigsten NaOCl-Konzentrationen von 1,0 %, 2,5 % und 5,25 % eine signifikante Reduzierung der Bakterienanzahl im Wurzelkanal festgestellt werden. Wesentliche Unterschiede in der Desinfektionswirkung hinsichtlich der Konzentrationen konnten allerdings nur im Agar-Diffusionstest beobachtet werden [131,155,204].

2.5.2 Chlorhexidindigluconat (CHX)

CHX ist eine starke Base und in seiner Salzform (ursprünglich Chlorhexidinacetat und Hydrochlorid, jetzt Chlorhexidindigluconat) äußerst stabil und nur wenig wasserlöslich [204,205]. Es besitzt in seiner Molekülstruktur eine positive Ladung und bindet an die negativ geladenen Phosphatgruppen des Hydroxylapatits im Dentin beziehungsweise die anionischen Strukturen in der Zellwand von Bakterien und verursacht dadurch eine Mikrodurchlässigkeit der Zellmembran für intrazelluläre Komponenten. In niedrigen Konzentrationen wirkt CHX bakteriostatisch, indem Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht aus der Bakterienzelle herausdiffundieren können, und in hohen Konzentrationen bakterizid, indem eine Koagulation und Präzipitation des Zytoplasmas hervorgerufen wird, so dass schließlich der Zelltod der Mikroorganismen eintritt [51,87,187]. CHX ist wirksam gegen die meisten gram-positiven und gram-negativen Bakterienarten sowie gegen Pilze. Ausschlaggebend für eine effiziente Wirkung des CHX ist ein direkter Kontakt zu den Bakterien [37,50,51,83,203].

Die Aufnahme des CHX im Dentin bis zur Sättigungskonzentration geschieht jedoch sehr langsam, wodurch eine stufenweise Applikation nötig wird. Die Adsorption des CHX verleiht dem Wurzelkanaldentin anschließend für einen noch nicht exakt definierten Zeitraum antimikrobielle Eigenschaften, indem das CHX sequentiell wieder freigesetzt wird. Am besten beurteilt wurde in mehreren Untersuchungen CHX in Gelform mit einer konstant guten Desinfektionswirkung über 21 Tage hinweg, gefolgt von den CHX-Plättchen. Das CHX-Gel haftet aufgrund seiner hohen Viskosität ausgezeichnet an der Kanalwand und kann bis zu 400 µm in die Dentinkanälchen eindringen [51,87,187]. Bei längerfristiger Anwendung führt CHX jedoch zu einer Dentinpigmentierung [158]. In einer Konzentration von 2,0 % wurden zudem Veränderungen der Vickers-Mikrohärte des Dentins noch in einer Schichttiefe von bis zu 1000µm, ausgehend von der Wurzelkanalwand, beobachtet [103].

Eine fehlende gewebeauflösende Wirkung ist gegenüber NaOCl als eindeutig nachteilig zu bewerten, da CHX nekrotisches Gewebe zurücklässt und somit den überlebenden Bakterien mehr Nahrung bietet als NaOCl [204]. Außerdem ist die antibakterielle Wirkung des CHX im Dentin verzögert, Serumalbumin verhindert sie völlig [122]. In Studien von Schäfer et al. [132,133] werden in 82 % der Proben die Mikroorganismen durch CHX dennoch vollständig abgetötet. Bis in eine Dentinschichttiefe von 50 µm erzielt seine antimikrobielle Wirkung Desinfektionsraten von 99,9-99,99 %, in 200 µm immerhin noch 90 %.

Die Vorzüge des CHX als antiseptische Mundspüllösung in Konzentrationen von 0,1 % und 0,2 % und für endodontische Zwecke in einer Konzentration von bis zu 2,0 % begründen sich aus seiner ausgezeichneten Eignung als Breitbanddesinfektionsmittel bei gleichzeitig relativ geringer Toxizität [103,125,133]. CHX wird insbesondere bei einer Revision der Wurzelkanalfüllung als Desinfektionsmittel eingesetzt, wenn der Kanal von *E.faecalis*, in 33 % der Fälle sogar in Form einer Monoinfektion, besiedelt worden ist [125,160]. *E.faecalis* ist gegenüber den meisten intrakanalär injizierten Medikamenten, vor allem Ca(OH)₂, resistent und kann bis zu zehn Tage lang im Wurzelkanalsystem überleben, wobei die pulpakammernahen Bakterien zuerst beginnen abzusterben [106,128]. Auf CHX hingegen reagieren nach mehreren Tagen Einwirkzeit sowohl *E.faecalis* als auch *C.albicans* und andere schwer zu bekämpfende Mikroorganismen empfindlich, so dass eine längere Applikationszeit gerechtfertigt erscheint [85]. Bei Verwendung einer 2,0 % CHX-Lösung sind laut Schäfer et al. [132] nach 48 Stunden 70-80 % der Wurzelkanäle frei von Mikroorganismen. In einer Studie von Siqueira et al. [149] ergab die Untersuchung der am häufigsten verwendeten Desinfektionsmittel, sortiert nach ihrer Wirksamkeit, schließlich folgende Reihenfolge: NaOCl 4,0 % – NaOCl 2,5 % – CHX 2,0 % – CHX 0,2 % – EDTA 17 % – Zitronensäure 10 % – NaOCl 0,5 %.

Vahdaty et al. [187] fanden dagegen heraus, dass NaOCl und CHX in den jeweils gleichen Konzentrationen von 0,2 % beziehungsweise 2,0 % in den ersten 100 µm der Dentinkanälchen gleich gut wirksam sind, da sich die antibakterielle Wirkung immer direkt proportional zur Konzentration des Desinfektionsmittels verhält. Für das Vordringen in tiefere Schichten reichte vermutlich die gewählte Einwirkzeit nicht aus, so dass bei 35-50 % der Dentinproben bei beiden Substanzen Infektionskeime im Wurzelkanal zurückblieben. Auch Estrela et al. [39] kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass sowohl 2,5 % NaOCl als auch 2,0 % CHX nach einer 20-minütigen Desinfektion nur insuffizient gegen *E.faecalis* eingesetzt werden konnten. Sofort nach der Injektion zeigte NaOCl die beste antibakterielle Wirkung,

danach verlor es schnell an Aktivität, wenn keine freien Chloride mehr vorhanden waren. Nach ein bis vier Wochen erreichte CHX signifikant bessere Desinfektionsergebnisse, weil es von Hydroxylapatit absorbiert werden kann [76]. Weber et al. [193] ermittelten für 2,0 % CHX nach mehr als sieben Tagen Behandlungsdauer noch eine antimikrobielle Restaktivität, die die Wirkung des 5,25 % NaOCl deutlich übertraf. NaOCl verfügte dagegen nach 72 Stunden mit Ultraschall-gestützter Abschlusspülung und nach 48 Stunden mit manueller Spültechnik über keine antibakterielle Aktivität mehr. Gomes et al. [51] konnten diese Beobachtungen sogar für einen erweiterten Zeitraum von 30 Tagen bestätigen. Folglich kann also die Effektivität beider Desinfektionslösungen bei Verwendung eines Ultraschallgerätes durch Erwärmung der Spüllösung und einem intensivierten Mikrostreaming nochmals deutlich verbessert werden, so dass die Konzentration zugunsten einer geringeren Toxizität dann sogar noch etwas niedriger gewählt werden kann [204]. Sirtes et al. [162] konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, dass die Effektivität einer NaOCl-Lösung bei Erwärmung um 25 °C um das Hundertfache gesteigert werden kann, so dass eine 1,0 % NaOCl-Lösung von 45 °C ebenso wirksam ist wie eine 5,25 % NaOCl-Lösung von 20 °C. Ähnliche Ergebnisse erzielten Evanov et al. [41] in einer Studie mit CHX.

CHX scheint also für die Desinfektion der Dentintubuli und für die Verwendung als intrakanaläres Medikament bestens geeignet zu sein. Eine zusätzliche CHX-Spülung reduziert die Bakterienanzahl nach der Aufbereitung beträchtlich, erreicht aber auch keine 100 % Keimfreiheit im Wurzelkanalsystem. Auf alle Fälle kann CHX aber für mindestens 72 Stunden einen Schutz gegen eine Reinfektion bieten [43,83,202]. Für die Zukunft erhofft man sich daher, bald vielleicht sogar auf eine Zwischeneinlage mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ganz verzichten zu können, wenn es gelingen sollte, in Verbindung mit CHX ein wirkungsvolles Kombinationspräparat zu entwickeln. So erweist sich zum Beispiel eine Kombination aus CHX und NaOCl, verglichen mit den jeweils einzeln verwendeten Desinfektionsmitteln, als sehr effizient und erzielt eine Reduktion der Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem um 85 %, gegenüber 70 % bei CHX und 60 % bei NaOCl als alleinige Desinfektionslösungen [193]. Als abschließendes Fazit kann schließlich festgehalten werden, dass die Desinfektion auch mit Hilfe der stärksten antimikrobiellen Substanzen in Abhängigkeit von der Konzentration des Desinfektionsmittels sowie der bakteriellen Ausgangssituation und des umgebenden Milieus eine angemessene Einwirkzeit braucht [104].

2.5.3 Andere Desinfektionsmittel

Medikamentöse Zwischeneinlagen haben die Aufgabe, ergänzend zur chemomechanischen Aufbereitung, die Kontamination des Wurzelkanals mit Bakterien zu kontrollieren. Zum einen sollen diese Medikamente die Mikroflora in Kanalabschnitten, die bei der Aufbereitung und Spülung nicht erreicht worden sind, reduzieren beziehungsweise deren Ausbreitung verhindern, und zum anderen eine Reinfektion des Wurzelkanalsystems bei undichten koronalen oder periapikalen Abschlüssen unterbinden [13].

2.5.3.1 Kalziumhydroxid

Die positiven Eigenschaften des Kalziumhydroxids (Ca(OH)_2) liegen in seiner antibakteriellen Wirksamkeit, der Fähigkeit zur Gewebeauflösung, der Verhinderung von Wurzelresorptionen und der Induktion einer Hartgewebsbildung begründet [87,149].

Die Wirkung des Kalziumhydroxids basiert vorwiegend auf seinem hohen alkalischen pH-Wert von 12,5, wodurch die Zellmembranen und Proteinstrukturen zerstört werden und somit das Wachstum und Überleben vieler Bakterien unmöglich gemacht wird. Ca(OH)_2 verändert zudem die Eigenschaften der bakteriellen Lipopolysaccharide in der Zellwand gram-negativer Bakterienarten, wobei es zu einer Neutralisation kommt und die Transportmechanismen ihrer Zellmembranen mit der Folge des Zelltodes inaktiviert werden. Der antibakterielle Effekt hängt dabei von der Geschwindigkeit der Dissoziation in die ionischen Einzelkomponenten und der Höhe des pH-Werts in der Umgebung ab [133]. In ihrer überwiegenden Zahl reagieren die Mikroorganismen empfindlich auf Kalziumhydroxid, mit Ausnahme von *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces radidentis* und *Candida albicans* [42,120]. Als relativ Therapie-resistente Bakterienstämme gelten außerdem die Streptokokken, Staphylokokken, Fusobakterien, Peptostreptokokken und Lactobazillen, denn die gram-positiven Bakterienarten sind mit antimikrobiellen Mitteln schwerer zu eliminieren als gram-negative Bakterien [171,176]. Eine fehlende Wirkung des Ca(OH)_2 in tieferen Dentinschichten muss daher letztendlich auf eine mangelnde Penetrationsfähigkeit und einen Puffereffekt des Dentins zurückgeführt werden [27]. In vivo führt die Absorption von Kohlendioxid durch das Kalziumhydroxid dennoch zum Absterben der anaeroben Bakterien, so dass für eine antibakterielle Wirkung nicht unbedingt ein direkter Kontakt des

Medikaments zu den Mikroorganismen nötig ist [51]. Wird zusätzlich ein direkter Kontakt zu den Bakterien hergestellt, tötet es die meisten Mikroorganismen innerhalb von 5 bis 60 Minuten ab [54]. Bei Primärinfektionen werden mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ gute Desinfektionsergebnisse erzielt, so dass nur bei 10-20 % der behandelten Zähne noch eine persistierende Infektion aufrechterhalten bleibt. Im Revisionsfall hingegen scheint es weniger geeignet zu sein. Hier weisen 20-50 % der untersuchten Zähne persistierende Infektionen auf [120]. Auch bei einer Langzeitanwendung von mehr als drei Wochen ist Vorsicht geboten, da durch die Bindung der Kalziumionen an das Dentin eine vermehrte Dentinerweichung mit der Folge von Wurzelfrakturen beobachtet werden kann [5].

2.5.3.2 Chlorphenole

Auch flüchtige Substanzen wie Chlorphenol-Lösung waren vor einiger Zeit schon einmal im Gespräch für die Wurzelkanal-desinfektion. Ursprünglich hatte man sich vorgestellt, dass sich flüchtige Medikamente, wie zum Beispiel die substituierten Phenole, leichter in unzugängliche Nischenbereiche, zu denen vor allem die apikale Wurzelregion und die Dentintubuli zählen, ausbreiten würden und dort in direkten Kontakt mit den Bakterien treten könnten. Es hat sich jedoch gezeigt, dass wässrige Lösungen bessere Diffusionseigenschaften besitzen als ihre flüchtigen Partner. Anhand von Untersuchungen mit Kampfer-mono-chlorphenol (KMCP) konnte nachgewiesen werden, dass 90-95 % der in die Pulpakammer injizierten Menge sich bereits nach nur 24 Stunden verflüchtigt hatte, wobei sich diese 90 % allerdings auf erstmals eröffnete Wurzelkanäle beziehen. Bei wiederholter Applikation nach zwei bis sechs Wochen gehen während desselben Zeitraums nur noch 60 % der Substanz verloren, da in der Zahnhartsubstanz bereits ein Depot gebunden ist, das dann schrittweise freigesetzt werden kann [6,55,94].

Im Gegensatz zu den bakteriziden Chloriden wirken phenolhaltige Desinfektionsmittel außerdem nur bakteriostatisch. Zudem sind sie zytotoxisch und können beim Überpressen in das periapikale Gewebe lokale Entzündungen verursachen. Um die Toxizität des Phenols zu verringern, wurde deshalb der Desinfektionslösung häufig Kampfer als Trägersubstanz zugesetzt. Dadurch konnte zwar die Wirkdauer verlängert werden, allerdings verschlechterte sich im Gegenzug die antimikrobielle Wirksamkeit. Das Kampfer selbst ist seinerseits aber ebenfalls als lokal und systemisch toxisch bekannt [132,165,178,198]. Da sowohl die

Verteilung und die Wirkdauer, als auch die tatsächliche Konzentration und Toxizität flüchtiger Substanzen nur schwer zu kontrollieren sind, ist die Anwendung von Chlorphenol-Präparaten heute nicht mehr indiziert [65,149].

2.5.3.3 Wasserstoffperoxid

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist ein starkes Oxidationsmittel und kann dabei helfen, nekrotisches Gewebe und Dentin-Debris von der Wurzelkanalwand zu lösen, vorausgesetzt, es gelingt ein direkter Kontakt zu vitalem Gewebe, Blut oder Eiter. Dabei kommt es zu einer Schaumbildung, die den Debris in Richtung Trepanationsöffnung aufsteigen lässt. Der hierbei freigesetzte naszierende Sauerstoff tötet dann die anaeroben Bakterien ab [59], führt aber gleichzeitig auch zu einem Druckanstieg im Wurzelkanalsystem, was nach dem provisorischen Verschluss der Zugangskavität erneute Schmerzen auslösen kann. Abwechselnde Spülungen mit NaOCl und H_2O_2 sollten grundsätzlich nicht vorgenommen werden, da sich die Substanzen gegenseitig neutralisieren. Anderen Spüllösungen gegenüber ist diese Kombination in ihrer Wirksamkeit nicht überlegen, weil ein frequenter Flüssigkeitsaustausch verhindert wird [1,101]. Außerdem wurde festgestellt, dass 3,0 % H_2O_2 eine Hämolyse und Gefäßrisse hervorrufen kann [127].

2.5.3.4 Jod- und Ammoniumverbindungen

Jodkaliumjodid- (JKJ) und Ammonium-Präparate wirken ebenso gut antibakteriell wie CHX. Jodlösungen sind wenig toxisch gegen menschliches Gewebe, werden aber oft mit allergischen Reaktionen in Verbindung gebracht, während Allergien gegen NaOCl und CHX sehr selten vorkommen. Eine 1,0 % quartäre Ammonium-Lösung ist dagegen sehr gewebetoxisch. Beide Substanzen sind daher weitgehend aus dem klinischen Alltag verschwunden [35,204].

Eine Studie von Spratt et al. [171] bestätigte, dass NaOCl sowohl nach 15 Minuten als auch nach einer Stunde *E.faecalis* zu 100 % eliminieren konnte, wohingegen eine Jodlösung die

vollständige Desinfektion erst nach einer Stunde Einwirkzeit erreichte. CHX konnte dagegen ihren Ergebnissen zufolge gar keine absolut sichere Desinfektionswirkung erzielen.

2.5.3.5 MTAD

Hinter dieser Abkürzung verbirgt sich eine neuartige Substanzmischung aus einem Tetracyclin-Isomer, einer Säure und einem Emulgatorzusatz (Tween 80 = Polyoxyethylen-sorbitan-monooleat), der die Oberflächenspannung der Lösung herabsetzt und die Penetrationseigenschaften der Lösung verbessern soll [35,142].

Das Doxycyclin, welches in MTAD enthalten ist, besitzt einen niedrigen pH-Wert und eine Antikollagenaseaktivität. Unter anderem ist es verantwortlich für die auch in einer 1:1000-Verdünnung noch hervorragenden bakteriostatischen Eigenschaften des MTAD, die auf eine Hemmung der Proteinsynthese der Bakterien zurückzuführen ist. Nach fünf Minuten Einwirkzeit sind nur noch weniger als 0,1 % der Bakterien aktiv [122]. Eine hohe Bindungsaffinität zu Dentin und Zement ermöglicht außerdem eine schrittweise Wiederfreisetzung des Medikaments, hinterlässt jedoch eine braune Verfärbung im Dentin. Weiterhin induziert es eine Fibroblastenadhäsion und fördert deren Wachstum [143,182,183]. Die demineralisierende Wirkung gegenüber Dentin (67 %) ist dem Zitronensäureanteil des MTAD zuzuschreiben. MTAD verändert dabei die Struktur der Dentinkanälchen nicht wesentlich und verursacht bei einer Einwirkzeit von 1-20 Minuten im Gegensatz zu EDTA auch kaum Dentinerosionen [14,122,184].

MTAD eignet sich daher als Alternative zu EDTA für die abschließende Wurzelkanalspülung nach der chemomechanischen Aufbereitung mit NaOCl, um die Schmierschicht aufzulösen. Gleichzeitig ist es auch ausreichend antibakteriell wirksam gegen *E.faecalis*. Als effektivste Kombination wird MTAD und 1,3 % NaOCl empfohlen [77,122,182].

2.6 Experimentelle Modelle zur Überprüfung antibakterieller Eigenschaften in der Endodontie

Zahlreiche Versuche in der experimentellen Grundlagenforschung, die für die Untersuchung der Wirkung von Desinfektionsmitteln durchgeführt wurden, basieren auf dem Versuchsmodell von Orstavik und Haapasalo, die 1987 und 1990 erstmals aus Rinderfrontzähnen zylindrische Probenkörper hergestellt und mit Bakterien infiziert haben [55,106].

Die Vorbehandlung der Proben umfasst eine Oberflächendesinfektion unmittelbar nach der Extraktion der Rinderzähne mit 0,5 % NaOCl. Am darauf folgenden Tag werden die Zahnkrone und das apikale Wurzeldrittel abgetrennt, die Pulpa exstirpiert und das Kanallumen mit einem Reamer erweitert. Die entstandenen genormten Probenkörper besitzen eine definierte Größe mit einer Höhe von 4,0 mm, einem Außendurchmesser von 6,0 mm und einem Kanalinnendurchmesser von 2,3 mm. An die Schmierschichtentfernung mit 17 % EDTA und 5,25 % NaOCl für jeweils vier Minuten im Ultraschallbad schließt sich eine 15-minütige Sterilisation in destilliertem Wasser in einem Autoklaven bei 121 °C an. Um nach der Sterilisation Nährmedium in die Dentinkanälchen zu treiben, werden die Proben nochmals für zehn Minuten mit Medium im Ultraschallgerät bearbeitet. Die Inkubationszeit für die Infektion mittels einer Bakteriensuspension des *E.faecalis* beträgt drei Wochen bei 37 °C. Für die darauf folgende Desinfektion werden die Probenkörper mit Klebewachs in Petrischalen geklebt und die flüssigen Desinfektionsmittel in das Kanallumen injiziert. Für gasförmige Desinfektionsmittel werden poredichte Container verwendet. Die Einwirkzeit variiert zwischen fünf und zehn Tagen. Danach werden stufenweise 100 µm dicke Dentinzonen mit Rosenbohrern aufsteigender Größe von der Kanalwand abgetragen und die dabei gewonnenen Bohrspäne in Medium resuspendiert. Während der abschließenden siebentägigen Inkubationsdauer wird regelmäßig die Trübung des Mediums, die durch ein Wachstum der Bakterienpopulation hervorgerufen wird, kontrolliert [55].

In Folgestudien modifizierten sowohl Orstavik und Haapasalo selbst, als auch andere Forscher den Versuchsaufbau, um mit der In-vitro-Situation die Verhältnisse in der Mundhöhle wirklichkeitsgetreu nachzuahmen. Ansatzpunkte waren die Gestaltung der Probenkörper, die Schmierschichtentfernung, das Autoklaviermedium, die gewählte Infektions- und Desinfektionsdauer, die verwendeten Bakterienstämme und die getesteten Desinfektionsmittel sowie der Zeitraum für die Überprüfung der Proben auf eine mögliche

Reinfektion. Kaum Veränderungen wurden jedoch an der Abmessung der Probenkörper und der Gewinnung der Dentinspäne durch zirkulären Dentinabtrag vorgenommen.

Bei den anfänglichen Versuchsmodellen wurde vor der Infektion meist noch die Zementschicht von den Probenzylindern entfernt, um die Bakterieninvasion zu intensivieren und zu beschleunigen. Für die anschließende Desinfektion dichtete man dann die Dentinkanälchen wieder mit Nagellack ab [43,55,85]. In zwei Studien [133,150] führte man die Schmierschichtentfernung statt mit EDTA und NaOCl mit 10 % Zitronensäure durch. Die Sterilisation der Proben geschah entweder in sterilem destilliertem Wasser und anschließender Inkubation mit sterilem Nährmedium im Ultraschallgerät [27,55,85] oder direkt im Nährmedium, das für die Bakterienanzüchtung verwendet würde [48,51,81,128,150,161]. Die Infektionsdauer mit einer Bakterien suspension des *E.faecalis* betrug zwischen sechs Tagen [187] und drei Wochen [27,48]. Bei fast allen Versuchen wurde während der gesamten Inkubationsdauer regelmäßig das Nährmedium gewechselt. Abweichend vom Bakterienstamm *Enterococcus faecalis* kamen als Testpathogene noch in zwei Studien *Actinomyces israelii* und *Fusobacterium nucleatum* zum Einsatz [148,150]. Die Dauer der Desinfektionsphase variierte zwischen zwei Minuten [187] und sieben Tagen [27,161]. Zu den getesteten Desinfektionslösungen zählten neben CHX und NaOCl außerdem Ca(OH)_2 , JKJ, CMCP [55,93,148] und Doxycylin-HCl [76]. Die Kontrolle der Dentinproben bezüglich einer Reinfektion erfolgte in den meistens Studien mittels Agar-Bakterienkulturen und umfasste Zeiträume von bis zu 30 Tagen nach der Desinfektion [51,76].

3. Fragestellung

Entwicklung einer In-vitro-Methode zur Prüfung der antibakteriellen Wirkung von Desinfektionsmitteln für die Wurzelkanalbehandlung

Im Einzelnen sollten dabei folgende Fragen beantwortet werden:

- Verfahrenstechnische Einflüsse auf den Infektionsgrad der Dentinkanälchen mit dem Bakterienstamm *Enterococcus faecalis*
- Nachweis der Wirkung bekannter Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von der Konzentration und der Einwirkzeit

4. Material und Methode

4.1 Material

4.1.1 Rinderzähne

Für die geplanten Versuche wurde eine Vielzahl von frisch extrahierten, kariesfreien Unterkieferfrontzähnen benötigt. Da die Dicke der Dentinschicht ausschlaggebend für die Durchführbarkeit der Experimente ist, sollte darauf geachtet werden, dass die Zähne von Rindern stammen, die zwischen drei und fünf Jahre alt waren. Direkt nach ihrer Extraktion wurden die Rinderzähne noch auf dem Schlachthof in 0,5 % Chloramin-T-Lösung eingelegt, um eine oberflächliche Desinfektion zu erzielen und ein Austrocknen der Zahnhartschichten zu verhindern. Die Lagerung im Labor erfolgte bei 7,5 °C im Kühlschrank. Innerhalb der nächsten ein bis vier Wochen wurden die Rinderzähne von anhaftenden Geweberesten des Zahnhalteapparates befreit und anschließend zur weiteren Aufbewahrung in destilliertes Wasser umgesetzt. Die Lagerungsdauer betrug nicht mehr als sechs Monate. Nach der Sterilisation in Nährmedium werden die konservierten Proben bis zur weiteren Verarbeitung nur noch maximal fünf Tage im Kühlschrank aufbewahrt.

4.1.2 Bakterienstamm

Sämtliche Versuche im Rahmen dieser Forschungsarbeit werden mit dem Bakterium *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) vom Typ ATCC 29212 durchgeführt. Die primären tiefgefrorenen Bakterienkulturen stammen aus dem Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene am Klinikum der Universität Regensburg und wurden auf speziellen Glasperlen mit zentralem Hohlzylinder angeliefert, welche bei der Herstellung das Mischen und Homogenisieren der Bakteriensuspension erleichtern sollen [160]. Im nächsten Schritt wurden daraus im eigenen Labor Gefrierkulturen in ausreichender Anzahl hergestellt und bei -78 °C im Gefrierschrank gelagert. Aus diesem Vorrat konnte im weiteren Verlauf für jeden Versuch immer eine frische Portion Gefrierkultur einzeln entnommen und innerhalb von fünf Minuten

aufgetaut werden. Da es sich bei den Gefrierkulturen um ein Bakterienkonzentrat handelt, war zum Ansetzen einer neuen Bakteriensuspension für 25 ml Medium ein Konzentratvolumen von 10 µl ausreichend.

4.1.3 Verwendete Materialien und Geräte

1.) Nährmedien und Standardlösungen:

- TSB-Medium:
 - 17,0 g pankreatisches abgebautes Casein
 - 3,0 g enzymatisch abgebautes Sojamehl
 - 2,5 g Dextrose
 - 5,0 g Natriumchlorid
 - 2,5 g Trikaliumphosphat

→ ergibt, gelöst in 1 Liter destilliertem Wasser, 1 Liter flüssiges Medium;
Fertigmischung; Art.-Nr.: 211825 (Becton & Dickinson, Sparks, USA)

→ Weiterverarbeitung zu Agarplatten : 15,0 g Agar
3,0 g Hefeextrakt

(Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Klinikum der Universität Regensburg)

- NaCl-Lösung 0,9 %: Fertigmischung; Art.-Nr.: 1.06404.1000 (Merck, Darmstadt, D)

- Natriumedetat-Lösung 20 %:
 - 1,4 g Wasser für Injektionszwecke
 - 2,6 g Natriumhydroxid-Lösung 4 %
 - 1,0 g di-Natriumedetat-Dihydrat

→ ergibt 5 ml EDTA-Lösung (Universität Regensburg, Klinikum-Apotheke)

- bidestilliertes Wasser: $\geq 18,2 \text{ M}\Omega$ (aus Aufbereitungsanlage; siehe Gerätschaften)
- Chloramin-T-Lösung 0,5 %: Fertigmischung; Art.-Nr.: 1.02426 (Merck, Frankfurt a. M., D)
- Ethanol : 96 % absolut (Chemikalienausgabe, Klinikum der Universität Regensburg)
 - wird im eigenen Labor noch mit Aqua bidest. zu einer 70 % Lösung verdünnt
- Glutaraldehyd 2 % : → wird im eigenen Labor durch Verdünnung mit Aqua bidest. aus einer 25 % Stammlösung (Serva, Heidelberg, D) hergestellt;
- Hepes-Puffer: Fertigmischung; Cat.No.: 15-884-17 (ICN Biomaterials Inc., Ohio, USA)

- PBS-Puffer: 8,0 g Natriumchlorid (Art.-Nr. 1.06404.1000)
0,2 g Kaliumchlorid (Art.-Nr. 1.04933.0500)
0,2 g Kaliumhydrogenphosphat (Art.-Nr. 533 A 16273)
1,15 g di-Natriumhydrogenphosphat (Art.-Nr. 1.06586.0500)

(alle Einzelkomponenten von Merck, Darmstadt, D)

→ ergibt, gelöst in 1 Liter destilliertem Wasser, 1 Liter flüssige Pufferlösung;

2.) getestete Desinfektionsmittel:

- Hypochlorit-Speiko®: Wirkstoff: Natriumhypochlorit 5,25 % (Speiko, Münster, D)

- NaOCl 1,0 %: 16 g Natriumhypochlorit-Lösung 12,5 %
184 g gereinigtes Wasser

→ ergibt 200 ml NaOCl-Lösung (Universität Regensburg, Klinikum-Apotheke)

- NaOCl 0,5 % + 3,0 %: Lösungen werden durch Verdünnung der 1,0 % beziehungsweise 5,25 % Stammlösungen mit Aqua bidest. im eigenen Labor hergestellt

- Dynexan proaktive Mundspüllösung®: Wirkstoff: Chlorhexidindigluconat 0,2 %
(Kreussler Pharma, D)

- CHX 1,0 %: 17,73 g Ethanol unvergällt 100 %
1,60 g CHX-Lösung 20 %
10,67 g gereinigtes Wasser

→ ergibt 30 ml CHX-Lösung (Universität Regensburg, Klinikum-Apotheke)

3.) Verbrauchsmaterialien:

- Bakterienstamm: *Enterococcus faecalis*, Typ ATCC 29212
(Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Klinikum der Universität Regensburg)
- Cryo.s®: 2 ml, steril (Cellstar® von Greiner Bio-One, Frickenhausen, D)
- Eppendorf-Cups: Microcentrifuge Tubes 1,7 ml, unsteril
(Costar®, Corning, New York, USA)
→ werden vor der Benutzung im Labor in Folie verpackt und in der Sterilbank unter dem UV-Licht (20 min) sterilisiert
- Falcon®: Test Tubes, 50 ml + 15 ml, steril
(Cellstar® von Greiner Bio-One, Frickenhausen, D)
- Petrischalen: Größe 94/16 steril für Gewebekulturen
(Cellstar® von Greiner Bio-One, Frickenhausen, D)
- Einmal-Spritzen: 10 ml Syringe steril (Luer-Lok™ von Becton & Dickinson, Temse, B)
- Einmal-Pipetten: Stripette®; 5 ml, 10 ml, 25 ml, 50 ml; steril
(Costar®, Corning, New York, USA)
- Einmal-Pipettenspitzen: 200 µl gelb + 1000 µl blau (Sarstedt, Nümbrecht, D)
- Einmal-Küvetten: 1,5 ml halbmicro, unsteril (Brand GmbH, Wertheim, D)
→ werden vor der Benutzung im Labor unter dem UV-Licht sterilisiert
- AL-Deckgläschen: 15 x 15 mm (Menzel-Gläser, Braunschweig, D)
- Applikatorbürstchen: Microbrush plus® (Brand GmbH, Wertheim, D)
- Papierservietten: Mehrzwecktücher (Novotex®, Krefeld, D)
- Paladur®: rosafarbenes Kunststoff-Kaltpolymerisat (Heraeus-Kulzer®, Hanau, D)
- President®: Polyvinylsiloxan, regular body /surface activated (Coltène®, Altenstätten, CH)
- RelyX Unicem® Aplicap: dualhärtender, selbstadhäsiver universaler
Composite-Befestigungszement (3M ESPE®, Seefeld, D)
- Aluminiumträger: Stiftprobenteller mit Durchmesser 25 mm (Plano GmbH, Wetzlar, D)
- Hartmetall-Rosenbohrer für Handstück: Größen 006, 008, 010 (Komet®, Lemgo, D)
- Rinderzähne: frisch extrahiert und von Geweberesten gereinigt; Lagerung in
H₂O im Kühlschrank bei circa 8 °C (Zerlegebetrieb Henke, Feuchtwangen, D)

4.) Gerätschaften:

- Anmischgerät für RELY X: Typ „Silamatmix“ (Ivoclar Vivadent, Ellwangen, D)
- Aufbereitungsanlage für destilliertes Wasser: „MilliQUS PLUS“
(Millipore®, Schwabach, D)
- Auflichtmikroskop: Modell M 420 (Wild, Heerbrugg, Schweiz)
- Autoklav: Cassettenautoklav Typ “Statim”, Modell 2202 (SciCan, Toronto, Kanada)
- Bohr-/Fräsmaschine: Typ „EBF 060“ mit digitaler Bohr- und Frästiefenanzeige
→ Leistung: 0-7000 U /min
(Rotwerk Elektrowerkzeuge, Aschheim, D)
- Eppendorf-Pipetten: Typ „Reference variabel“ 100µl + 1000 µl
(Netheler & Hinz, Hamburg, D)
- Gefrierschrank: -86 °C Freezer, Modell 923 (Forma Scientific, Inc., Ottio, USA)
- Hammer: 200 g (Wisent®, Bauhaus, Mannheim, D)
- Heißklebepistole: Typ „HKP 220“ Micromot System, (Proxxon, Wecker, L)
- Inkubator 1 (für Infektionsproben): Typ „B 5060 EK – CO₂“ (Heraeus, Hanau, D)
- Inkubator 2 (für Agarkulturen): Typ „T 5050 E“ (Heraeus, Hanau, D)
- Innenlochsägemikrotom: Modell 1600, Typ „025-097.25“ (Leitz, Wetzlar, D)
- Kühlschränke: Typen „Profiline“ und „Comfort“ (Liebherr, Bulle, CH)
- OP-Mikroskop: Modell 302561 Typ S5 / Pro magis (Zeiss, Aalen, D)
- Photometer: Ultraspec 3300 pro (Biochrom, Cambridge, GB)
- Pipettierhilfe: ACCU-JET® (Brand GmbH, Wertheim, D)
- Polymerisationslampe: Typ „Optilux 400“ (Demetron, Hanau, D)
→ Lichtleistung: 548 mW/cm²
- Rasterelektronenmikroskop: Typ „FEI Quanta 400“, Niedervakuum-Modus;
(FEI Company, Hillsboro, USA)
- Rüttler: Typ „IKA-VIBRAX-VXR“ (Janke & Kunkel, Stauffen, D)
→ Leistung: 0-2400 1/min
- Sterilbank 1: Typ „HF 48“ (Gelaire®, Flow Laboratories, Meckenheim, D)
- Sterilbank 2: Typ „HS 12/2“ (Heraeus, Hanau, D)
- Vortex-Gerät: Typ „REAX -1 DR“ (Heidolph, Schwabach, D)
→ Leistung: 200-2400 1/min
- Wachsmesser: 17 cm (Fahnenstock®, Dentaldepot Henry Schein, Melville/ NY, USA)
- Zentrifuge: Typ „Rotixa/P“ (Hettich, Tuttlingen, D)

4.2 Methode

4.2.1 Vorversuche

Um ein genaueres Bild davon zu bekommen, wie der Rinderzahn im Detail aufgebaut ist, wurden vor der Erstellung eines endgültigen Versuchskonzeptes einige Untersuchungen zur Anatomie der Rinderzähne durchgeführt. Geklärt werden sollten die Fragen:

- In welcher Relation steht die Größe des Pulpenkavums zur Zahnhartsubstanzmasse?
- Von welcher Dicke der Dentinschicht kann im Mittel ausgegangen werden?
- Wie viele Dentinkanälchen stehen für eine mögliche Infektion mit Bakterien pro Flächeneinheit zur Verfügung? Gibt es diesbezüglich irgendwelche Unterschiede im Verlauf des Wurzelkanals?
- Ist der Verlauf der Wurzelkanaloberfläche bis zur Wurzelspitze eher als linear zu betrachten oder müssen irgendwelche Verengungen, die den Versuchsablauf beeinträchtigen könnten, berücksichtigt werden?

Andere Parameter, die für den Versuchsaufbau zu prüfen sind, beziehen sich auf eine etwaige Vorbehandlung der Rinderzähne, ein geeignetes Autoklavier- und Nährmedium und die Art des Infektionsmodus, der gewählt werden sollte, sowie die Durchführung des Bohrvorganges.

4.2.1.1 Anatomie der Rinderzähne

- Ausdehnung des Pulpenkavums:

Rinderzähne werden für Längsschnitte liegend, teils auf der Approximalfläche, teils an der Palatinalfläche, und für Querschnitte stehend mit der Zahnkrone nach unten, mit dem Kaltpolymerisat Paladur® auf Mikrotomträger aufgesockelt (Abbildung 1). Die Längsschnitte erfolgen möglichst mittig durch den gesamten Zahn, die Querschnitte werden auf verschiedenen Höhen der Zahnwurzel in der zervikalen, medialen und apikalen Region angelegt. Mithilfe einer Schieblehre werden anschließend die Gesamtlänge des Zahnes, die Kronen- und Wurzellänge, der Durchmesser am Zahnhals und an der Wurzelspitze (circa 5 mm oberhalb des anatomischen Apex) in seiner lingual-labialen und mesial-distalen

Ausdehnung sowie die vorhandene Dentinschichtstärke labial, lingual, mesial und distal beispielhaft an sechs Rinderfrontzähnen vermessen (Messeinheit: 0,05 mm).

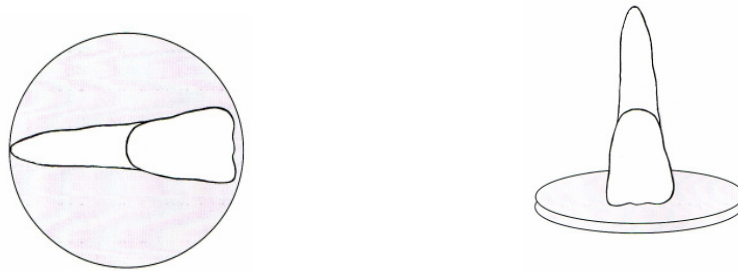


Abbildung 1: Schematische Darstellung der aufgesockelten Rinderzähne auf einem Mikrotomträger; links liegend für Längsschnitte, rechts auf der Zahnkrone stehend für Querschnitte

- Anzahl der Dentinkanälchen:

Anhand einer repräsentativen Anzahl von 45 rasterelektronenmikroskopischen Bildern (Abbildung 2) soll außerdem ermittelt werden, ob sich die Anzahl der Dentinkanälchen pro Flächeneinheit im Verlauf der Zahnwurzel von zervikal nach apikal ändert, oder ob eine konstante Dichte der Dentinkanälchen in jedem Abschnitt der Zahnwurzel angenommen werden kann. Für die Auszählung der Dentinkanälchen werden fünf Rinderzähne, wie bereits im vorherigen Abschnitt beschrieben, für Wurzelquerschnitte am Mikrotom gesockelt. Die ersten 3-5 mm der Wurzelspitze werden verworfen, die übrige Zahnwurzel in drei Wurzelsegmente à 4 mm Länge geschnitten. Anschließend werden die Wurzelsegmente mit 20 % EDTA-Lösung von der Schmierschicht befreit, mit einem kleinen Hämmerchen und einem Gipsmesser in zwei Hälften gespalten und nach dem unten abgebildeten Schema (Abbildung 3) bei 3000-facher Vergrößerung die Dentinkanälcheneingänge auf einer Wurzeloberfläche von $7.115,27 \mu\text{m}^2$ nach dem Prinzip einer Zählkammer ausgezählt. Die am rechten Bildrand und an der Bildunterkante angeschnittenen Dentinkanälcheneingänge werden dabei gewertet, die am linken Bildrand und an der Bildoberkante liegenden Dentinkanälcheneingänge bleiben unberücksichtigt [74,88].

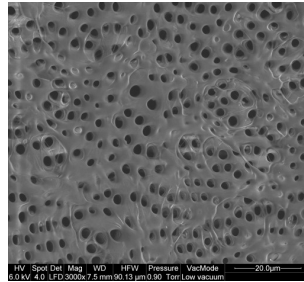


Abbildung 2: Beispiel für eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Dentinquerschnittes durch eine Rinderzahnwurzel nach Exstirpation der Pulpa und Entfernung der Schmierschicht; Größe und Dichte der Dentinkanälchen bei 3000-facher Vergrößerung im Original



Abbildung 3: Schematische Darstellung der ausgezählten Wurzelkanalstellen; Rinderzahnwurzel horizontal in 3 Segmente geschnitten und jeweils vertikal zur Zahnachse halbiert; ausgezählt wird eine der beiden Segmenthälften an 3 Stellen im Wurzelkanalverlauf, die senkrecht untereinander liegen

Anhand der Schnittbilder von jeweils vier unbehandelten und vier für zehn Minuten mit einer 20 % EDTA-Lösung geätzten Wurzelsegmente soll abschließend außerdem die Oberflächenstruktur des Wurzelkanals bei 800-facher, 3000-facher und 6000-facher Vergrößerung betrachtet werden.

4.2.1.2 Nährmedium und Infektionsmodus

Um herauszufinden, welches Autoklavier- und Nährmedium im Hinblick auf die spätere Infizierbarkeit der Rinderzähne mit dem Bakterium *Enterococcus faecalis* am besten geeignet ist, werden zwei Versuchsansätze gemacht. In Versuch 1 werden Rinderzahnwurzelsegmente einmal in NaCl-Lösung (Gruppe 1a) und parallel dazu in TSB-Medium (Gruppe 1b) für 25 Minuten bei 121°C autoklaviert. Bei Versuch 2 besteht die Bakteriensuspension des

E.faecalis für die Infektion in der Gruppe 2a auf der Grundlage eines TSB-Flüssignährmediums ohne Hepes-Puffer-Zusatz und in der Gruppe 2b auf der Basis eines TSB-Flüssignährmediums mit Hepes-Puffer-Zusatz. Nach Ablauf der Inkubationszeit von einer beziehungsweise zwei Wochen werden die Proben mit 2,0 % Glutaraldehyd fixiert und unter dem Rasterelektronenmikroskop der Infektionsgrad der Dentinkanälchen mit Bakterien in den einzelnen Gruppen verglichen.

Zur Verbesserung der Penetration der Bakterien in die Dentinkanälchen werden die Proben durch kontinuierliches Schwenken der Petrischalen auf einem Rüttler aus dem Dentallabor in Bewegung gehalten wird. Die Proben in der Schüttel-Gruppe werden während der gesamten Inkubationsdauer leichten Rüttlerbewegungen von 100/min ausgesetzt. In der Rüttel-Gruppe wird mit starken Rüttelbewegungen von 200/min begonnen und anschließend die Geschwindigkeit auf 100/min reduziert. Zum Vergleich wird eine Petrischale mit Infektionsproben in völliger Ruhe inkubiert. Die Inkubationszeit beträgt einheitlich sieben Tage. In einer weiteren Testreihe wird untersucht, ob die Besiedelung der Dentinkanälchen mit Bakterienkolonien durch tägliche Erneuerung der Bakteriensuspension anstelle eines Austausches durch frisches Nährmedium nochmals verbessert werden kann.

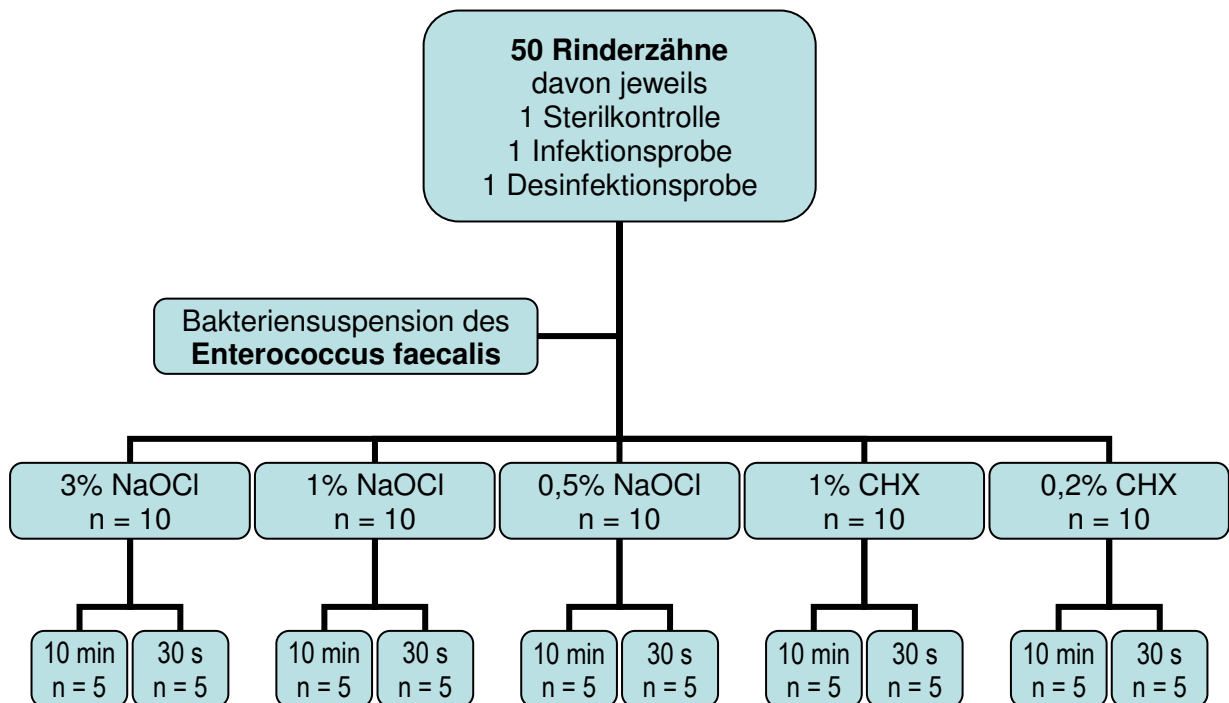
Für eine quantitative Analyse des Infektions- und Desinfektionsgrades muss vorab geklärt werden, wie die Dentinspäne für die Bakterienanzucht auf Agarplatten gewonnen werden sollen. Dazu werden Probebohrungen mit einem Rosenbohrer senkrecht zu Wurzelkanaloberfläche auf zweierlei Art und Weise durchgeführt. In Bohrgruppe A wird die Größe des Rosenbohrers verändert (Durchmesser: 0,6 mm oder 0,8 mm oder 1,0 mm), wobei die Bohrtiefe dem jeweiligen Durchmesser des Rosenbohrerkopfes entspricht. In Bohrgruppe B werden die Bohrungen in unterschiedlicher Tiefe (0,5 mm oder 1,0 mm oder 1,5 mm) ausgeführt und die Größe des Rosenbohrerkopfes einheitlich auf 0,8 mm Durchmesser standardisiert. Die Auswahl des geeigneten Verfahrens soll anhand des deutlicheren Infektions- und Desinfektionsgradienten in den verschiedenen Dentinschichten getroffen werden.

4.2.2 Hauptversuche

4.2.2.1 Versuchsplanung

Von 50 frisch extrahierten Rinderzähnen wird mit dem Mikrotom die Zahnkrone abgetrennt und die Zahnwurzel in drei Segmente geschnitten, so dass pro Zahnwurzel jeweils eine Sterilkontrolle, eine Infektionsprobe und eine Desinfektionsprobe zur Verfügung stehen. Damit kann sichergestellt werden, dass jeder Zahn auch seine eigene Kontrolle liefert.

Nach einer Vorbehandlung mit 20 % EDTA und der Infektion der beiden Probensegmente mit dem Bakterienstamm *Enterococcus faecalis* werden die Proben auf fünf Desinfektionsmittelgruppen mit 0,5 % NaOCl, 1,0 % NaOCl und 3,0 % NaOCl sowie 0,2 % CHX und 1,0 % CHX zu jeweils zehn Zähnen aufgeteilt. In jeder dieser Gruppen wird wiederum jeweils die Hälfte der Zähne den zwei verschiedenen Einwirkzeiten von 10 Minuten und 30 Sekunden zugeordnet.



n = Anzahl der Proben

min / s = Einwirkzeit in Minuten beziehungsweise Sekunden

4.2.2.2 Herstellung und Vorbereitung der Dentinproben

Für den Versuch müssen die Rinderzähne zuerst auf geeignete Träger aufgesockelt werden, um in die Innenlochsäge eingespannt werden zu können. Dazu wird der Zahn an seiner Krone mit Paladur® eingebettet und auf diese Weise sicher am Träger befestigt (Abbildung 4). Es ist darauf zu achten, dass die so vorbereiteten Zähne bei Einsetzen des Aushärtvorganges im Kaltpolymerisat sofort wieder ins Wasserbad zurückgelegt werden, um eine Hitzeschädigung der Zahnhartsubstanzen zu vermeiden. Anschließend wird der Zahn am Mikrotom in drei Teile geschnitten, beginnend von der Wurzelspitze bis hin zur Zahnalsregion. Das apikale Wurzel Drittel soll später als Sterilkontrolle dienen. Das mediane und das zervikale Wurzel Drittel besitzen eine definierte Länge von jeweils 6 mm und werden im Versuch als Infektionsprobe beziehungsweise als Desinfektionsprobe eingesetzt. Die Zahnkrone wird verworfen (Abbildung 5 und Abbildung 6).



Abbildung 4: Gesockelter Rinderzahn

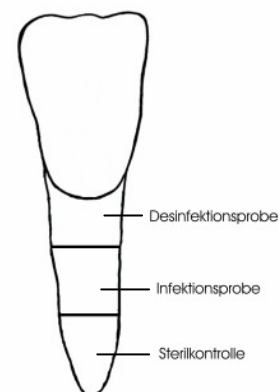


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Wurzelsegmentaufteilung

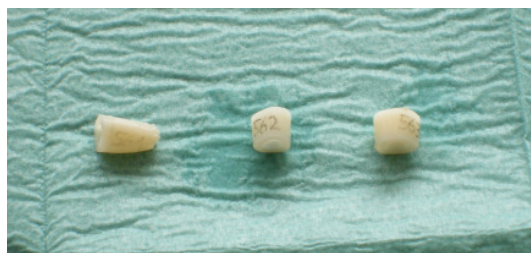


Abbildung 6: Geschnittene Wurzelsegmente eines Rinderzahnes

Die Wurzelsegmente werden mit Bleistift beschriftet und für zehn Minuten in eine 20 % EDTA-Lösung eingelegt, wobei die Lösung zusammen mit den Wurzelsegmenten zwischendurch immer wieder bewegt wird. Zur Entfernung etwaiger Rückstände des EDTA durchlaufen die Wurzelsegmente anschließend zwei Waschgänge in destilliertem Wasser von jeweils fünf Minuten Dauer. Vor jedem Versuch werden die Wurzelsegmente in einem frisch aus einer TSB-Fertigmischung und Aqua bidest. hergestellten Nährmedium autoklaviert. Die Autoklavierzeit im Autoklaven bei 121 °C beträgt 25 Minuten.

4.2.2.3 Infektion und Inkubation der Wurzelsegmente

Die Sterilkontrollen werden direkt aus dem Autoklaviermedium in ein neues, steriles Nährmedium überführt und für 24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Anschließend wird am Photometer bei 600 nm Wellenlänge die Extinktion des Nährmediums gemessen.

Die Infektions- und Desinfektionsprobe werden mit dem Befestigungszement RELY X UNICEM® gemeinsam in eine Petrischale geklebt. Bei der Befestigung der Proben ist darauf zu achten, dass das Kanallumen am Boden zementfrei bleibt. Die darauffolgende Aushärtung des Klebers dauert insgesamt zehn Minuten, wobei der Ablauf im Versuch von den Herstellerangaben für die klinische Anwendung etwas variiert. Zunächst wird jeweils 40 Sekunden von unten und von oben mit einer Polymerisationslampe eine Lichthärtung durchgeführt. Die übrige Zeit dient der vollständigen, chemischen Aushärtung. Danach wird mit Hilfe steriler Servietten und 10 ml sterilem Wasser eine feuchte Kammer angelegt, damit die Wurzelsegmente während der Inkubationszeit nicht von außen her austrocknen können. Zuletzt werden mit einer Eppendorf-Pipette je nach Durchmesser zwischen 20 µl und 60 µl der am Vortag vorbereiteten Bakteriensuspension aus *Enterococcus faecalis*-Kulturen in das Kanallumen injiziert und dieses mit einem Deckgläschen (10 mm x 10 mm) verschlossen (Abbildung 7).

Im Inkubator, dessen Temperatur auf 37 °C eingestellt ist, werden die Probenschalen auf einen herkömmlichen Rüttler, wie er in zahntechnischen Labors verwendet wird, gestellt und für die Dauer von sieben Tagen aerob bebrütet (Abbildung 8). Begonnen wird dabei zuerst mit einer höheren Rüttelfrequenz von 200/min für die erste Stunde der Inkubationszeit. Im Anschluss daran wird die Rüttelfrequenz auf 100/min zurückgedreht und diese dann für den Rest der Inkubationszeit beibehalten. Die ersten drei Tage der Inkubationszeit werden die

Proben mit Bakteriensuspension inkubiert, wobei am zweiten Tag die alte Bakteriensuspension mit einer Pipette abgezogen und durch eine neue Bakteriensuspension ausgetauscht wird. Am vierten Tag wird die Bakteriensuspension nur noch durch Nährmedium ersetzt, um das Wachstum der bereits eingedrungenen Bakterien zu fördern. Am sechsten Bebrütungstag findet nochmals ein Wechsel des Nährmediums statt. Bei jedem Wechsel der Inkubationsflüssigkeit wird die feuchte Kammer mit 2 ml sterilem Wasser aufgefüllt.



Abbildung 7: In Petrischalen geklebte Proben; links Infektionsprobe, rechts Desinfektionsprobe; Kanallumen mit Deckgläschen verschlossen; feuchte Kammer angelegt

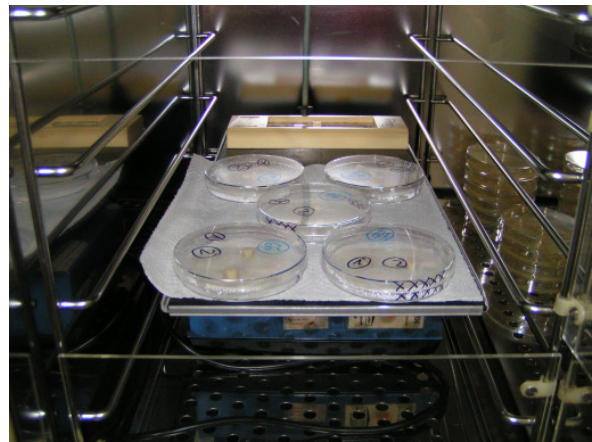


Abbildung 8: Proben auf dem Rüttler im Inkubator

4.2.2.4 Probenentnahme und Desinfektion

Nach Ablauf der Inkubationszeit wird das Inkubationsmedium aus dem Kanallumen entnommen und die Infektionsprobe aus der Petrischale gelöst. Mit einem kleinen Hämmerchen und einem Wachsmesser wird das Wurzelsegment in zwei Hälften gespalten und zur Beseitigung von nur oberflächlich der Kanalwand anhaftenden Bakterien mit 2 ml steriler NaCl-Lösung und einem Applikatorbürstchen gründlich gereinigt. Für die Bohrungen werden die Wurzelsegmenthälften mit einer Heißklebepistole jeweils auf einem Aluminiumträger fixiert und in den Schraubstock einer handelsüblichen Ständerbohrmaschine mit digitaler Bohrtiefenanzeige eingespannt (Abbildung 9). Die digitale Anzeige der Ständerbohrmaschine ermöglicht eine Justierung der Bohrtiefe mit einer Genauigkeit von

1/100 mm. Dieser Vorgang sollte zügig vonstatten gehen, so dass die Wurzelkanaloberfläche zum Zeitpunkt der Bohrung noch feucht ist. Mit einem Rosenbohrer (Durchmesser 0,8 mm) werden bei der Segmenthälfte A Bohrspäne aus 0,5 mm und 1,0 mm Bohrtiefe entnommen, bei der Segmenthälfte B aus 0,5 mm und 1,5 mm Bohrtiefe (Abbildung 10 und Abbildung 11). Die gesammelten Bohrspäne werden mit 1ml sterilem TSB-Medium in ein Reagenzröhrchen gespült, in dem bereits 1 ml Medium vorgegeben ist, und anschließend auch der Rosenbohrer darin eingelegt.



Abbildung 9: Ständerbohrmaschine mit digitaler Bohrtiefenanzeige

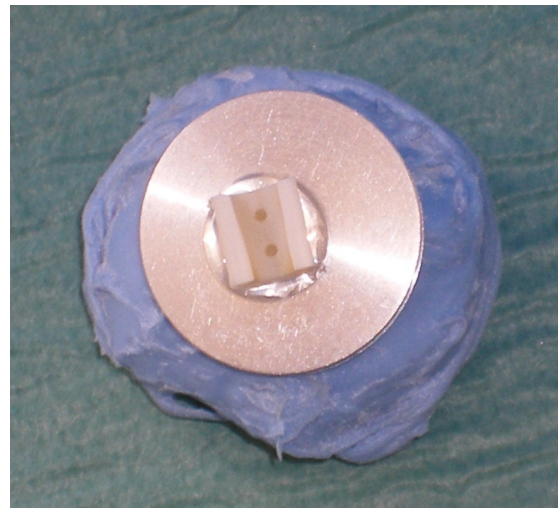


Abbildung 10: Gebohrte Probe auf einem Aluminiumträger

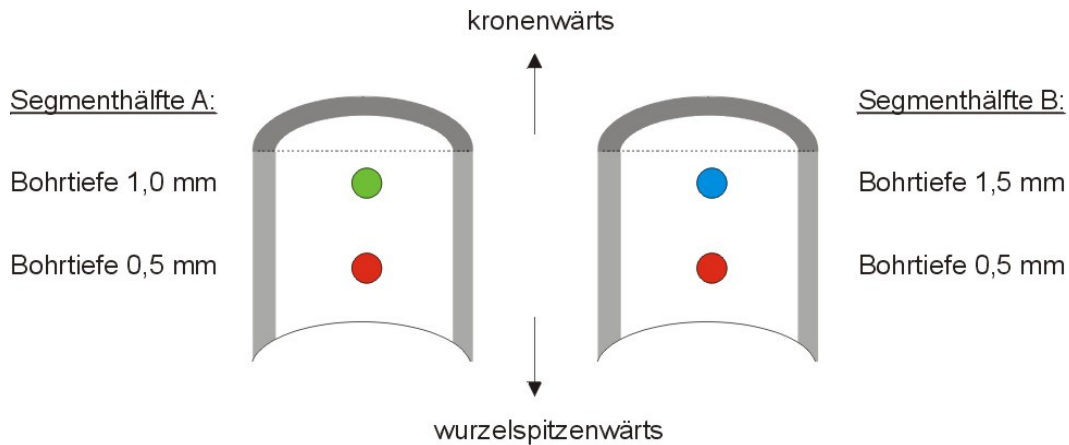


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Probengewinnung; das Bohrvolumen beträgt bei 0,5 mm Bohrtiefe $0,3854\text{mm}^3$, bei 1,0 mm Bohrtiefe $0,6367\text{mm}^3$ und bei 1,5 mm Bohrtiefe $0,8880\text{mm}^3$

Aus dem Kanallumen der Desinfektionsproben wird ebenfalls das Nährmedium abpipettiert und anschließend sofort das Desinfektionsmittel der entsprechenden Konzentration (NaOCl: 0,5 % oder 1,0 % oder 3,0 %; CHX: 0,2 % oder 1,0 %) injiziert. Die vorgegebene Einwirkzeit beträgt 10 Minuten oder 30 Sekunden. Nach dem Absaugen des Desinfektionsmittels aus dem Wurzelkanallumen werden die Proben aus der Petrischale gelöst und anschließend analog für die Probenentnahme vorbereitet und gebohrt.

4.2.2.5 Herstellung, Inkubation und Auszählung der Bakterienkulturen

Die Reagenzröhrchen mit den resuspendierten Bohrspänen werden mit einem Vortex-Gerät kräftig durchgemischt und von den Resuspensionen aus den Infektionsproben jeweils eine Verdünnung im Verhältnis 1:1000 hergestellt. Dazu werden $10\ \mu\text{l}$ der Bohrspäne-Resuspension in $990\ \mu\text{l}$ Nährmedium injiziert (Verdünnung 1:100) und davon wiederum $100\ \mu\text{l}$ Resuspension in $900\ \mu\text{l}$ Medium überführt (Gesamtverdünnung 1:1000). Die Resuspensionen aus den Desinfektionsproben werden unverdünnt weiterverarbeitet. Zuletzt werden von jeder Probe jeweils $100\ \mu\text{l}$ Resuspension auf Agarplatten ausgebracht und mit einem Trigalski-Spatel gleichmäßig verteilt. Anschließend werden die Agarplatten für 20 Stunden bei $37\ \text{°C}$ im Inkubator bebrütet und die Anzahl der kolonienbildenden Bakterieneinheiten ausgezählt.

4.2.2.6 Statistische und graphische Auswertung

Nach der Europäischen Norm EN 12740 ist die Desinfektion definiert als eine Reduktion der Anzahl vermehrungsfähiger pathogener oder fakultativ-pathogener Mikroorganismen mit Hilfe physikalischer und chemischer Methoden. Die Inaktivierung beziehungsweise Abtötung der Mikroorganismen in den Reinigungs- und Desinfektionsverfahren ist dabei nur bei unmittelbarer Einwirkung des Desinfektionsmittels während der Kontaktzeit möglich. Die Richtlinien zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln werden von der WHO (World Health Organization) und in Deutschland unter anderen herausgegeben von der DGMH (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie), der DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft), dem RKI (Robert-Koch-Institut) und dem VAH (Verband für angewandte Hygiene). In der Humanmedizin sind für die Desinfektionswirkung auf Bakterienstämme vor allem die europäischen Normen EN 1040 (Bakterizide allgemein), EN 13727 (Bakteriensuspension) und EN 14885 (Bewertungsleitfaden) relevant. Diese gliedern die standardisierten Prüfverfahren in 3 Phasen, wobei Phase I (Suspensionsversuch) und Phase II (Keimträgerversuch) im Labor durchgeführt werden können und Phase III schließlich dem Praxisversuch unterworfen ist. Die Keimzahlreduktion wird dabei jeweils in log-Stufen angegeben, wobei eine log-Stufe einer Verringerung der Keimbelastung auf ein Zehntel (\log_{10}) des Ausgangswertes entspricht. Diese anerkannten Kommissionen fordern für die Reinigung eine Reduktion der Keimzahl um 2-3 log Stufen (entspricht 99-99,9 %), für die Desinfektion um 4-5 log-Stufen (entspricht 99,99-99,999 %) und für die Sterilisation um mindestens 7 log-Stufen [19,28,30,62,80].

Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt auf der prozentualen Überlebensrate der Bakterien in den Dentinkanälchen nach der Desinfektion mit den bereits vielfach getesteten antibakteriellen Substanzen NaOCl und CHX in unterschiedlich hohen Konzentrationen.

Untersucht werden soll insbesondere ein Zusammenhang zwischen der Einwirkzeit des jeweiligen Desinfektionsmittels, dessen Konzentration und der Bohrtiefe bei der Probenentnahme. Ein wichtiger Aspekt dieser Untersuchung besteht außerdem darin, dass jeder Probenzahn auch seine eigene Kontrolle liefert. Eine präzise, digitale Angabe der Bohrtiefe in 1/100 mm an der Bohrmaschine soll sicherstellen, dass die Menge der entnommenen Bohrspäne immer gleich groß ist. Der Toleranzbereich für die Bohrtiefe erlaubt eine Abweichung von $\pm 0,02$ mm. Das Volumen der gewonnenen Bohrspäne kann anhand des vorgegebenen einheitlichen Rosenbohrerdurchmessers von 0,8 mm und der gewählten Bohrtiefen von 0,5 mm oder 1,0 mm oder 1,5 mm standardisiert und mit Hilfe der Formel

$V_{\text{ges}} = V_1 + V_2$ aus $V_1 = h \cdot r^2 \cdot \Pi$ und $V_2 = \frac{2}{3} \cdot r^3 \cdot \Pi$ zumindest theoretisch genau berechnet werden. Es beträgt bei 0,5 mm Bohrtiefe 0,3854 mm³, bei 1,0 mm Bohrtiefe 0,6367 mm³ und bei 1,5 mm Bohrtiefe 0,8880 mm³. Alle Volumenangaben sind auf vier Dezimalstellen gerundet. Nicht exakt bestimmt werden kann dagegen das Volumen an Bakteriensuspension, Nährmedium und Desinfektionsmittel, das in das Wurzelkanallumen der Probenkörper injiziert wird, da es sich nach der jeweiligen Größe des Wurzelkanaldurchmessers richtet. Aufgrund der Form des Wurzelkanals, die von Rinderzahn zu Rinderzahn oft sehr stark variieren kann und auch in ihrem gesamten Verlauf keine einheitliche Größe besitzt, schwankt dieses Volumen je nach Probe zwischen 20 µl und 60 µl.

Die prozentuale Überlebensrate ergibt sich aus der Anzahl der Bakterien nach der Desinfektion, dividiert durch die Anzahl der Bakterien vor der Desinfektion, multipliziert mit 100. Die Ergebnisse werden statistisch zum einen innerhalb einer Versuchsgruppe miteinander verglichen. Zum anderen wird ein Vergleich zwischen den einzelnen Versuchsgruppen angestellt. Berechnet werden dazu jeweils die Mediane aller Proben einer Versuchsgruppe sowie die 25 %- bis 75 %- Quantile und schließlich graphisch dargestellt. Um die Vergleichbarkeit mit anderen Studien zu ermöglichen, werden die Ergebnisse zusätzlich in logarithmischer Darstellung wiedergegeben [11].

Zur statistischen Auswertung und graphischen Darstellung der Ergebnisse werden die Windows-XP-Programme SPSS Sigma Plot Version 8.0 und SPSS Version 13.0 (beide von SPSS Inc., Chicago, USA) eingesetzt. Als statistische Mittel dienen der Wilcoxon-Test (Vergleich innerhalb der Gruppe) und der Mann-Whitney-Test (Vergleich zwischen den Gruppen). Das Signifikanzniveau liegt bei $\alpha = 0,05$. Die Signifikanz aller Untersuchungsparameter wird mit Hilfe der Error-Rate-Analyse überprüft [141]. Als erfolgreiche Desinfektion wird gewertet, wenn eine Reduktion der Bakterienzahl um mindestens drei log-Stufen auf eine Überlebensrate von 0,1 % oder kleiner erreicht werden konnte.

5. Ergebnisse

5.1 Vorversuche

5.1.1 Anatomie der Rinderzähne

Abbildung 12 zeigt die Längs- und Querschnitte durch Rinderzähne. Wie man sieht, stellt sich die Relation des Pulpenkavums zur Dentin-Schmelz- beziehungsweise Dentin-Zement-Schicht im Vergleich zu menschlichen Zähnen verhältnismäßig groß dar. Das Verhältnis Zahnkrone zu Zahnwurzel beträgt circa ein Drittel zu zwei Drittel.

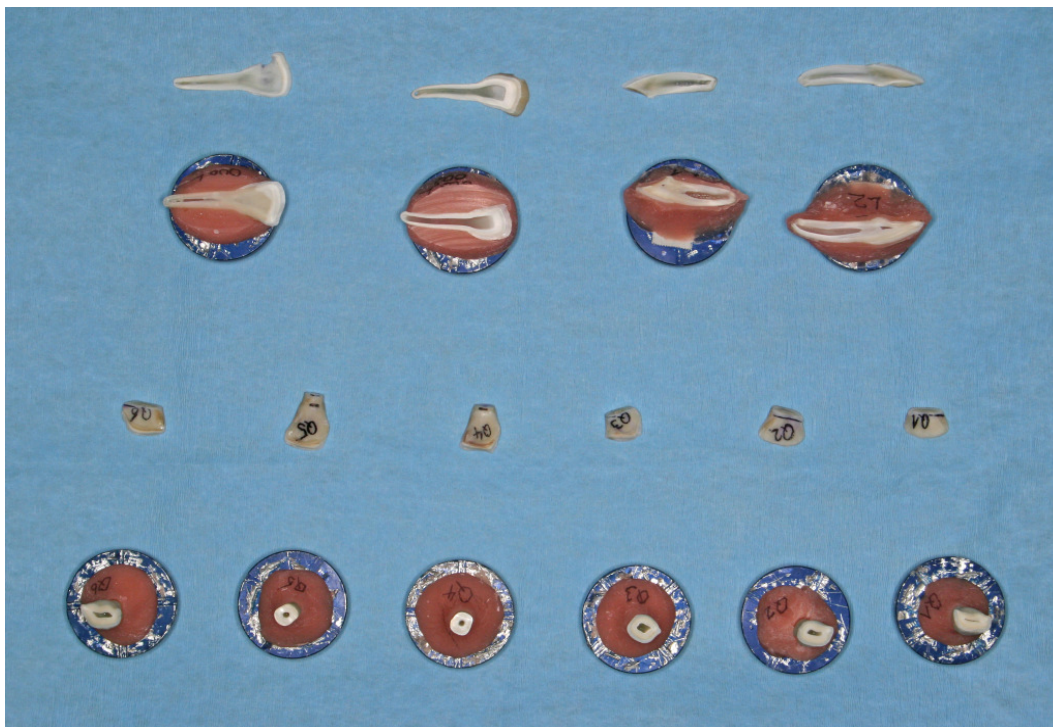


Abbildung 12: Längs- und Querschnitte von Rinderzähnen

Die Rinderzähne sind im Median 35-45 mm lang. Davon entfallen 15-20 mm auf den Kronenteil und 20-30 mm auf den Wurzelanteil. Der Durchmesser der Zahnwurzel reduziert sich von 8-10 mm in der Zahnalsregion auf 4,5-5,5 mm in einem Abstand von

circa 5 mm zur Wurzelspitze. Zirkulär stehen bei Zähnen von 3-5-jährigen Tieren für die Probenentnahme circa 2-3 mm Dentinschicht zur Verfügung. Die exakten Messdaten sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 aufgeführt.

Die Auszählung der Dentinkanälchen auf der Wurzelkanaloberfläche ergibt im Durchschnitt 31.350 Dentinkanälchen pro mm^2 , wobei sich deren Anzahl im Verlauf des Wurzelkanals vom Zahnhals zur Wurzelspitze nicht gravierend ändert (Abbildung 13 und Tabelle 3).

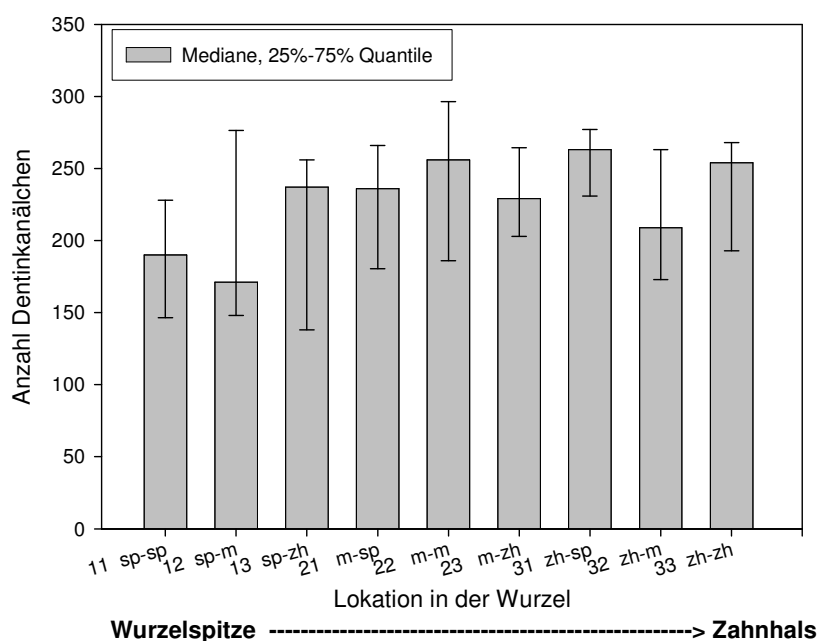


Abbildung 13: Anzahl und Verteilung der Dentinkanälchen eines Rinderfrontzahnes im Wurzelkanalverlauf pro $7.115,27 \mu\text{m}^2$, dargestellt als Mediane und 25%-75%-Quantile; Nummerierung nach Segment und Stelle, jeweils 1-3; Lokalisation an der Wurzelspitze (sp), im mittleren Wurzelkanal Drittel (m) und in der Zahnhalsregion (zh)

Der Wurzelkanalverlauf gestaltet sich entlang der gesamten Wurzellänge weitgehend linear und ohne Verengungen. Allerdings sind im Zuge der Erstellung zahlreicher licht- und rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen insbesondere zwei Strukturanomalien ins Auge gefallen, die die Bakterieninvasion und die Durchführung der Bohrungen für die Probenentnahme beeinflussen können. Zum einen sind hier die Dentikel zu nennen, die den eigenen Beobachtungen zufolge in geschätzten 30 % der Rinderzähne vorkommen. Abbildung 14 und Abbildung 15 sollen Aufschluss über die zum Teil massiv eingeschränkten

Platzverhältnisse vor allem bei der Injektion der Inkubations- und Desinfektionsflüssigkeiten und die polymorphe Struktur des Dentikeldentins geben. Zum anderen verdeutlichen die Aufnahmen, dass der Verlauf der Dentinkanälchen immer wieder durch „Höhlen“, die sogenannten Howship'schen Lakunen, unterbrochen wird (Abbildung 16). Sie wirken wie eine „Bakterienfalle“ und verhindern dadurch ein tieferes Einwandern der Bakterien in die Dentinkanälchen [68].

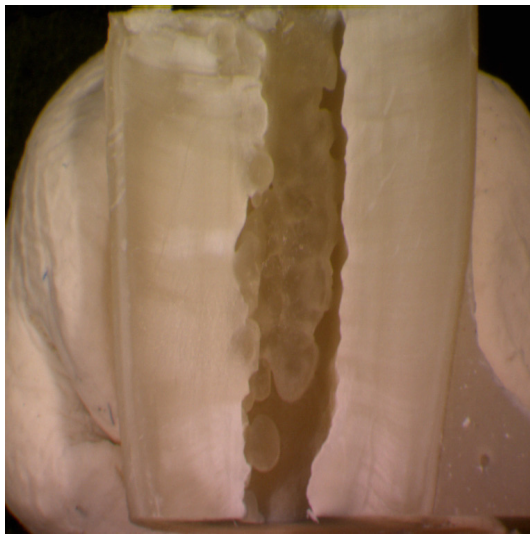


Abbildung 14: Dentikel im Wurzelkanal eines Rinderfrontzahnes; unter dem Lichtmikroskop fotografiert



Abbildung 15: Dentikelstruktur eines Rinderfrontzahnes; dargestellt unter dem Rasterelektronenmikroskop

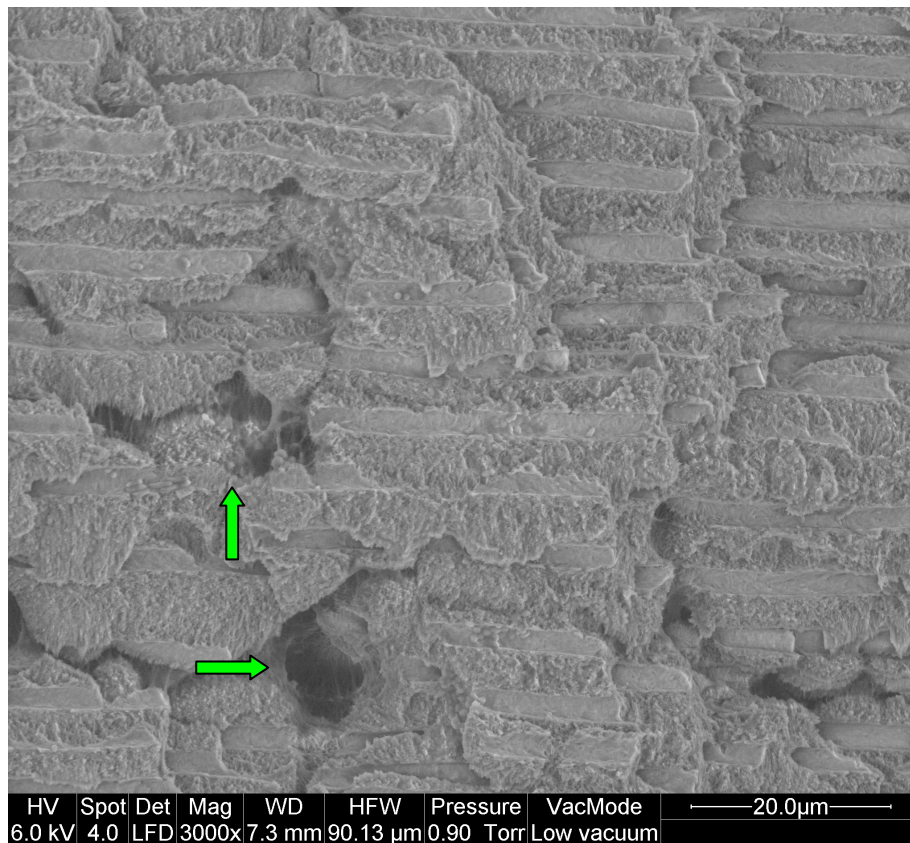


Abbildung 16: Howship'sche Lakunen ("Bakterienfalle")

Die unbehandelte natürliche Wurzelkanalwand zeigt bei 800-facher Vergrößerung unter dem Rasterelektronenmikroskop (REM) eine einheitlich raue Oberfläche mit einer gleichmäßigen Verteilung der Dentinkanälchenöffnungen. Zwischen den einzelnen Dentinkanälchen lassen sich bei höheren Vergrößerungen (3000- und 6000-fach) netzartige Verstreungen beobachten, die grob strukturierte Auflagerungen, vermutlich aus Pulparesten, miteinander verbinden. Die Dentinkanälcheneingänge selbst sind zum Teil unterschiedlich groß ausgeprägt (Abbildung 17). Nach dem Ätzen mit 20 % EDTA-Lösung sind die Auflagerungen weitgehend entfernt und die Oberfläche des Wurzelkanallumens erscheint glatt. Die Dentinkanälchenöffnungen stellen sich im Vergleich zur ungeätzten Probe nicht mehr scharfkantig, sondern weich abgerundet und vergrößert dar (Abbildung 18). Bei der Gegenüberstellung von ungeätzten und geätzten Dentinoberflächen in benachbarten Arealen lässt sich ein deutlicher Übergangsbereich erkennen, der einen nicht unerheblichen Substanzabtrag durch die Vorbehandlung mit EDTA signalisiert (Abbildung 19).

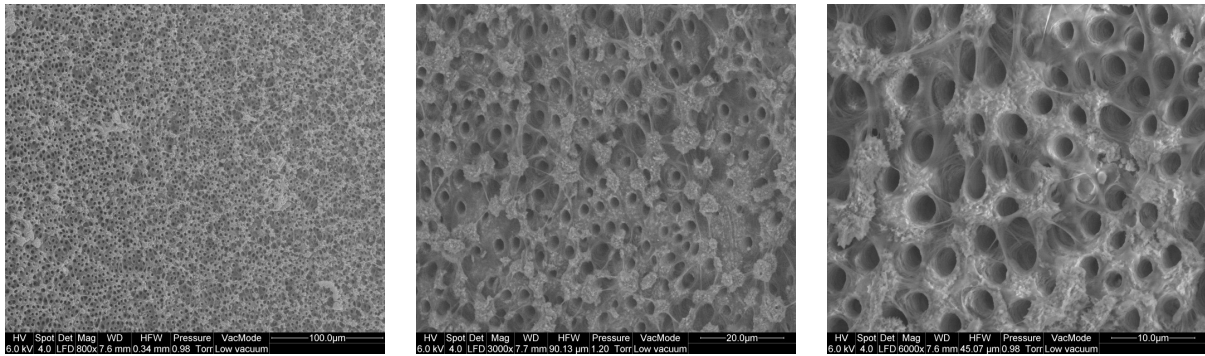


Abbildung 17: Wurzelkanaloberfläche eines Rinderfrontzahnes nach Extirpation der Pulpa bei 800-facher (links), 3000-facher (Mitte) und 6000-facher (rechts) Vergrößerung im Original

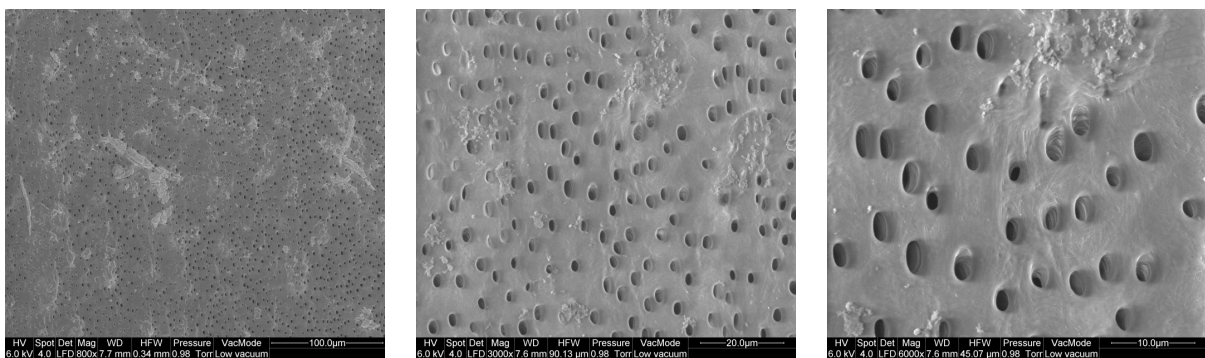


Abbildung 18: Wurzelkanaloberfläche eines Rinderfrontzahnes nach Vorbehandlung mit EDTA bei 800-facher (links), 3000-facher (Mitte) und 6000-facher (rechts) Vergrößerung im Original

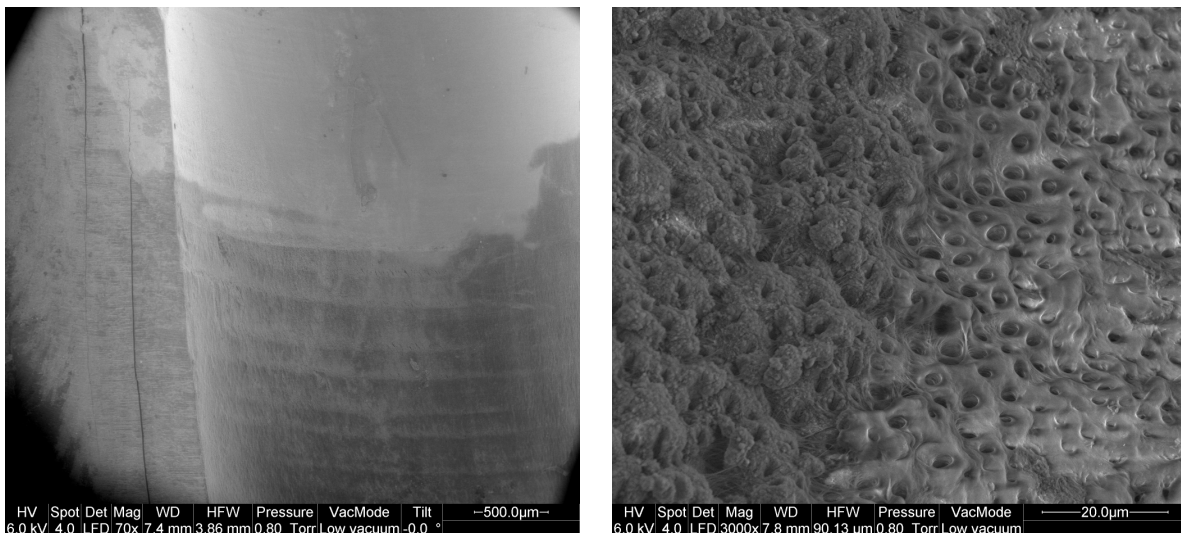


Abbildung 19: Gegenüberstellung einer ungeätzten und geätzten Dentinoberfläche einer Rinderfrontzahnwurzel unter dem Rasterelektronenmikroskop; linke Aufnahme bei 70-facher Vergrößerung im Original, obere Hälfte ungeätzte und untere Hälfte geätzte Oberfläche; rechte Aufnahme bei 3000-facher Vergrößerung im Original, links ungeätzte Oberfläche und rechts geätzte Oberfläche

5.1.2 Nährmedium und Infektionsmodus

Proben, die in NaCl-Lösung autoklaviert wurden (Gruppe 1a), enthalten nach der Infektion mit dem Bakterienstamm *E.faecalis* signifikant weniger Bakterien als Proben, die in Nährmedium sterilisiert wurden (Gruppe 1b). Im Durchschnitt kann von einer Steigerung der Infektionsrate in etwa um den Faktor sechs ausgegangen werden (Tabelle 4 und Tabelle 5).

Die optische Dichte einer frisch aus einer Gefrierkultur angesetzten Übernachtskultur einer gesättigten Bakteriensuspension ohne HEPES-Puffer-Zusatz erreicht bei einer Einstellung des Photometers auf eine Wellenlänge von 600 nm Werte zwischen 1,2 und 1,4.

Auch unter dem Rasterelektronenmikroskop betrachtet, bestätigt sich die Beobachtung, dass bei Verwendung eines Mediums ohne HEPES-Puffer-Zusatz (Gruppe 2a) zahlreiche Bakterien in Form von Aggregaten an der Wurzelkanalwand haften (Abbildung 20). Generell ist festzustellen, dass die Bakterien immer nur dort in die Dentinkanälchen eingedrungen sind, wo sich diese Bakterienansammlungen auch um die Dentinkanälcheneingänge herum gruppieren (Abbildung 21). Die Bakterienaggregate sind dabei überwiegend im Bereich der Oberkante der aufgeklebten Probenblöckchen lokalisiert, wo in geringen Mengen Sauerstoff eintreten kann, da die Deckgläschen den Wurzelkanal nur mittels der Kapillarkräfte verschließen. Im Bereich der Bodenplatte sind dagegen kaum mehr Bakterien zu finden. Werden die Bakterien stattdessen in einem Medium mit HEPES-Puffer-Zusatz (Gruppe 2b) angezüchtet, erscheint die Kanaloberfläche, ähnlich wie nach dem Ätzen, gleichmäßig glatt und weist eine landkartenähnliche, schlierige Oberflächenstruktur auf. Hier sind schon an der Wurzelkanalwand kaum mehr Bakterienaggregate zu sehen (Abbildung 22). Die Dentinkanälchen sind dann nahezu bakterienleer.

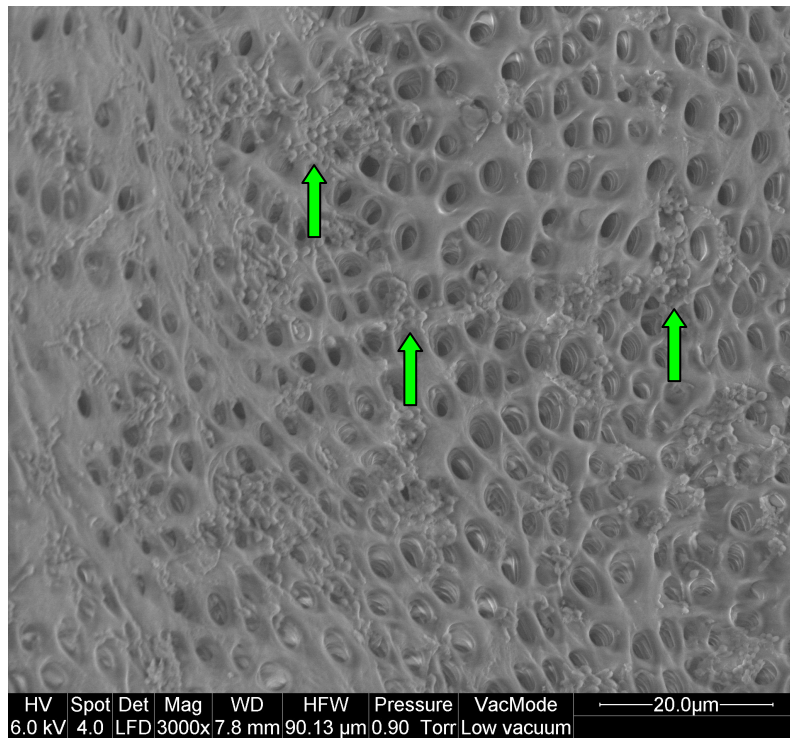


Abbildung 20: Bakterienbesiedelung auf der Wurzelkanaloberfläche eines Rinderfrontzahnes bei Verwendung eines Mediums ohne Hepes-Puffer; Bakterienkolonien als kugelartige Strukturen erkennbar

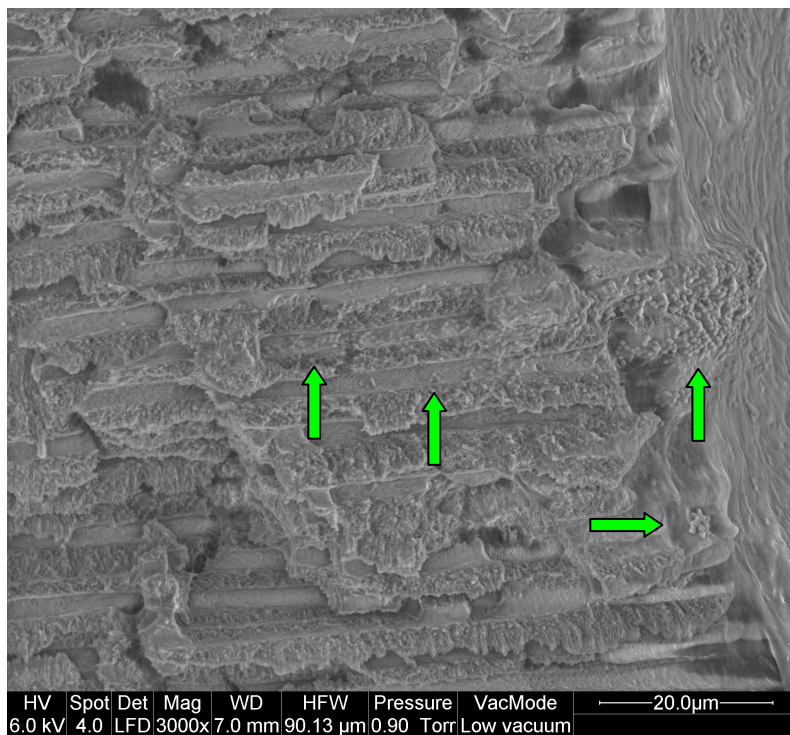


Abbildung 21: Längsschnitt durch das Wurzelndentin eines Rinderfrontzahnes; Bakterienaggregate vor und in den Dentinkanälcheneingängen

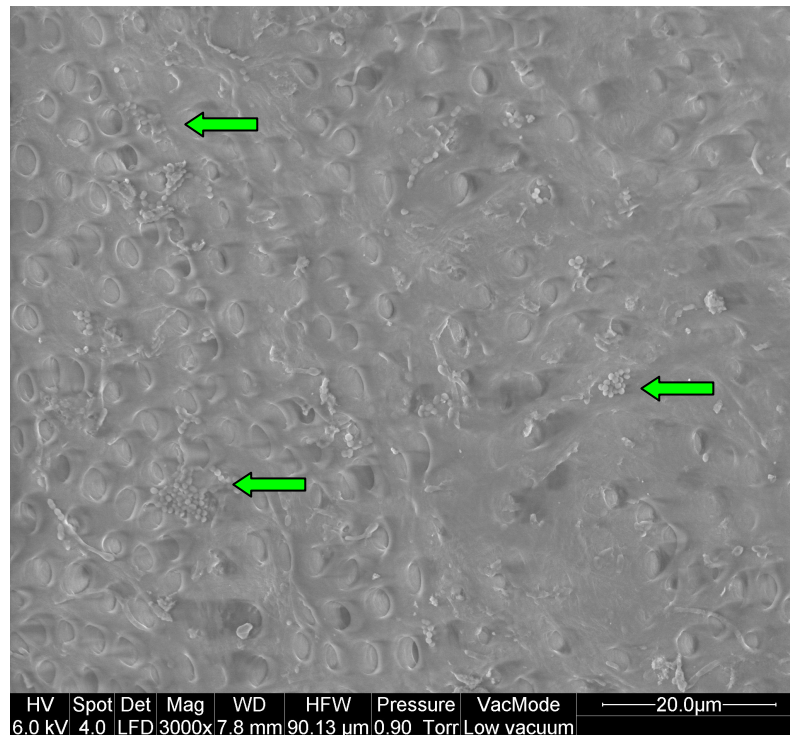


Abbildung 22: Bakterienbesiedelung auf der Wurzelkanaloberfläche eines Rinderfrontzahnes bei Verwendung eines Mediums mit Hepes-Puffer; Bakterienkolonien als kugelartige Strukturen erkennbar

Eine Verlängerung der Inkubationszeit auf zwei Wochen verbessert das Infektionsergebnis gegenüber der einwöchigen Inkubationszeit offensichtlich nicht nennenswert. Auch die tägliche Injektion weiterer Bakteriensuspensionen über die gesamte Inkubationsdauer hinweg bewirkt keine dichtere Besiedelung der Dentinkanälchen im Vergleich zu denjenigen Proben, bei denen ab dem zweiten Inkubationstag nur noch das Nährmedium erneuert wurde.

Eine deutliche Steigerung der Anzahl und Dichte der Infektion in den Dentinkanälchen kann jedoch mithilfe der Bewegung der Proben während der Inkubationszeit auf einem Rüttler aus dem Dentallabor registriert werden (Tabelle 6). Besonders vorteilhaft wirkt sich ein anfänglich heftiges Rütteln der Probenschalen für eine Stunde und anschließend nur noch leichte Rüttlerbewegungen (Rüttel-Gruppe) auf die Verteilung der Bakterien aus. Kontinuierliche leichte Bewegungen (Schüttel-Gruppe), längeres starkes Rütteln und häufiges Wechseln der Bakteriensuspension am gleichen Tag schneiden dagegen in den Versuchen schlechter ab. Ein Bildband, der durch das Aneinanderreihen von rasterelektronen-

mikroskopischen Aufnahmen angefertigt wurde, ausgehend von der Kanalwand in Richtung Wurzelzement, demonstriert, dass die Bakterien bis circa 300-400 μm noch recht zahlreich in die Dentinkanälchen einwandern und ab einer Tiefe von circa 500 μm nur noch vereinzelt anzutreffen sind. Die letzten Bakterien tauchen schließlich in einer Dentinschichttiefe von circa 825 μm auf (Abbildung 23).

Die Auswertung der Agarplatten verdeutlicht, dass durch die Veränderung des Inkubationsmodus mit ständiger Bewegung der Proben auf dem Rüttler eine Zunahme der Bakterienkolonien von circa 7.000 bis 600.000 auf circa 200.000 bis 1.000.000 Kolonien erreicht wurde (Tabelle 5 bis Tabelle 8). Diese relativ breite Spanne an Bakterienkolonien kann anhand des angewendeten Bohrverfahrens noch weiter relativiert werden. Agarkulturen mit weniger als 500.000 Bakterienkolonien stammen überwiegend von Bohrproben, die mit Bohrergrößen verschiedenen Durchmessers und gleicher Bohrtiefe gewonnen wurden (Bohrgruppe A, Tabelle 5, Tabelle 7). Mehr als 500.000 Bakterienkolonien pro Agarplatte können vor allem dann ausgezählt werden, wenn mit nur einem einzigen Bohrerdurchmesser Proben aus unterschiedlichen Dentinschichten entnommen wurden (Bohrgruppe B, Tabelle 8).

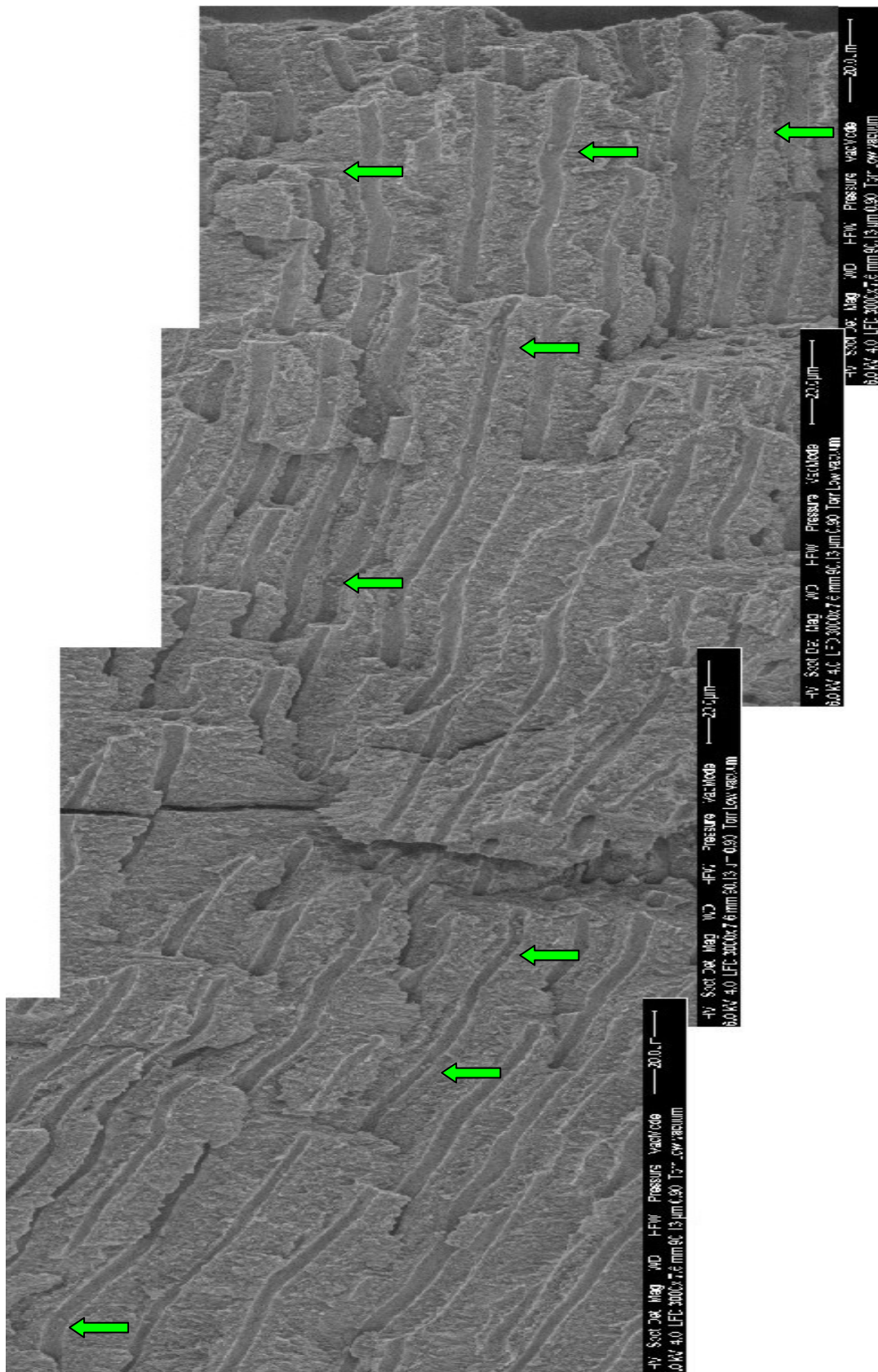


Abbildung 23: Querschnitt durch das Wurzelzementin eines Rinderfrontzahnes nach der Infektion mit dem Bakterienstamm *E.faecalis*; Aneinanderreihung von aufeinanderfolgenden rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen, beginnend an der Wurzelkanaloberfläche (im Bild oben) in Richtung Wurzelzementenschicht (im Bild unten)

5.2 Ergebnisse Hauptversuche

5.2.1 Sterilitätskontrollen

Sterilitätskontrollen wurden für alle Proben regelmäßig angefertigt, bevor die Wurzelsegmente in den Hauptversuchen zum Einsatz kamen. Zunächst wurden im Rahmen der Vorversuche einige Bohrproben sterilisierter Wurzelspitzensegmente auf Agarplatten ausgebracht und nach 24 Stunden die Anzahl der gewachsenen Bakterienkolonien bestimmt. Dabei zeigte sich noch keinerlei Bakterienwachstum. Die Sterilitätskontrollen, die während der Hauptversuche durchgeführt wurden, zeigten im flüssigen Testmedium unmittelbar nach dem Autoklavieren ebenfalls kein Bakterienwachstum. Jedoch waren die Agarkontrollen, wie auch in den Versuchen von Akpata und Blechman [4], nach der entsprechenden Inkubationszeit, die in der vorliegenden Studie eine Woche betrug, vereinzelt schon wieder mit Bakterienkolonien bewachsen. Da die Messung der optischen Dichte genauere Ergebnisse liefert und der Zeitaufwand dafür bedeutend geringer ist, wurde für die Hauptversuche die Messung der optischen Dichten der Kulturmedien als Sterilitätskontrolle zugelassen. Wie Tabelle 9 veranschaulicht, wurden alle Proben vor der Infektion erfolgreich sterilisiert. Die optische Dichte der verwendeten Bakteriensuspensionen wurde vor der Infektion der Proben ebenfalls gemessen (Tabelle 10).

5.2.2 Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion

Anhand der Säulendiagramme, die in den Abbildungen 24 bis 27 dargestellt sind, wird deutlich, dass die Anzahl der Bakterienkolonien, die vor der Desinfektion die Dentinkanälchen besiedelt haben, kontinuierlich mit der Bohrtiefe zunimmt. In einer Bohrtiefe von 0,5 mm befinden sich nach der Infektion der Wurzelsegmente mit dem Bakterienstamm *E.faecalis* im Median zwischen 2.000 und 25.000 Bakterienkolonien, in 1,0 mm Bohrtiefe zwischen 4.000 und 81.000 Bakterienkolonien und in 1,5 mm Bohrtiefe zwischen 5.000 und 103.000 Bakterienkolonien. Geringe Abweichungen von diesem Trend kommen in den Versuchsgruppen NaOCl 1,0 % und CHX 0,2 % (Einwirkzeit 600 s) sowie CHX 1,0 % (Einwirkzeit 30 s) vor. Bei diesen drei Gruppen sind bei 1,5 mm Bohrtiefe jeweils weniger Bakterienkolonien gefunden worden als bei 1,0 mm Bohrtiefe. Auch die

Verteilung der 25 %- und 75 %-Quantile lässt zum Teil erhebliche Unterschiede im Infektionsgrad der Proben erkennen.

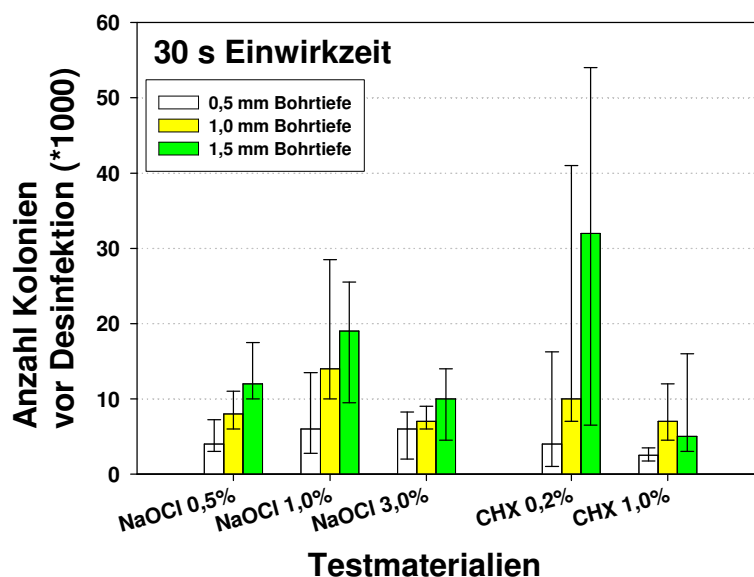


Abbildung 24: Anzahl der Bakterienkolonien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) vor der Desinfektion, *Verdünnung 1:1000; spätere Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%) mit Einwirkzeit 30 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

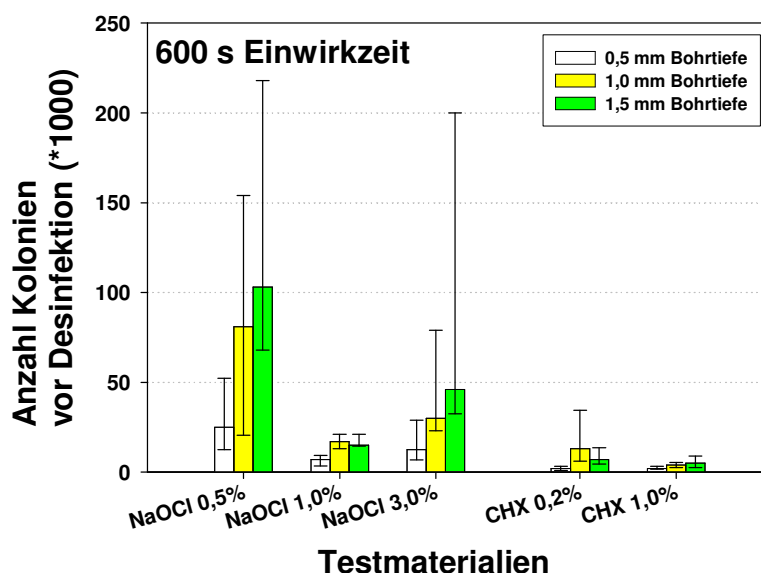


Abbildung 25: Anzahl der Bakterienkolonien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) vor der Desinfektion, *Verdünnung 1:1000; spätere Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%) mit Einwirkzeit 600 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

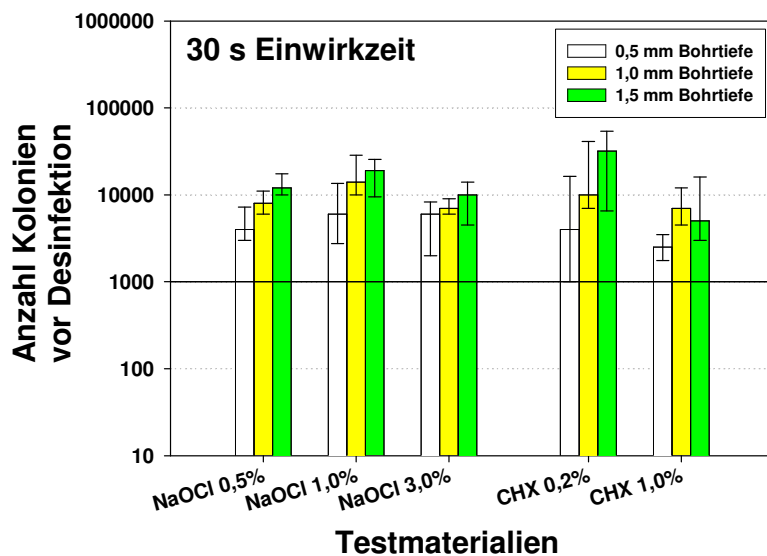


Abbildung 26: Darstellung der Werte aus Abbildung 24 mit logarithmischer Y-Achse

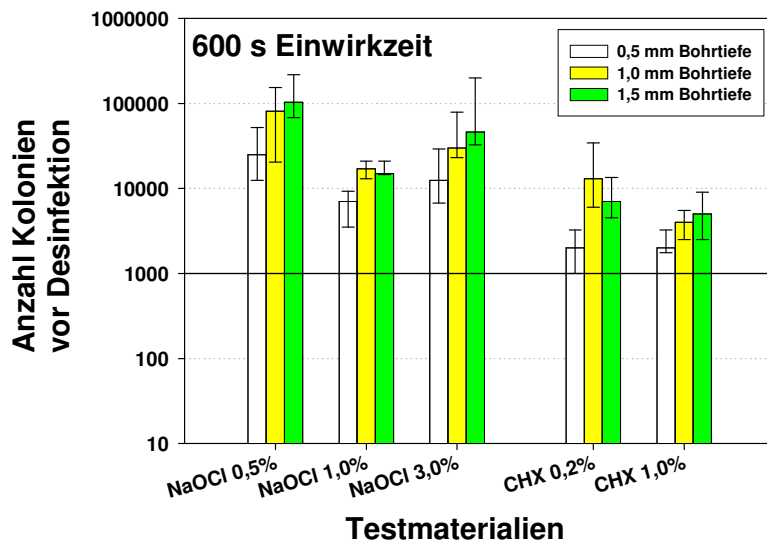


Abbildung 27: Darstellung der Werte aus Abbildung 25 mit logarithmischer Y-Achse

Nach der Desinfektion reduziert sich im Median die maximale Anzahl der Bakterienkolonien, die in den Dentinkanälchen überlebt haben, unabhängig von der gewählten Einwirkzeit des Desinfektionsmittels deutlich. Berücksichtigt man aber die beiden verschiedenen Einwirkzeiten der verwendeten Desinfektionsmittel von 30 und 600 Sekunden, kann festgestellt werden, dass in 0,5 mm Bohrtiefe nach 600 s Einwirkzeit mit 7.500 Bakterienkolonien gegenüber 15.500 Bakterienkolonien nach 30 s Einwirkzeit im Median nur noch maximal etwa die Hälfte der Bakterienkolonien überlebt hat. In 1,0 mm Bohrtiefe dagegen verdoppelte sich nach 600 s Einwirkzeit die Anzahl der Bakterienkolonien auf maximal 80.000 Bakterienkolonien, verglichen mit 40.000 überlebenden Bakterienkolonien nach 30 s Einwirkzeit. In 1,5 mm Bohrtiefe verfünffacht sich im Median die Anzahl der Bakterienkolonien, die nach der Desinfektion noch in den Dentinkanälchen gefunden werden konnten, von 25.000 Bakterienkolonien nach 30 s Einwirkzeit auf 125.000 Bakterienkolonien nach 600 s Einwirkzeit. Auch die entsprechenden Säulendiagramme zeigen, dass nur bei den niedrigen Konzentrationen der Desinfektionsmittel von 0,5 % NaOCl und 0,2 % CHX die Einwirkzeit hinsichtlich der Anzahl der überlebenden Bakterienkolonien nach der Desinfektion eine bedeutende Rolle spielt. Insgesamt entsteht auf den ersten Blick vielmehr der Eindruck, dass die Anzahl der überlebenden Bakterienkolonien nach 600 s Einwirkzeit gegenüber 30 s Einwirkzeit sogar wieder leicht ansteigt, wobei in 1,0 mm Bohrtiefe fast bei allen Versuchsgruppen die meisten Bakterienkolonien überleben konnten (Abbildung 28 bis 31). Eine detaillierte Untersuchung der Ergebnisse, die sowohl die Einwirkzeiten als auch die unterschiedlichen Konzentrationen der Desinfektionsmittel berücksichtigt, liefern Tabelle 11 und Tabelle 12.

Stellt man bei der Signifikanzanalyse die Messwerte für die Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion einander gegenüber, wiederholt sich für alle Desinfektionsmittel und deren Konzentrationen das gleiche statistische Prinzip, unabhängig von der Einwirkzeit: In einer Bohrtiefe von 0,5 mm ergibt sich ein deutlich kleinerer Signifikanzwert von 0,005 als in den Bohrtiefen 1,0 mm und 1,5 mm mit einem Signifikanzwert von 0,043 (Tabelle 27).

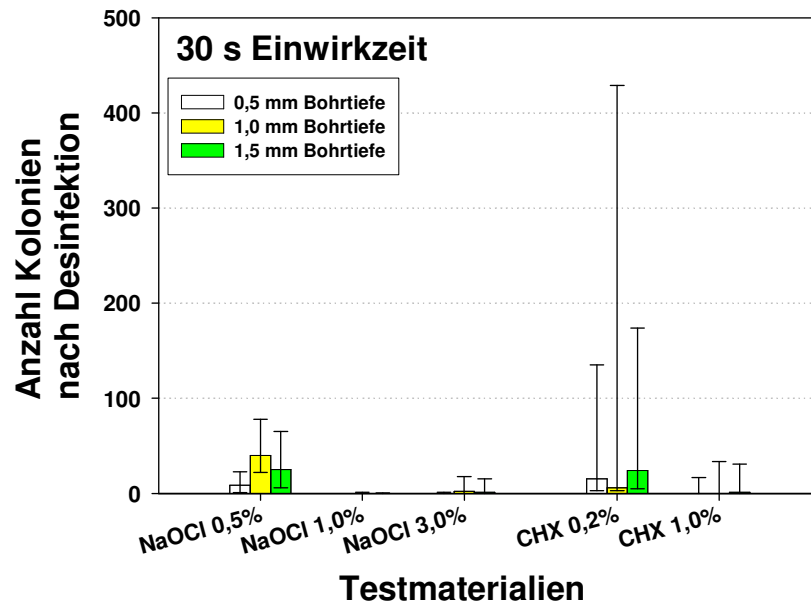


Abbildung 28: Anzahl der Bakterienkolonien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) nach der Desinfektion ohne Verdünnung; verwendete Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 30 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

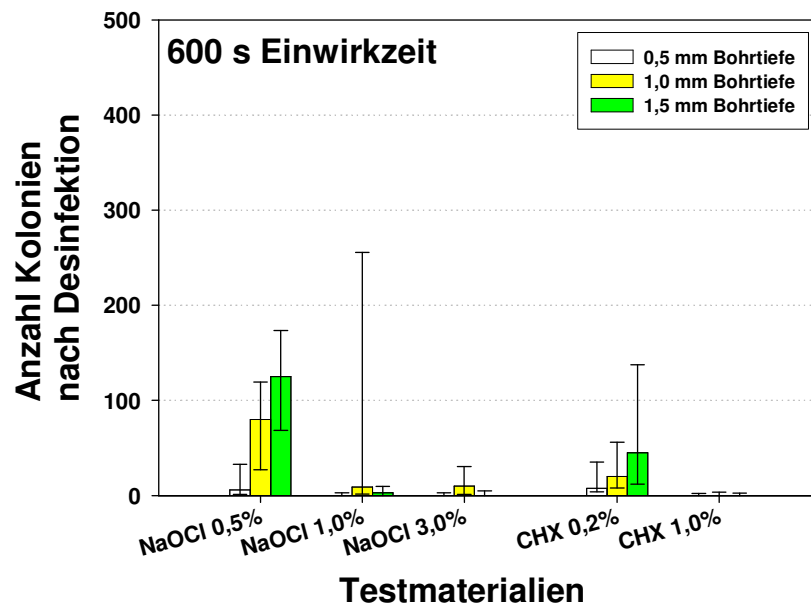


Abbildung 29: Anzahl der Bakterienkolonien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) nach der Desinfektion ohne Verdünnung; verwendete Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 600 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

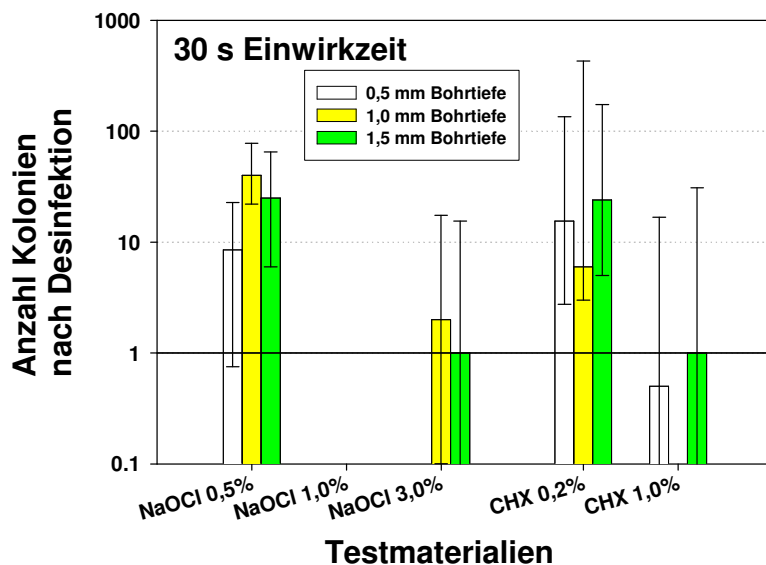


Abbildung 30: Darstellung der Werte aus Abbildung 28 mit logarithmischer Y-Achse

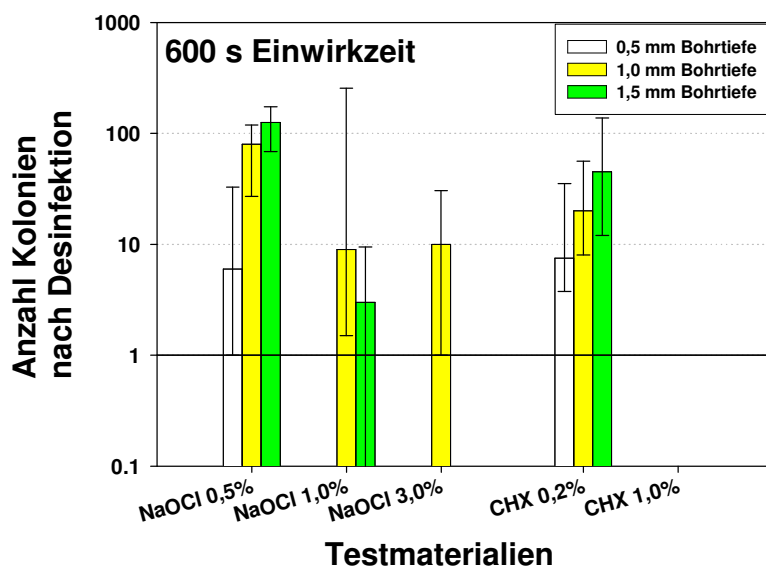


Abbildung 31: Darstellung der Werte aus Abbildung 29 mit logarithmischer Y-Achse

5.2.3 Überlebensraten der Bakterien nach der Desinfektion

Neben der Bestimmung der tatsächlichen Anzahl der Bakterien vor und nach der Desinfektion gibt eine Ergebnisanalyse in Form der prozentualen Überlebensrate weiter Aufschluss über die Wirksamkeit der verwendeten Desinfektionsmittel. Die Überlebensrate errechnet sich dabei aus der Anzahl der Bakterien nach der Desinfektion, dividiert durch die Anzahl der Bakterien vor der Desinfektion, multipliziert mit 100. In Tabelle 13 und Tabelle 14 werden die Überlebensraten für die verschiedenen Desinfektionsmittel und deren unterschiedlichen Konzentrationen für alle drei Bohrtiefen und die beiden Einwirkzeiten im Überblick zusammengefasst.

Sowohl die Säulendiagramme (Abbildung 32 und Abbildung 33) als auch die Signifikanzanalyse der Materialien gegeneinander (Tabelle 15 bis Tabelle 23) zeigen deutlich, dass die Desinfektion mit den niedrig konzentrierten Lösungen von 0,2 % CHX und 0,5 % NaOCl signifikant schlechtere Resultate liefert als mit den entsprechend höher konzentrierten Desinfektionslösungen von mehr als 1,0 %, unabhängig von der jeweiligen Einwirkzeit und dem Desinfektionsmitteltyp. In der vorliegenden Studie sind diesbezüglich 1,0 % und 3,0 % NaOCl sowie 1,0 % CHX zu nennen. Außerdem fällt auf, dass es bei einer Bohrtiefe von 1,0 mm häufig zu einem leichten Anstieg der Überlebensraten der Bakterienkolonien kommt. Insgesamt erreichen alle getesteten Desinfektionsmittel, auch in den niedrigeren Konzentrationen von NaOCl und CHX, mit nur einer Ausnahme (0,2 % CHX bei 600 s Einwirkzeit) im Median eine Überlebensrate von weniger als 0,5 % (Abbildung 33). Die logarithmische Darstellung der Überlebensraten (Abbildung 34 und Abbildung 35) veranschaulicht, dass die Desinfektionswerte der höher konzentrierten NaOCl- und CHX-Lösungen im Median sogar deutlich unter 0,1 % Überlebensrate liegen und damit eine erfolgreiche Desinfektion gewährleisten, während bei Verwendung von 0,5 % NaOCl und 0,2 % CHX die angestrebte Reduktion der prozentualen Anzahl der überlebenden Bakterien um mindestens drei log-Stufen nicht erzielt werden kann.

Die statistische Signifikanzanalyse der Einwirkzeiten der verschiedenen Desinfektionsmittel gegeneinander lässt für die Überlebensrate nicht auf einen signifikanten Einfluss auf das Desinfektionsergebnis schließen (Tabelle 24).

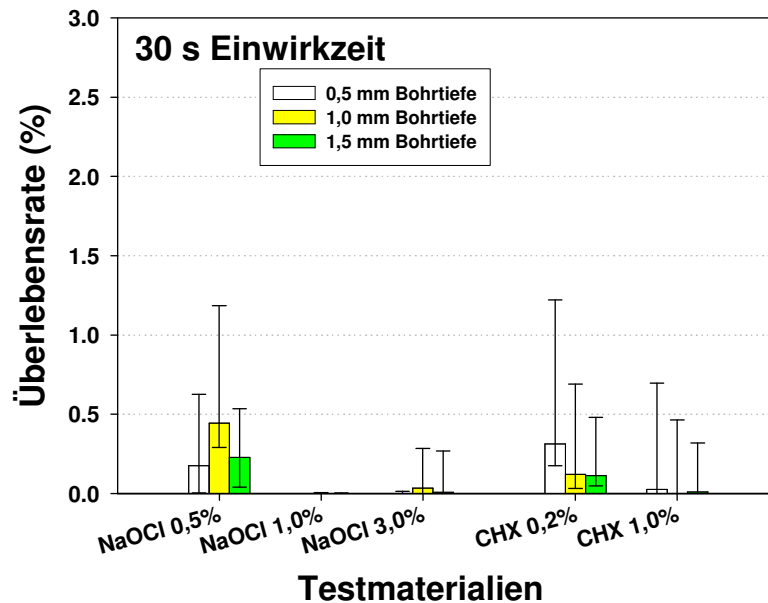


Abbildung 32: Überlebensrate der Bakterien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) nach der Desinfektion in %; verwendete Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 30 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

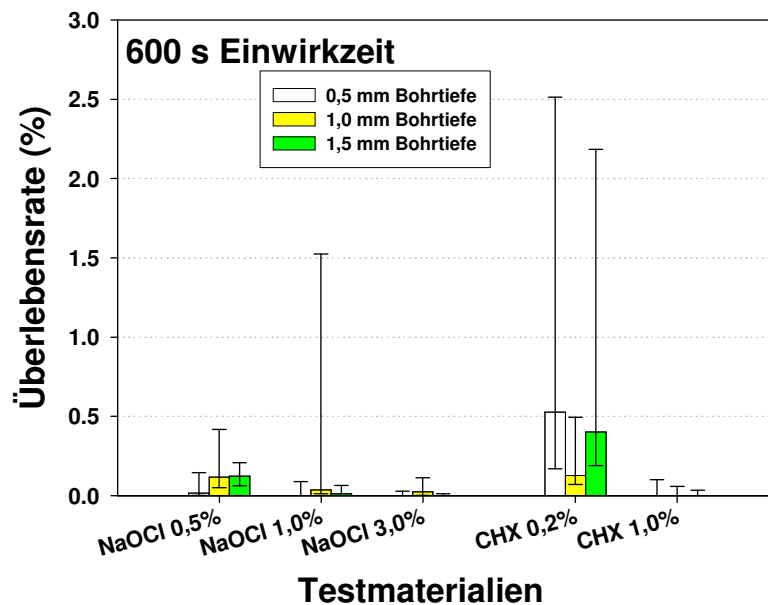


Abbildung 33: Überlebensrate der Bakterien in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm = linker Balken, 1,0 mm = mittlerer Balken, 1,5 mm rechter Balken) nach der Desinfektion in %; verwendete Desinfektionsmittel in den verschiedenen Konzentrationen (NaOCl : 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX : 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 600 s; dargestellt sind jeweils die Mediane und 25%-75%-Quantile

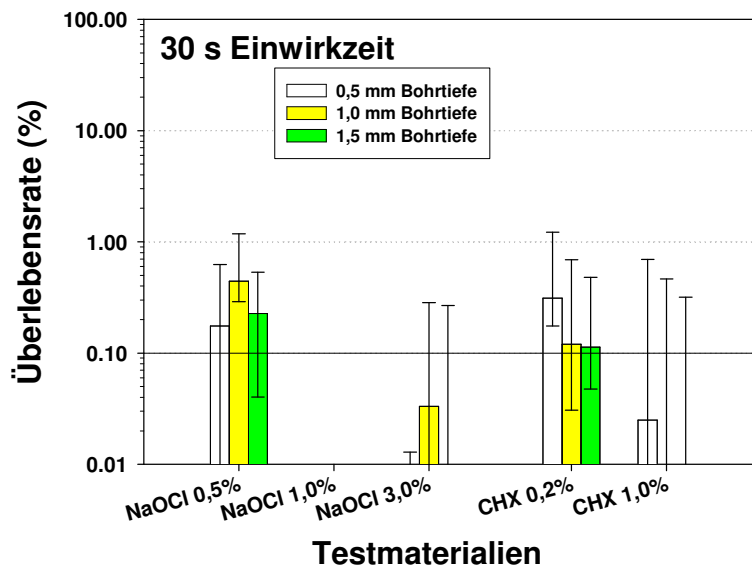


Abbildung 34: Darstellung der Werte aus Abbildung 32 mit logarithmischer Y-Ordinate

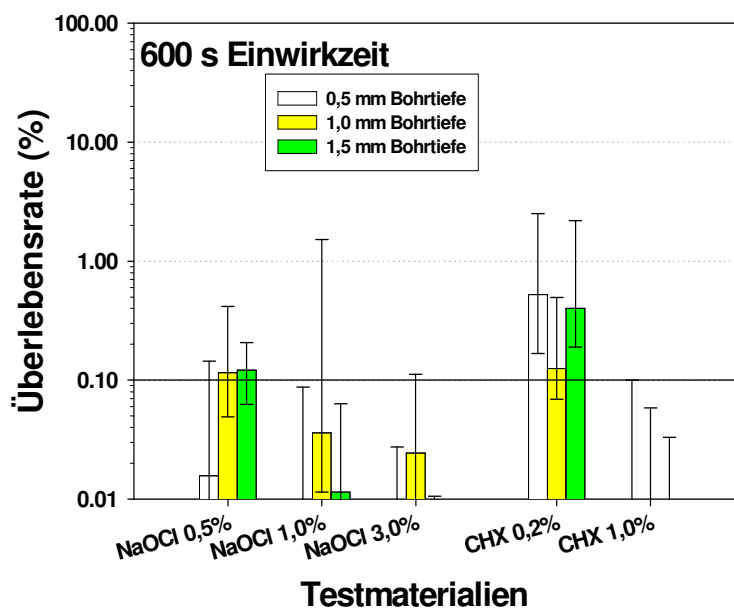


Abbildung 35: Darstellung der Werte aus Abbildung 33 mit logarithmischer Y-Ordinate

Eine genauere Analyse der Versuchsergebnisse bezüglich der verschiedenen Bohrtiefen und Einwirkzeiten verdeutlicht die oben genannten Zusammenhänge weiter. Zum besseren Verständnis werden alle Werte aus Tabelle 13 und Tabelle 14 auf zwei Dezimalstellen gerundet. Bei einer Einwirkzeit von 30 s überleben, unabhängig von der jeweiligen Art und Konzentration des Desinfektionsmittels, in einer Bohrtiefe von 0,5 mm im Median zwischen 0 % und 0,31 % der Bakterienkolonien. In einer Bohrtiefe von 1,0 mm erreicht die Überlebensrate 0 % bis 0,44 % und in 1,5 mm Bohrtiefe nur noch 0 % bis 0,23 %. Nach 600 s Einwirkzeit werden für eine Bohrtiefe von 0,5 mm im Median Überlebensraten zwischen 0 % und 0,53 %, für eine Bohrtiefe von 1,0 mm zwischen 0 % und 0,13 % und für eine Bohrtiefe von 1,5 mm zwischen 0 % und 0,40 % ermittelt. Die 25 %-Quantilen bewegen sich nach einer Einwirkzeit der Desinfektionsmittel von 30 s bei einer maximalen Überlebensrate von 0,05 % bis 0,29 %. Nach 600 s Einwirkzeit ergeben sich für die 25 %-Quantilen fast doppelt so hohe Überlebensraten von 0,17 % bis maximal 0,49 %. Im 75 %-Quantil erreichen die Bakterienkolonien nach einer Einwirkzeit des Desinfektionsmittels von 30 s eine maximale Überlebensrate von 0,53 % bis 1,18 %. Nach 600 s Einwirkzeit können im 75 %-Quantil jedoch maximale Überlebensraten von 1,52 % bis 2,52 % registriert werden. Eine Überprüfung der Ergebnisse mit der Error-Rates-Analyse bestätigt für eine Bohrtiefe von 0,5 mm ebenfalls signifikante Unterschiede in der Anzahl der Bakterienkolonien bezüglich der beiden Einwirkzeiten, während dagegen in 1,0 mm Bohrtiefe und 1,5 mm Bohrtiefe für beide Einwirkzeiten keinerlei signifikante Unterschiede mehr ermittelt werden können.

Lenkt man das Interesse nun zusätzlich auf die Wirkungstärke der jeweiligen Desinfektionsmittelkonzentrationen, kann festgestellt werden, dass CHX und NaOCl in gleichen Konzentrationen gleiche oder sehr ähnliche Desinfektionsergebnisse liefern. 0,2 % CHX und 0,5 % NaOCl erreichen im Median in allen Bohrtiefen eine maximale Überlebensrate der Bakterienkolonien von $\leq 0,5$ %, wobei allerdings 0,2 % CHX allen anderen Desinfektionslösungen und deren unterschiedlichen Konzentrationen meist deutlich unterlegen ist. In 0,5 mm Bohrtiefe wird für 0,2 % CHX ein Höchstwert von rund 2,5 % Überlebensrate gemessen, während sich die Desinfektionsergebnisse bei 0,5 % NaOCl nach 600 s Einwirkzeit gegenüber 30 s weiter verbessert haben. Nach 30 s Einwirkzeit liegen die Überlebensraten für beide Desinfektionsmittel noch bei $> 0,5$ %. Generell ist zu beobachten, dass 0,2 % CHX nach 30 s Einwirkzeit die bessere Desinfektionswirkung erzielt und 0,5 % NaOCl erst nach 600 s Einwirkzeit. Wird die Desinfektion der infizierten

Dentinproben mit CHX-Lösung durchgeführt, nimmt die Überlebensrate, unabhängig von der Konzentration, mit zunehmender Tiefe der Dentinschichten kontinuierlich ab. Beim Einsatz einer NaOCl-Lösung dagegen tritt in allen drei Konzentrationen gleichermaßen häufig in 1,0 mm Tiefe der Dentinschicht ein Einbruch in der Desinfektionswirkung auf. Die Schwankungsbreite der Desinfektionsergebnisse ist bei Verwendung einer CHX-Lösung immer größer als für eine NaOCl-Lösung. Auch höhere Konzentrationen der beiden Desinfektionslösungen von 1,0 % lassen diesen Zusammenhang bezüglich der größeren Schwankungsbreite für CHX erkennen. Die Überlebensraten dagegen pendeln sich für beide Desinfektionsmittel bei dieser Konzentration im Median bei $\leq 0,05$ % ein. Anders als bei den niedrigeren Konzentrationen sind für 1,0 % NaOCl bereits nach 30 s Einwirkzeit die besseren Desinfektionsergebnisse zu ermitteln, während dies für 1,0 % CHX erst bei einer Einwirkzeit von 600 s der Fall ist. Die Verwendung einer 3,0 % NaOCl-Lösung kann jedoch keine Verbesserung der Desinfektionsresultate mehr bewirken.

Vergleicht man die statistische Auswertung der Bohrtiefen gegeneinander mit den unterschiedlichen Einwirkzeiten, zeigt sich bei einer Einwirkzeit von 30 s nur für die 0,5 % NaOCl-Lösung eine statistisch signifikante Verbindung zwischen den Bohrtiefen 0,5 mm und 1,0 mm bezüglich der Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion und für die 0,2 % CHX-Lösung bezüglich der Überlebensrate. Bei einer Einwirkzeit von 600 s werden durch 0,5 % NaOCl die Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion und durch 0,2 % CHX sowohl die Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion als auch die Überlebensraten für alle Bohrtiefen beeinflusst (Tabelle 25 und Tabelle 26).

6. Diskussion

6.1 Material

6.1.1 Rinderzähne

Rinderzähne stellen aus vielerlei Gründen ein geeignetes Studienobjekt für In-vitro-Versuche in der zahnmedizinischen Forschung dar [51,150,161]. Zum einen sind die Rinderzähne den menschlichen Zähnen in ihrem morphologischen Aufbau bezüglich der Zusammensetzung des Dentins sowie der Dichte und des Durchmessers der Dentinkanälchen grundsätzlich sehr ähnlich. Jedoch sollen sowohl die Dichte als auch der Durchmesser der Dentinkanälchen bei Rinderzähnen geringfügig größer sein als bei menschlichen Zähnen [41,194].

Zum anderen liefern die Rinderzähne eine detailgetreue Vergrößerung der humanen Zähne, so dass der Versuchsmechanismus sehr viel anschaulicher dargestellt werden kann. Außerdem sind Rinderzähne leicht und in ausreichender Menge zu bekommen, wohingegen es bei menschlichen Zähnen oft schwierig ist, eine genügend große Anzahl von gleich alten Zähnen zu beschaffen. Allerdings ist auch bei Rinderzähnen der Altersspielraum begrenzt, denn ähnlich wie bei den menschlichen Zähnen schrumpft das Wurzelkanallumen während der Gebrauchsphase der Zähne durch eine schrittweise Sklerosierung der Dentinkanälchen infolge der Sekundär- und Reizdentinbildung, so dass die Zähne infolgedessen veränderte Permeabilitätseigenschaften besitzen können [51,68,92,130,136,150,161,187]. Dennoch liegt der Vorteil bei der Verwendung der Rinderzähne in Studien insbesondere darin, dass die Permeabilitätseigenschaften des Rinderdentins einfacher zu standardisieren sind als die des menschlichen Dentins. Die Permeabilität des Rinderdentins nahe der Schmelz-Zement-Grenze entspricht in etwa der des menschlichen Kronendentins. Das koronale Rinderdentin ist dagegen sechs bis acht Mal permeabler als das menschliche Kronendentin. Die Diffusionsrate, die für die Verteilung von Nährstoffen und Medikamenten eine wichtige Rolle spielt, ist für Rinderdentin etwas höher und nimmt nach dem Ätzen der Proben nochmals zu. Die Variation der Perfusionseigenschaften beträgt 70 % bei menschlichem Dentin und 30 % bei Rinderdentin, die Variation der Diffusionseigenschaften wird mit 64 % für menschliches Dentin und 22 % für Rinderdentin angegeben. Folglich

können die menschlichen Zähne für Studienzwecke gut durch Rinderzähne ersetzt werden [136].

6.1.2 Bakterienstamm

Schon in zahlreichen Studien hat man sich die Vorzüge des *Enterococcus faecalis* als Testkeim zunutze gemacht, da dieses fakultativ anaerobe Bakterium sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Wachstumsbedingungen in vitro leicht anzuzüchten ist und schnell wächst. Die pathogenen Eigenschaften des *E.faecalis* in vivo sind vor allem geprägt durch seine Fähigkeit, innerhalb kürzester Zeit tief in die Dentinkanälchen einzudringen und diese dicht zu besiedeln. Die Invasionsgeschwindigkeit beträgt den Angaben von Nagaoka et al. [98] zufolge bis zum 25. Inkubationstag 1,6 µm/Tag und bis zu 120 Tagen Inkubationsdauer 14 µm/Tag. Außerdem ist es in der Lage, einen schützenden Biofilm auszubilden und auch einem längeren Nahrungsmangel dulden zu können [54,81,106,139,145,158,161,173,203]. Hülsemann et al. [66] berichteten von einer Invasionstiefe der Bakterien in vivo von bis zu 1,2 mm. Orstavik und Haapasalo [55,106] beobachteten in ihren In-vitro-Versuchen nach nur zwei Tagen Inkubationszeit der Proben mit Bakteriensuspension, dass die Bakterien das zirkumpulpale Dentin bis in eine maximale Tiefe von 800-1000 µm penetriert hatten, wobei die Dentinkanälchen allerdings nur in den ersten 300-400 µm dicht besiedelt waren. Akpata und Blechman [4] gelang ebenfalls eine maximale Bakterieneinwanderung bis etwa zur Hälfte der gesamten Dentinschicht. Dabei kann zwar sowohl in vivo als auch in vitro die Anzahl der besiedelten Kanälchen von Zahn zu Zahn variieren, selten aber die erreichte Eindringtiefe [4,114,194]. Prinzipiell ist davon auszugehen, dass je mehr Bakterien vorhanden sind und je höher ihre Wachstumsrate ansteigt, desto größer die Penetrationstiefe in Abhängigkeit von der Inkubationszeit ist, wobei aus dem zervikalen Wurzelkanaldrittel meist mehr Bakterien isoliert werden können als aus dem mittleren und apikalen Wurzelkanaldrittel [89,115]. Insgesamt werden in vivo 62 % der Dentinkanälchen nach einer Infektion der Wurzelkanäle von Mikroorganismen besiedelt, wobei Bazillen das Dentin in größerer Anzahl penetrieren können als Kokken. *E.faecalis* kann aus 15 % der infizierten Wurzelkanalkulturen isoliert werden [4]. *E.faecalis* ist dabei deutlich häufiger mit asymptomatischen (11,5 %) als mit symptomatischen (3,7 %) endodontischen Infektionen assoziiert und hier wiederum insbesondere mit persistierenden Infektionen nach einer bereits erfolgten Wurzelkanalbehandlung (67 %). Gelegentlich kann es auch bei primären endodontischen

Infektionen (18 %) nachgewiesen werden. Zu den oralen Manifestationen des *E.faecalis* zählen neben Wurzelkanalinfektionen schließlich noch die chronische marginale Parodontitis und der periradikuläre Abszess [124].

Für die wissenschaftliche Arbeit ist dieses Bakterium vor allem deshalb von großem Interesse, weil *E.faecalis* ein Schlüsselpathogen bei persistierenden endodontischen Infektionen mit nicht-heilender apikaler Parodontitis zu sein scheint, sich wenig empfindlich gegen antibakterielle Reagenzien zeigt und dementsprechend nur schwer aus dem Wurzelkanalsystem zu entfernen ist [54,71,81,106,129,139,158-161,178,203,206]. Die Resistenz gegen einige Desinfektionsmittel, insbesondere Ca(OH)_2 , ist dabei unter anderem auf eine dichtere Besiedelung der Dentinkanälchen und die Bildung eines Biofilms zurückzuführen [86,106,206]. Bakterien, die in einen Biofilm eingebunden sind, reagieren entsprechend ihrer Wachstumsphase sowie der Dosis und Häufigkeit der Spülungen unempfindlicher als Suspensionsbakterien auf antimikrobielle Substanzen. In vivo überleben die Bakterienzellen im Biofilm noch bei Medikamentenkonzentrationen, die 100-1.000 mal höher liegen als die minimale Hemmkonzentration, die bei In-vitro-Testungen mit Suspensionsbakterien ermittelt wird [23,33,185]. Die Gründe dafür liegen in einer verzögerten Penetration dieser Reagenzien durch die Matrix des Biofilms (Biofilm als Diffusionsbarriere) und einer verlangsamten Aufnahme durch die mikrobiellen Zellen, die verminderte Wachstumsrate und andere physikalische Veränderungen (Nahrungsangebot, Bildung toxischer Stoffwechselprodukte, etc.), die das Wachstum in Biofilmen betreffen. Nicht-Biofilm-Populationen, wie Bakterienkolonien auf Agarflächen, verhalten sich wie „gestrandete“ planktonische (suspendierte) Bakterien und zeigen keine der Resistenzcharakteristika der echten Biofilme. Das Alter und das Reifestadium des Biofilms beeinflussen ebenfalls die Toleranz der Bakterien gegenüber den Desinfektionsmitteln [32,33,204]. So haben Portenier et al. [122] in ihren Studien festgestellt, dass sich *E.faecalis* während seiner Wachstumsphase um das bis zu 10.000-fache empfindlicher gegenüber Desinfektionsmitteln erweist als während der Ruhephase. Bakterienzellen, die sich zum Zeitpunkt ihrer Nutzung im Versuch in der Hungerphase befinden, geben die In-vivo-Situation im Wurzelkanallumen daher besser wieder als wachsende Bakterienpopulationen. Adhärente Bakterien sind außerdem im Gegensatz zu den schwimmenden Suspensionsbakterien nicht alle genetisch gleich und unterscheiden sich von diesen in circa 45 Genen [32]. Als Einschränkung bei In-vitro-Versuchen muss zudem berücksichtigt werden, dass sich die Entfernung von Mikroorganismen aus dem

Wurzelkanalsystem in vivo schwieriger gestaltet als in vitro [5]. Durch Untersuchungen von Bakterienkulturen mittels einer auf dem bakterienspezifischen 16 S-rRNA-Gen basierenden Polymerase-Ketten-Reaktion (engl. PCR) konnte auch bereits bewiesen werden, dass die Bakterien-DNA des *E.faecalis* mit den üblichen Desinfektionsmitteln nicht vollständig entfernt werden kann. So erkennt die PCR noch in 80 % der Proben die DNA von *E.faecalis*, während in konventionellen Bakterienkulturen lediglich noch 16 % der Proben als infiziert ermittelt werden [71,206].

Ebenfalls zu überdenken ist die Tatsache, dass Zoletti et al. [206] und Kaufman et al. [71] in ihren Studien beobachten konnten, dass zwar Zähne mit periapikaler Aufhellung in ihren Wurzelkanälen häufig mehr Bakterien beherbergen als Zähne ohne apikale Läsion, zwischen wurzelgefüllten Zähnen mit und ohne periapikaler Läsion aber bezüglich der Anwesenheit des *E.faecalis* kein Unterschied besteht. In Wurzelkanälen, die bereits mit Sealer und Guttapercha abgefüllt wurden, sind bei In-vitro-Versuchen ohne Nahrungszufuhr bis zu einem Jahr Überlebenszeit möglich, da bei kleiner Bakterienzeldichte geringste Mengen an Serum für einen minimalen Metabolismus ausreichend sein können. Dadurch erklärt sich auch eine eventuell vorhandene Persistenz einer periapikalen Infektion [47,139]. Befinden sich die Bakterien jedoch nur in Bereichen des Wurzelkanals, die keinen Anschluss zum Parodontium haben, zum Beispiel in der Schmierschicht oder in den Dentinkanälchen, und nicht in Apexnähe oder den akzessorischen Seitenästen des Wurzelkanalsystems, so ist eine Heilung der Läsion dennoch möglich [44]. Daher stellt sich seit einiger Zeit in der wissenschaftlichen Diskussion immer wieder die Frage, ob *E.faecalis* tatsächlich der Hauptauslöser für Misserfolge bei der Wurzelkanalbehandlung ist oder ob es nur als überaus widerstandfähiger und bestens an die veränderten Umgebungsbedingungen angepasster Mitbewohner in großer Zahl bei persistierenden Wurzelkanalinfektionen auftaucht, dabei aber nicht unmittelbarer Verursacher dieser Entzündungen ist [71,206].

6.1.3 Desinfektionsmittel

Eine wesentliche Forderung in der medizinischen Forschung verbirgt sich hinter dem Begriff der „Evidence-based medicine“. Dieser besagt, dass jede neu auf den Markt kommende Substanz oder Technik zuerst in klinisch kontrollierten Blindstudien gegenüber dem Goldstandard getestet werden muss [10,204].

Eine Vielzahl von Studien beschäftigte sich bereits mit dem Vergleich der antibakteriellen Wirksamkeit von Natriumhypochlorit und Chlorhexidindigluconat gegenüber dem Bakterienstamm *E.faecalis* [6,33,37,40,50,54,131,149,171,187]. Aus diesem Grund wird auch in der vorliegenden Studie, deren Ziel in erster Linie die Modifikation der Testmethode nach Orstavik und Haapasalo im Sinne einer Vereinfachung ist, auf diese altbewährten und vielfach getesteten Desinfektionsmittel in zwei beziehungsweise drei unterschiedlichen Konzentrationen zurückgegriffen. Ein Vergleich der desinfizierenden Wirkung von 0,5 %, 1,0 % und 3,0 % NaOCl mit 0,2 % und 1,0 % CHX wird hierfür als ausreichend repräsentativ erachtet. Hinsichtlich der antibakteriellen Wirksamkeit von NaOCl und CHX bestehen jedoch laut Vahdaty et al. [187] bei gleichen Konzentrationen von jeweils 0,2 % und 2,0 % in den ersten 100 µm der Dentinschicht, wo noch von einer gleichmäßigen Penetration aller Dentinkanälchen ausgegangen werden kann, keine Unterschiede. Estrela et al. [40] führen unterschiedliche Desinfektionsergebnisse bei gleichen Konzentrationen der Desinfektionslösungen auf die verschiedenen verwendeten Untersuchungsmethoden, die biologischen Ausgangsbedingungen und Indikatoren oder die Einwirkzeiten der Desinfektionsmittel zurück. Bei Portenier et al. [121] variieren die Desinfektionsergebnisse jedoch für NaOCl und CHX auf der Wurzelkanaloberfläche schon geringfügig, allerdings nicht mehr bei der Entnahme der Dentinproben aus tieferen Schichten der Wurzelkanalwand. Die sterilisierende Wirkung der Desinfektionsmittel sollte idealerweise daher auch ohne Kontakt zu den Mikroorganismen möglich sein. Dies gelingt aber bisher noch nicht ausnahmslos, weil das Desinfektionsmittel dazu erst in die Bakterienzellen aufgenommen und dort ein bestimmtes Konzentrationsniveau erreicht haben muss, um die Mikroorganismen abzutöten [17,167]. In direktem Kontakt zu den Bakterien (z.B. im Agardiffusionstest) werden die meisten Desinfektionsmittel auch in hohen Verdünnungen noch erfolgreich eingesetzt und töten die Bakterien schnell ab [51,170]. Bei In-vitro-Versuchen am Zahnmodell und auch in vivo können die Dentinkanälchen jedoch nur indirekt mittels der Spüllösungen desinfiziert werden [108]. Manche Desinfektionsmittel zeigen sogar eine klare Grenze für den Wirkungseintritt zwischen zwei bestimmten Konzentrationen. Außerdem lassen sich auch Unterschiede zwischen der Medikamentenwirkung und dem verwendeten Testmikroorganismus erkennen [167]. Die Empfindlichkeit gegenüber Desinfektionsmitteln wird bei gram-negativen Bakterien durch die Schädigung der äußeren Bakterienmembranstruktur erzeugt, so dass diese im Durchschnitt nach zwei Tagen abgetötet werden, während gram-positive Bakterien eine Desinfektion sogar bis zu vier Tage überleben können [118,205]. Wichtig ist vor allem, dass das Grundprinzip der Wirkungs-Toxizitäts-

Relation beachtet wird, da die Toxizität der antibakteriellen Substanzen um das Zehnfache höher ist als ihr antibakterieller Effekt. Die Reduktion der chemischen Toxizität verhält sich dabei direkt proportional zur Dicke der Dentinschicht [117,166].

6.2 Methode

6.2.1 Vorbehandlung

Da bereits bekannt ist, dass die Art der Lagerung von Zähnen, insbesondere in desinfizierenden Lösungen, und das Sterilisationsverfahren die Permeabilitätseigenschaften von Dentinproben hinsichtlich der Bakterieninvasion und der Degeneration von organischen Komponenten beeinflussen können [136], wurden die Rinderzähne in dieser Versuchsreihe möglichst bald nach der Extraktion und Säuberung in destilliertes Wasser umgesetzt. Der Autoklavivorgang an sich führt dabei noch nicht zu bedeutsamen Veränderungen oder einer erkennbaren Rissbildung im Dentin [95,115]. Schon Miller fand jedoch heraus, dass die durch das Autoklavieren der Nährmedien oft gebildeten toxischen Sauerstoff-Radikale die anaeroben Bakterien schon im Vorfeld der Desinfektion abtöten können [175]. Wie sich während der eigenen Vorversuche herausstellte, läuft offenbar ein ähnlicher Prozess ab, wenn dem Nährmedium ein Hepes-Puffer zugesetzt wird. Dieser sollte eigentlich verhindern, dass das Dentin durch die von den Bakterien ausgeschiedenen Säuren modifiziert wird. Zu berücksichtigen ist außerdem, dass die Aktivität von Säuren und Basen, die über ihren pH-Wert wirken, durch die Pufferkapazität des künstlichen Mediums ebenfalls verändert werden kann [149].

Ein schlechtes Infektions- und Desinfektionsergebnis kann dagegen oft auch durch physikalische Barrieren bedingt sein, wie zum Beispiel das natürliche Vorhandensein einer Schmierschicht oder sklerosierte apikale Dentinbereiche [91]. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde deshalb eine Schmierschichtentfernung mit EDTA-Lösung durchgeführt und die Wurzelspitzen der Rinderzähne verworfen. In der Zahnarztpraxis werden dazu häufig 17 % EDTA, 10 % Zitronensäure oder 35 % Phosphorsäure eingesetzt. Ihr bedenkenloser Einsatz ist bereits durch eine frühere Studie von Portenier et al. [119] sichergestellt worden. Demnach nimmt eine Vorbehandlung mit EDTA (17 %) oder auch Zitronensäure (50 %) kaum Einfluss auf die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel. Jedoch würden Phosphor- und Zitronensäure das ungeordnete Kollagen denaturieren und eine Gelmatrix bilden, welche wiederum die Mineralien vor einer Auflösung schützen könnte. Keines dieser Reagenzien kann sowohl den mineralischen als auch den Kollagenanteil der Schmierschicht entfernen.

Ein weiterer Vorteil der gleichzeitigen Ätzung des Dentins liegt für In-vitro Versuche darin, dass eine Vergrößerung der Dentinkanälcheneingänge um das zwei- bis dreifache ihres ursprünglichen Durchmessers bewirkt und die Permeabilität der Dentinproben für Diffusionsvorgänge um das fünffache seiner natürlichen Permeabilität erhöht wird, was wiederum die Infektion und Desinfektion der Wurzelkanalsegmente erleichtert [192]. Da EDTA die Hydroxylapatitkristalle vollständig auflöst und dabei die Kollagenstruktur nicht wesentlich verändert, wurde in dieser Versuchsreihe auf eine 20 % EDTA-Lösung zurückgegriffen, wie sie standardmäßig in der Zahnklinik der Universität Regensburg angewendet wird. Ansonsten sollte die natürliche Wurzelkanaloberfläche nicht weiter modifiziert werden.

6.2.2 Versuchsaufbau

In vielen früheren Studien, die ebenfalls auf den Versuchsmodellen von Orstavik und Haapasalo [55,106] basierten, wurde das Wurzelkanallumen immer bereits vor der Infektion mit Bakterien durch eine Vorbohrung normiert und damit auch die natürliche Wurzelkanaloberfläche abgetragen [27,43,51,81,93,148,150,161,187]. Zudem hatten Orstavik und Haapasalo bei ihren anfänglichen Versuchen noch das Wurzelzement, das die Bakterien nicht durchdringen können, entfernt, um das Eindringen der Bakterien in die Dentinkanälchen durch Diffusionsvorgänge auch von der Wurzeloberfläche her zu erleichtern. Die Außenfläche wurde nach der Infektion wieder mit Nagellack abgedichtet, um sicher zu stellen, dass die anschließende Desinfektion nur vom Wurzelkanallumen her geschehen konnte. Dies entspricht jedoch nicht den natürlichen Verhältnissen in der Mundhöhle. Denn eine rein endodontisch verursachte Pulpitis kommt, zumindest im Anfangsstadium der Entzündung, überhaupt nicht mit der Umgebung des Zahnes in Kontakt, sondern der Wurzelkanal ist eher hermetisch nach außen abgeschlossen. Ein allseitiges und flächendeckendes Eindringen der Bakterien in die Pulpa aus dem angrenzenden Zahnhalteapparat scheint daher unrealistisch und eine Superinfektion droht allenfalls über etwaige Seitenkanälchen und das Foramen apicale. Wurde die Zementschicht hingegen belassen, war auch in den Versuchen von Orstavik und Haapasalo die Infektion von der Pulpakammer ausgehend verlangsamt [55,89]. Durch die Infektion des Wurzelkanals mit Bakterien erst nach der vorgeschalteten Aufbereitung kann sich außerdem kein am Dentin haftender Biofilm mehr ausbilden, wie dies der Situation in vivo entspräche, so dass in vitro

die mechanische Spülwirkung weitaus stärker ausgeprägt sein kann [141]. Liegen die Bakterien nämlich in einem Biofilm als Bakterienclustern zusammen, werden nur die äußeren Bakterien von den Desinfektionsmitteln angegriffen, die zentralen Bakterien dagegen sind geschützt und können überleben [7].

Was den Mechanismus der Bohrprobengewinnung angeht, sollte deshalb in der vorliegenden Arbeit ein völlig neuer Weg gegangen werden. So wurde insbesondere die Richtung der Probebohrungen geändert und für die Sammlung der Dentinspäne im Verlauf der Dentinkanälchen gebohrt und nicht, wie in vorhergehenden Versuchsmodellen, parallel zur Wurzelkanaloberfläche. Gleichzeitig wurde aber dennoch die Kontrollmöglichkeit in unterschiedlichen Dentinschichttiefen (hier 0,5 mm, 1,0 mm und 1,5 mm) beibehalten. Im Gegensatz zu den Versuchen von Orstavik und Haapasalo muss für die Probengewinnung aus den unterschiedlichen Dentinschichten nicht mehr für jede Bohrtiefe wiederholt die gesamte Kanalwand bearbeitet werden, sondern die Dentinspäne können punktuell an einer noch nicht berührten Stelle entnommen werden. Ungeklärt bleibt in bisherigen Studien auch, ob die Bakterien nach der Infektion durch die Aufbereitung noch weiter in die Dentinkanälchen gedrückt werden können und damit bei der Analyse nicht zu erfassen sind [194]. Bei dem für diese Studie neu konstruierten Versuchsmodell scheint eine Aspiration der Bakterien bei der Probenentnahme aber wahrscheinlicher zu sein. Ein ganz besonderes Anliegen bei der Entwicklung dieses Versuchsaufbaus bestand zudem darin, dass jeder Zahn seine eigene Kontrolle darstellen sollte. Das heisst, sowohl die Sterilkontrolle als auch die Infektions- und Desinfektionsprobe stammen von ein- und demselben Rinderzahn. Die Bohrvorrichtung selbst, die aus einer handelsüblichen Ständerbohrmaschine besteht, weicht zwar von der sonst stets geforderten Praxisnähe beträchtlich ab, ist jedoch für In-vitro-Versuche aufgrund der besseren Übersichtlichkeit und leichteren Handhabung durch die Fixiermöglichkeiten bestens geeignet. Die Rosenbohrer hingegen sind wieder dem zahnärztlichen Instrumentarium entnommen, entsprechen jedoch ebenfalls nicht den üblichen endodontischen Aufbereitungssystemen mit Feilen. Für die notwendige Reproduzierbarkeit der Bohrtiefen sorgt eine in die Bohrmaschine integrierte digitale Anzeige in 1/100 mm. Die Drehzahl beträgt, wie beim zahnärztlichen Handstück auch, circa 1.000 Umdrehungen pro Minute. Weniger zufriedenstellend gelingt in dieser initialen Studie dagegen die Sammlung der Bohrspäne für die Bestimmung des Infektions- und Desinfektionsergebnisses und die Umsetzung in Nährmedium. So variiert die Beschaffenheit des Spanabtrags in Abhängigkeit vom Zustand der Dentinoberfläche unmittelbar vor der Bohrung: Befanden sich in den Proben ein oder mehrere Dentikel, so musste diesen Strukturen, wenn möglich, ausgewichen werden.

Ein anderes Problem ergab sich hinsichtlich der Feuchtigkeit der Dentinoberfläche zum Zeitpunkt der Bohrung. Bei der einen Probe kann diese schon wieder zu trocken sein, so dass die Bohrspäne etwas weiter im Wurzelkanallumen verstreut werden, bei der anderen Probe ist sie noch zu feucht und die Bohrspäne schwimmen auf der Wurzelkanaloberfläche. Damit bei der Probengewinnung also möglichst wenig Probenmaterial verloren ging und das Volumen an gesammelten Bohrspänen annähernd gleich groß war, wurde versucht, die Wurzelkanaloberfläche bei der Bohrung immer leicht feucht zu halten, so dass die Bohrspäne am Rosenbohrerkopf haften beziehungsweise als gebündelte Masse am Bohrloch liegen bleiben. Ein weiterer Kritikpunkt betrifft die Überführung der Bohrspäne in das Flüssignährmedium, die ausschließlich mechanisch und von Hand bewerkstelligt wird, da an dieser Stelle ebenfalls Probenmaterial vom Rosenbohrerkopf und aus dem Probenlumen abfallen beziehungsweise am Handschuh zurückbleiben kann. Diesbezüglich besteht in weiterführenden Studien sicherlich noch ein Optimierungsbedarf der hier angewandten Methode.

Obwohl für die Bestimmung der Infektions- und Desinfektionsrate die konventionelle Bakterienkultur inzwischen nicht mehr die innovativste Methode darstellt, hat man sich für diese Studie dennoch auf dieses Verfahren geeinigt, da der Schwerpunkt der Arbeit in der Entwicklung einer modifizierten Methode des Basismodells von Orstavik und Haapasalo zur Testung von Desinfektionsmitteln *in vitro* liegen sollte. Denn die wesentlich empfindlicheren und sichereren molekularbiologischen Techniken, wie zum Beispiel eine PCR, sind für diesen Zweck als zu aufwendig und kostenintensiv einzustufen, auch wenn für eine PCR eine sehr viel geringere Zellzahl zur quantitativen Bakterienkulturanalyse ausreichend wäre. Gleichzeitig besteht jedoch auch hier immer die Gefahr, dass die Nachweisgrenze, die bei 7.500 Kolonie-bildenden Einheiten beziehungsweise 15 Bakterienzellen liegt, unterschritten wird. Prinzipiell gestaltet sich bei jedem Verfahren eine exakte Quantifizierung der Infektion aufgrund von Strukturunregelmäßigkeit in der Wurzelkanalwand und den verschiedenen akzessorischen Kanälchen schwierig [123,138,154,156,206].

Langfristiges Ziel der Forschung bleibt es dennoch, mit Hilfe der Molekularbiologie vorhersagbare, messbare, biologische Indikatoren für den Behandlungserfolg zu finden. Das Problem dabei wird auch in Zukunft sein, dieses Wissen in definierte Behandlungsprinzipien umzusetzen und für die klinische Diagnostik und Therapie Regeln aufzustellen, die im Praxisalltag praktikabel sind und es dem Behandler erlauben, die Situation richtig einzuschätzen und anschließend entsprechende Behandlungsmaßnahmen vorzunehmen [144,168].

6.2.3. Infektions- und Desinfektionsvorgang

In vitro stellt das Bakterienwachstum im Wurzelkanal stets einen gesteuerten Vorgang dar. Der Infektionsgrad wird dabei anhand der Anzahl der Bakterien bestimmt, die während der Inkubationsphase in die Dentinkanälchen der Wurzelsegmente eingedrungen sind. Wie bereits aus früheren Untersuchungen ersichtlich ist, variiert dieser von Probe zu Probe oft sehr stark [4,15,114,171]. Als eine mögliche Ursache für derartige Differenzen bezüglich der initialen Infektionsrate wird in der Literatur vermutet, dass die Ausrichtung der Dentintububli einen Einfluss auf das Penetrationsverhalten der Bakterien ausübt [114,194]. Man weiß aber inzwischen auch, dass dieser Vorgang stark vom Nahrungsangebot abhängt. So wachsen die Bakterien deutlich besser, sobald in den Dentinkanälchen Medium vorgelegt wird. Diese Beobachtungen bestätigten sich auch im Rahmen der eigenen Vorversuche, in denen als Medium TSB verwendet wird [111,115]. Die wichtigste Voraussetzung für eine Infektion des Wurzelkanalsystems in vitro ist aber das Anheften der Bakterien an die Kanalwand [201]. In der Literatur wurde mehrfach berichtet, dass bereits nach einem Tag in einzelnen Kanälchen eine Infektion stattgefunden hat, innerhalb von nur zwei bis fünf Tagen sogar über die gesamte Länge der Dentinkanälchen [81,95,106,191]. Analog dazu wird in der hier durchgeführten Studie für die Infektionsphase daher eine Inkubationsdauer von einer Woche gewählt. Wie auch die eigenen Voruntersuchungen veranschaulichen, ist mit fortschreitender Infektionsdauer nur noch ein langsam zunehmendes Wachstum registrierbar. Zwischen einer, zwei und drei Wochen Infektionszeit können kaum mehr große Unterschiede in der Dichte der Bakterienbesiedelung je Dentinkanälchen festgestellt werden. Jedoch sind dann etwas mehr Kanälchen mit Bakterien gefüllt. Proben, die nach 72 Stunden nicht infiziert werden konnten, zeigen hingegen auch zum Ende der Inkubationszeit noch kein Bakterienwachstum. Insgesamt werden generell nur in wenigen Dentinkanälchen Bakterien gefunden [51,139,191]. Außerdem fällt auf, dass die meisten Bakterien nahe der Trepanationsöffnung im zervikalen Wurzeldrittel beobachtet werden können, im Apexbereich dagegen dringen unter In-vitro-Bedingungen kaum noch Bakterien in die Dentinkanälchen ein [4]. Auf den angefertigten rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen ist außerdem deutlich zu erkennen, dass die in die Dentinkanälchen eingewanderten Bakterien entweder singulär verstreut sind oder einzelne Cluster bilden. Die aus der Mikrobiologie bekannten charakteristischen Wachstumsketten konnten allerdings in dieser Versuchsreihe nicht beobachtet werden [90]. Die Cluster- und Kettenbildung als morphologische Struktur scheint dennoch eine Bedingung für die Besiedelung der Dentinkanälchen mit Bakterien zu sein. Andererseits können diese aber auch

zu Verstopfungen im Bereich der Kanälcheneingänge beitragen. Eine vitale Pulpa besitzt zudem eine größere Resistenz gegen eindringende Bakterien als eine devitale Pulpa. Inhibierend wirken sich außerdem die Odontoblastenfortsätze in den Dentinkanälchenöffnungen aus, die zum Teil sehr weit in die Dentinkanälchen hineinragen und eine natürliche Barriere für die Bakterien darstellen. Auch eine komplexe Anatomie des Wurzelkanals und anderweitige Kanälchenverengungen, die ebenfalls als eine Art physikalische Barriere die Penetration der Bakterien verhindern, können die Ergebnisse beträchtlich negativ beeinflussen [113,171]. Außerdem müssen die Größe der Mikroorganismen ($>1 \mu\text{m}$), der Durchmesser der Dentinkanälchen ($4-7 \mu\text{m}$) sowie die spezifische Wachstumsrate einer Bakterienspezies berücksichtigt werden, denn die Bakterien folgen dem Nährmedium lediglich durch passive Diffusionsvorgänge in die Dentinkanälchen. Zudem können morphologische Aspekte, wie das Vorhandensein einer Kapsel oder einer Geißel beziehungsweise von Fimbrien, die in Einzelfällen erst durch die Kulturbedingungen modifiziert werden, die Einwanderung der Mikroorganismen in die Dentinkanälchen begünstigen [89,111,150].

Für die anaeroben Bedingungen im Wurzelkanallumen sorgt bei diesem Versuchsmodell eine Abdeckung der Wurzelkanallumina mit einem Deckgläschen. Auch Tanriverdi et al. [178] verschlossen in ihrer Versuchsreihe die obere Kanalöffnung mittels einer provisorischer Füllung, um ein geschlossenes System zu erhalten, ähnlich der Situation *in vivo*.

Zahn- und Dentinproben-Modelle entsprechen daher zwar eher der Situation *in vivo* als zum Beispiel ein Agardiffusionstest, geben aber immer noch nicht die tatsächlich involvierte, komplexe Mischflora *in vivo* wieder und berücksichtigen ebenso wenig den Einfluss der Hydrodynamik auf die Entwicklung von Biofilmen [42]. Flüssigkeitsströme ermöglichen *in vivo* den Austausch von Proteinen, Glykoproteinen und anderen Nährstoffen, wobei die Diffusionsgeschwindigkeit von Proteinen $0,023 \mu\text{m/s}$ beträgt [117]. Aber auch die Ausbreitung der bakteriellen Stoffwechselprodukte im Wurzelkanal wird erleichtert, was wiederum das Wachstum, die Dichte und die Verteilung der Bakterien im Biofilm nachhaltig beeinflusst [33]. Yang et al. [201] verwendeten daher in ihren Studien anstelle eines ruhenden konzentrierten Nährmediums bereits eine Durchflusskammer, die mit einem verdünnten Medium gefüllt war. In zwei anderen Arbeiten lief die Inkubation mit der Bakteriensuspension ebenfalls unter Bewegung der Probengefäße ab [45,141]. Da die Dentinkanälchen *in vitro* offenbar ohne technische Unterstützung nur schwer mit Bakterien zu befüllen sind, führte die Überlegung, man könne die Bakterien in Richtung der

Dentinkanälchen beschleunigen, dazu, dass auch in der vorliegenden Studie für die Inkubation der Proben ein Rüttelgerät, wie es in jedem Dentallabor verwendet wird, zum Einsatz kam, um diesem Aspekt der Dynamik annähernd gerecht zu werden. Auf einen kontinuierlichen Flüssigkeitsaustausch wurde allerdings auch hier verzichtet.

Letztendlich kann für die Testung der desinfizierenden Wirkung der verwendeten Desinfektionslösungen hinsichtlich der Anzahl der Bakterienkolonien, die in die Dentinkanälchen eingedrungen sind, ähnlich wie in der Natur auch, nicht von einem einheitlichen mikrobiologischen Milieu in den einzelnen Versuchsgruppen ausgegangen werden. Dies mag zwar für eine Standardisierung der Untersuchungsergebnisse als Nachteil zu bewerten sein, jedoch repräsentiert es die natürliche Situation *in vivo* wahrscheinlich deutlich realistischer als eine einheitliche Infektionsrate.

Was den Desinfektionsvorgang betrifft, ist bisher jedoch ungeklärt, ob die Bakterienreduktion vor allem durch die Dynamik der Spülung an sich und das Auswaschen der Bakterien zustande kommt, oder ob auch eine tatsächliche antibakterielle Wirkung der Desinfektionslösungen im Kanalinneren vorliegt. Denn obwohl die Filtrationsrate des Dentins nach der Infektion mit Bakterien um mehr als die Hälfte abfällt, sind NaOCl und CHX immer noch in der Lage, das Dentin zu demineralisieren und dadurch dessen ursprüngliche Mikrohärtigkeit bis in eine Dentinschicht von 1000 µm zu vermindern [95,103]. 5,0 % NaOCl bewirkt sogar eine Steigerung der natürlichen Mikrodurchlässigkeit des Dentins um mehr als 100 % [8]. Andererseits reduziert auch eine Kochsalzlösung die Bakterienanzahl im Wurzelkanal in Abhängigkeit von der Häufigkeit und Menge der Spülungen sowie der Injektionstiefe durch ihre bloße physikalische Spülwirkung bereits um 98 % [15,66,97,155]. In einer anderen Studie war daher auch vermutet worden, dass nur die gewählten Einwirkzeiten zu kurz waren, um alle Bakterien auch in den geschützten Bereichen des Wurzelkanals zu erreichen. Folglich resultieren in den Versuchsreihen immer auch einige positive Bakterienkulturen [153]. Außerdem unterscheiden sich die Messergebnisse bezüglich der minimalen Hemmstoffkonzentration für Bakterien besonders dann deutlich, wenn die Mikroorganismen nicht in einem Flüssigmedium gezüchtet worden sind, wie bei einfachen experimentellen Versuchen, sondern der klinischen Situation angenähert als Biofilm an der Zahnoberfläche haften. Die Art und Konzentration der Desinfektionsmittel wurde für die Versuchsreihe ebenfalls so gewählt, dass die am häufigsten im klinischen Alltag zum Einsatz kommenden Substanzen NaOCl und CHX in sehr niedrigen und in höheren Konzentrationen inbegriffen sind und ein Vergleich mit anderen Studien möglich ist. Bezüglich der

Einwirkzeit der Desinfektionsmittel beschränkt sich diese Studie auf zwei extreme Vorgaben: Ein Teil der Versuchsreihe wird mit einer Einwirkzeit von nur 30 Sekunden durchgeführt und der andere mit einer Einwirkzeit von zehn Minuten. So können auch in der Praxis für die Dauer eines einzelnen Spülvorganges in etwa 30 Sekunden veranschlagt werden. Eine Gesamtdauer des Spülvorganges von zehn Minuten ist für die praktische Anwendung ebenfalls als realistisch einzuschätzen. Ein technischer Einfluss auf die Größe des Wurzelkanallumens und demzufolge auch die Menge an injiziertem Desinfektionsmittel sollte dagegen nicht stattfinden. Ebenso wird auf eine Inaktivierung der Desinfektionsmittel mit Thiosulfat verzichtet, da eine solche auch in der Praxis nicht durchgeführt und somit eine eventuell vorhandene Langzeitwirkung nicht unterbunden wird.

6.3 Ergebnisse

Generell herrscht eine große Variabilität innerhalb der Versuchsbedingungen und auch die Ergebnisse weichen zum Teil sehr stark voneinander ab, insbesondere dann, wenn die Anzahl der Stichproben, wie in der vorliegenden Studie auch, sehr klein ist. Teilweise variieren sie innerhalb einer Studie sogar von Zahn zu Zahn. Diese Unterschiede lassen sich aber häufig auf die Sensibilität der angewandten Methode, die Art und das Alter der Testkeime, die Menge der Bakteriensuspension, die Inkubationszeit und die Inkubationsbedingungen, die benutzten Nährmedien sowie einen mangelnden Kontakt zwischen Testsubstanz und Bakterien sowie die Applikationsdauer der Desinfektionsmittel zurückführen [149,171].

Auch in der vorliegenden Versuchsreihe ist eine relativ große Schwankungsbreite in der Besiedelung der Dentinkanälchen mit Bakterien zu verzeichnen. Die Vermutung, diese könnte mit dem Durchmesser des Wurzelkanallumens und demzufolge dem Volumen der injizierten Bakteriensuspension in Zusammenhang stehen, konnte anhand einer tendenziellen Einordnung der Proben in fünf Gruppen von sehr großen (++) und großen (+), über ideale (\pm) bis hin zu kleinen (-) und sehr kleinen (--) Kanallumina nicht erhärtet werden (Tabelle 28).

Orstavik und Haapasalo ermittelten in ihren Versuchen mit Rinderzähnen, dass die Dentinkanälchen bis in eine Dentinschichttiefe von 400 μm dicht, bis 500 μm mäßig und maximal bis in eine Tiefe von 800-1000 μm mit *E.faecalis* besiedelt werden [55]. Torabinejad et al. [183] berichteten ebenfalls über eine Eindringtiefe der Bakterien in die Dentintubuli von 479-737 μm . Diese Angaben decken sich vollständig mit den Ergebnissen der vorliegenden Versuchsreihe. Insgesamt nimmt die Anzahl der Bakterienkolonien mit zunehmender Bohrtiefe von 0,5 mm bis 1,5 mm eindeutig ab, wenn man rechnerisch den Infektionsgrad der vorherigen Dentinabschnitte subtrahiert. Peters et al. [114] konnten in ihrer Studie beobachten, dass sich in vivo bei rund 81 % der infizierten Zähne die Bakterien in der pulpanahen Dentinschicht aufhalten. Wiederum 30 % davon enthalten sogar mehr als 50.000 bakterienkolonie-bildende Einheiten (=KBE). In pulpanäheren Dentinschichten konnte außerdem eine höhere Anzahl an anaeroben und gram-positiven Bakterienstämmen gezählt und zugleich eine größere Bakterienvielfalt festgestellt werden. Histologisch war nur bei zwei Drittel der beteiligten Zähne eine Penetration von Bakterien in die Dentinkanälchen nachweisbar, da eine Infektion mit weniger als 10.000 KBE mittels Bakterienkulturen nicht mehr erfasst werden kann beziehungsweise die Menge der Dentinspäne zu gering ist, um sehr wenige vorhandene Bakterien aufspüren und anzüchten zu können. Andere Studien haben gezeigt, dass eine Bakterienansiedelung in den oberflächlichen Dentinschichten in

Einzelfällen auch fehlen kann, während in den tieferen Schichten durchaus Bakterien anzutreffen waren. Bei Versuchen mit menschlichen Zähnen gelang dagegen nur eine spärliche Infektion mit Bakterien innerhalb von 10-150 μm . Als maximale Eindringtiefe wurden hier 350 μm genannt [128]. Nagaoka et al. [98] beobachteten unter dem Rasterelektronenmikroskop nach 150 Tagen Expositionsdauer der Proben in der Mundhöhle sogar eine maximale Eindringtiefe von 2,1 mm. Die Kulturagar sind laut einer Untersuchung von Lynne et al. [93] bei einer 1:1.000-Verdünnung mit 30 bis 300 Kolonien bewachsen. In den eigenen Versuchen schwankte die Kolonienanzahl bei 1.000-facher Verdünnung der Probensuspension zwischen 1 und 342 KBE. Nach der Desinfektion können im Mittel noch zwischen 15 und 50 Bakterienkolonien isoliert werden. Akapta et al. [2] zählten nach der Desinfektion der Proben ebenfalls weniger als 50 Bakterienkolonien.

Während die Einwirkzeit, außer bei niedrig konzentrierten Desinfektionslösungen, den eigenen Untersuchungen zufolge keinen signifikanten Einfluss auf das Desinfektionsergebnis nimmt, wird eine Abhängigkeit von der Konzentration der Desinfektionsmittel ganz deutlich wiedergegeben. Konzentrationen unter 1,0 %, sei es nun eine 0,5 % NaOCl-Lösung oder eine 0,2 % CHX-Lösung, besitzen eine weitaus schlechtere antibakterielle Wirkung als Lösungen mit Konzentrationen von 1,0 % und mehr, wobei die Schwankungsbreite der überlebenden Bakterienkolonien in einer Dentinschichttiefe von 1,0 mm meistens am größten ausfällt. Die besten Ergebnisse wurden mit 1,0 % NaOCl erzielt, gefolgt von 1,0 % CHX. Das unsicherste Desinfektionsergebnis lieferte 0,2 % CHX. Eine Einwirkzeit von 30 Sekunden, die den Zeitbedarf einer adäquaten Wurzelkanalbehandlung zweifellos unterschreitet, schien für die effektive Desinfektion auszureichen. Eine Studie von Gomes et al. [50] bestätigte zwar für 1,0 % CHX eine benötigte Einwirkzeit von weniger als 30 Sekunden, forderte aber bei Verwendung einer 1,0 % NaOCl-Lösung 20 Minuten Kontaktzeit und für eine 2,5 % NaOCl-Lösung immerhin noch 10 Minuten Einwirkzeit. Die Auswertung der Desinfektionsergebnisse in der vorliegenden Studie lässt jedoch erkennen, dass eine Verlängerung der Einwirkzeit von 30 Sekunden auf 10 Minuten nur bei Einsatz einer CHX-Lösung noch eine geringfügige Verbesserung des Desinfektionsergebnisses liefert, was wiederum den Effekt der Langzeitwirkung des CHX unterstreicht. Eine mögliche Erklärung für diesen Sachverhalt stellt eine Pufferwirkung des Dentins auf die verschiedenen Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von der Konzentration des Medikamentes und der Einwirkzeit dar. Die Pufferkapazität des Dentins verhindert vor allem bei niedrigen Lösungskonzentrationen, dass in den Dentinkanälchen ein pH-Wert von mehr als 11,5 erreicht wird, der für das in dieser Studie verwendete Bakterium *E.faecalis* tödlich wäre.

Stattdessen kann höchstens ein pH-Wert von 10,3 registriert werden [42,142]. Die antibakterielle Wirkung des CHX wird dabei vor allem durch eine Bindung an die anorganischen Bestandteile des Dentins und die hitzegetöteten Mikroorganismen merklich verzögert oder sogar inaktiviert. Zudem kann CHX nur circa 100 µm in die Dentinkanälchen eindringen [7]. Dennoch bleibt die Desinfektionswirkung meist erhalten und gilt auch über einen längeren Zeitraum als gesichert [120,121]. So waren bei Portenier et al. [119] 24 Stunden, nachdem suspendierte Dentinproben für eine Stunde mit 0,02 % CHX behandelt und anschließend mit Bakterien infiziert worden waren, immer noch 0,1 % der ursprünglichen Bakterienanzahl am Leben. Bei älteren Bakterienkulturen vervielfacht sich die Anzahl der überlebenden Bakterienzellen sogar um den Faktor 1.000-10.000, bedingt durch eine Veränderung in der Zelloberfläche beziehungsweise den physiologischen Status der Zellen [121]. Für die Bewertung der Ergebnisse sollte daher auch berücksichtigt werden, in welcher der drei Wachstumsphasen sich die Bakterien zum Zeitpunkt der Desinfektion befunden haben, da die Überlebensrate der Bakterien während der exponentiellen Wachstumsphase (0-6 Stunden) und in der stationären Phase (6-24 Stunden) nach höchstens zehn Minuten Einwirkzeit auf weniger als 0,1 % absinkt. In der Hungerphase (24-36 Stunden) sind die Bakterienzellen dagegen äußerst resistent und können selbst nach zehn Minuten Einwirkzeit, unabhängig davon, ob als Desinfektionsmittel $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CHX oder NaOCl verwendet wurde, nicht mehr vollständig eliminiert werden. Die Überlebensraten liegen dann in einem Bereich von 0,15-9,3 % [121]. Einer Studie von Dunavant et al. [33] zufolge liegt die Abtötungsrate für 1,0 % NaOCl nahezu konstant bei 99,78 %. Die eigenen Untersuchungen zeigen ebenfalls, dass für 1,0 % und 3,0 % NaOCl sowie für 1,0 % CHX im Median eine Überlebensrate von 0-0,1 % erreicht werden konnte, was einer Keimzahlreduktion von mehr als drei Log-Stufen entspricht. Selbst mit den niedriger konzentrierten Desinfektionsmitteln 0,5 % NaOCl und 0,2% CHX kann im Median noch eine Keimzahlreduktion um zwei Log-Stufen erzielt werden, so dass auch hier nur noch eine sehr geringe Überlebensrate von 0,5 % und weniger angenommen werden muss (Abbildung 32 bis Abbildung 35). Die Abtötungsrate wurde, wie auch die Überlebensrate im vorliegenden Versuch, als Prozentsatz der Reduktion der initialen Bakterienanzahl berechnet, so dass es durchaus möglich ist, dass trotz einer hohen Abtötungsrate beziehungsweise niedrigen Überlebensrate noch eine große Anzahl lebender Bakterien in den Dentinkanälchen zurückbleibt [166], wie auch Tabelle 11 und Tabelle 12 zu entnehmen ist.

Als statistisch signifikante Ergebnisse werden zum Beispiel bei der Flächenhygiene im medizinischen Bereich für die Reinigung jedoch auch schon eine Keimzahlreduktion von

circa 50-80 % und für eine Desinfektion von mindestens 84-99,9 % angesehen [80]. Im Lebensmittelbereich und für die Trinkwasseraufbereitung sowie nach den WHO-Richtlinien von 2005 für die Händehygiene im Gesundheitswesen wird eine messbare Keimzahlreduktion von 2-3 log-Stufen in Abhängigkeit von der zu erwartenden Keimzahl sowie der Konzentration und Einwirkzeit des verwendeten Desinfektionsmittels gefordert [9,18,34,62,80,196]. Auch in einer Dissertation aus dem Jahre 2002 unter dem Titel „Flächenkontamination im Krankenhaus: Gegenüberstellung von Reinigung und Desinfektion in Bezug auf ihren Einfluss auf das potentielle Infektionsrisiko“ am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München kommt die Autorin ebenfalls zu der Einschätzung, dass eine Reduktion der Keimzahl von 90-99,9 % in praxisnahen Untersuchungen realistisch erscheint. Eine Reduktion um 2-3 log-Stufen sei schließlich bezüglich des Infektionsrisikos völlig ausreichend und die in den oben genannten deutschen Richtlinien geforderte Reduktion um mindestens 4-5 log-Stufen nicht unbedingt notwendig [31].

Darüber hinaus darf bei der Auswertung der eigenen Desinfektionsergebnisse nicht übersehen werden, dass bei einem Großteil der Proben die Anzahl der überlebenden Bakterienkolonien gegen 0 zu gehen scheint und die oben genannten Maximalwerte nicht die Regel darstellen, sondern vielmehr die Ergebnisse für einzelne Proben widerspiegeln können. Gleiches gilt für die Verteilung der 25 %- und 75 %-Quantile, wenn aufgrund der ausgeschlossenen Minimal- und Maximalwerte teilweise ein widersprüchlicher Zusammenhang zwischen der Anzahl der Bakterien vor und nach der Desinfektion zustande kommt. Andererseits können jedoch anhand der vorliegenden Studie auch keine Aussagen darüber getroffen werden, ob sich die zurückgebliebenen Bakterien nach einer längeren Latenzphase, in der sich die Bakterien von einem Angriff durch die Desinfektionsmittel wieder erholt haben könnten, nicht erneut vermehren würden. Im Wurzelkanal zurückbleibende vitale Bakterien können nach bisherigen Erfahrungen den Wurzelkanal in bis zu 80 % der Fälle meist schon nach zwei bis sieben Tagen wieder reinfizieren [113,171,183]. Auch bei Zamany et al. [202] zeigten einige der Proben nach zwei bis vier Wochen Inkubationszeit erneut ein Bakterienwachstum. Nach 30 Tagen Inkubationszeit besaßen dann alle Proben, auch die unmittelbar nach der Desinfektion keimfreien Dentinblöckchen, ein deutliches Bakterienwachstum, vermutlich, weil dann die Bakterien wieder zu wachsen beginnen, die weit genug in die Dentinkanälchen eindringen konnten. Deshalb kann weiterhin darüber diskutiert werden, ob die Wurzelkanäle nach der Desinfektion nun als praktisch keimfrei anzusehen sind oder nicht. Je weniger Mikroorganismen (< 500) allerdings zu Beginn der Behandlung vorhanden sind, desto höher

ist die Wahrscheinlichkeit einer negativen Bakterienkultur nach der Wurzelkanalbehandlung. Nach der Wurzelkanalaufbereitung sind immerhin noch aus 38,4 % der Kulturen Mikroorganismen isolierbar. Diese Zahl reduziert sich nach der Desinfektion weiter auf nunmehr 10 % positive Kulturen [3]. Selbst eine negative Bakterienkultur bedeutet aber nicht zwangsläufig auch sterile Wurzelkanalverhältnisse, da zum einen kein endodontisches Medikament in der Lage ist, die Mikroorganismen mit einer Sicherheit von 100 % aus den akzessorischen Kanälchen, Seitenkanälen und Dentinkanälchen zu entfernen. Da auch die Bakterien-DNA während der Desinfektion nicht vollständig zerstört wird, muss eine Übertragung von Virulenzfaktoren und Resistenzgenen auf andere Bakterienstämme als mögliche Erklärung für eine persistierende Infektion in den bereits wurzelgefüllten Zähnen ebenfalls ins Kalkül gezogen werden [138]. Zudem müssen Desinfektionsmittel, die eine Monoinfektion erfolgreich bekämpfen können, nicht zwangsläufig auch einen Therapieerfolg bei einer Mischinfektion erzielen [101,122,187,204]. Zum anderen reagieren die meisten üblichen Tests bei zu geringer Bakterienzahl nicht positiv auf ein vorhandenes Bakterienwachstum [113].

Bezüglich der Beobachtung, dass in dieser Versuchsreihe vor allem in einer Bohrtiefe von 1,0 mm nach 30 Sekunden Einwirkzeit verhältnismäßig viele Bakterien überleben konnten und die Überlebensrate erst nach 10 Minuten Einwirkzeit deutlich niedriger war als in 0,5 mm und 1,5 mm Bohrtiefe, lassen sich nur Vermutungen anstellen. Möglicherweise besitzen die Dentinkanälchen in dieser Schicht anatomische oder mikrobiologische Besonderheiten, die den Bakterien einen besseren Schutz vor Desinfektionsmitteln bieten. Eine andere Erklärung dafür könnten der Durchmesser der Dentinkanälchen und die damit verbundenen Strömungsverhältnissen in dieser Ebene liefern. So ist es denkbar, dass die Dichte und die Größe der Dentinkanälchen gerade hier auf ihrem Weg Richtung Wurzeloberfläche überproportional schnell abnehmen, wodurch die Strömungsgeschwindigkeit in diesem Bereich ansteigt und somit die Desinfektionsmittel diesen Bereich in kürzerer Zeit passieren können, während sich die Bakterien an der Stelle der maximalen Verengung aufstauen. Die verbesserte Desinfektionswirkung vor allem der höher konzentrierten Desinfektionsmittel in tieferen Dentinschichten ließe sich demnach auch mit einer Aufkonzentrierung in den Endästen der Dentinkanälchen erklären, wohingegen die niedriger konzentrierten Desinfektionsmittel bereits in den pulpanahen Dentinkanälchenabschnitten verbraucht zu werden scheinen. So ist die Überlebensrate in 0,5 mm und 1,5 mm Bohrtiefe zwar

grundsätzlich sehr ähnlich, jedoch können in 0,5 mm Bohrtiefe vermutlich wegen der dichteren anfänglichen Bakterienbesiedelung der Dentinkanälcheneingänge meist etwas mehr Bakterienkolonien überleben als in 1,5 mm Bohrtiefe.

Um für die Zukunft eine allgemeingültige Empfehlung hinsichtlich der idealen Konzentration und Einwirkzeit aussprechen zu können, bedarf es noch zahlreicher weiterer Untersuchungen. Allerdings zeichnet sich hier bereits der Trend zur Verwendung einer 1,0 % NaOCl-Lösung ab, um die toxischen Nebenwirkungen auf das periapikale Gewebe so gering wie möglich zu halten [162]. Zudem scheint insbesondere die Frage interessant zu sein, in wieweit es möglich ist, in vivo einen Grenzwert für eine vertretbare Überlebensrate von Bakterien im Wurzelkanal zu bestimmen, bis zu dem hin der Erfolg einer Wurzelkanalbehandlung bei sachgemäßer Durchführung nicht mehr beeinträchtigt wird.

7. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, ein neues In-vitro-Verfahren zur Testung von Desinfektionsmitteln zu entwickeln, das der Situation in vivo noch etwas näher kommt als das bisher gebräuchliche Versuchsmodell nach Orstavik und Haapasalo und deren Modifikationen. Die entscheidenden Veränderungen des angewendeten Versuchsmodells betreffen den Inkubationsvorgang unter ständiger Bewegung der Versuchsansätze und die Bohrrichtung bei der Probenentnahme im Verlauf der Dentinkanälchen. Außerdem wird Wert darauf gelegt, dass sowohl die Dentinproben für die Infektion und für die Desinfektion, als auch die Sterilkontrolle von ein- und demselben Zahn stammen.

Dazu wurden aus den Zahnwurzeln extrahierter Rinderzähne jeweils drei Segmente geschnitten und in eine Sterilkontrolle, eine Infektionsprobe und eine Desinfektionsprobe unterteilt. Nach einer Vorbehandlung mit 20 % EDTA und der Inkubation mit einer Bakteriensuspension des *Enterococcus faecalis* für sieben Tage bei 37 °C erfolgte die Aufteilung der Probentriplets in fünf verschiedene Desinfektionsmittelgruppen: 0,5 % NaOCl, 1,0 % NaOCl, 3,0 % NaOCl sowie 0,2 % CHX und 1,0 % CHX. Die Einwirkzeit der Desinfektionslösungen betrug in einer weiteren Untergruppe 30 Sekunden und in der anderen Untergruppe zehn Minuten. Für die Überprüfung der Infektions- und Desinfektionsergebnisse wurden mit einem Rosenbohrer Dentinproben entnommen und anhand von daraus angefertigten Agarkulturen die Anzahl der gewachsenen Bakterienkolonien bestimmt und schließlich die prozentuale Überlebensrate berechnet.

Obwohl für die statistische Auswertung der Desinfektionsergebnisse nur wenige Stichproben zur Verfügung stehen, lassen sich auch mit dem neuen Modell die bisherigen Ergebnisse auf diesem Forschungsgebiet bestätigen: Sowohl NaOCl als auch CHX ermöglichen in Konzentrationen von weniger als 1,0 % nur eine unzuverlässige Desinfektion. Bei höheren Konzentrationen von 1,0 % und 3,0 % NaOCl oder 1,0 % CHX kann dagegen, unabhängig von der Einwirkzeit, von einer minimalen Überlebensrate der Bakterien von weniger als 0,1 % ausgegangen werden.

8. Tabellarischer Anhang

8.1 Vorversuche

| Zahn | Gesamtlänge | Kronenlänge | Wurzellänge | Durchmesser Zahnhals (m-d) | Durchmesser Zahnhals (lab – ling) | Durchmesser Wurzelspitze |
|------|-------------|-------------|-------------|------------------------------------|---|-----------------------------|
| 1 | 46,35 | 20,30 | 26,05 | 8,55 | 9,65 | 4,55 |
| 2 | 45,55 | 19,55 | 26,00 | 8,35 | 9,90 | 4,40 |
| 3 | 41,35 | 18,60 | 22,75 | 8,10 | 8,70 | 4,90 |
| 4 | 39,80 | 16,40 | 23,40 | 7,45 | 8,20 | 5,15 |
| 5 | 44,40 | 18,40 | 26,00 | 8,90 | 9,00 | 5,05 |
| 6 | 45,00 | 20,65 | 24,35 | 8,50 | 9,50 | 5,00 |

Tabelle 1: Abmessungen des Rinderzahnes in mm; Gesamtlänge, Kronen- und Wurzellänge des Zahnes, Durchmesser des Zahnhalses circa 5 mm oberhalb der Wurzelspitze in mesial-distaler und labial-lingualer Ausdehnung (m=mesial, d=distal, lab=labial, ling=lingual)

| Zahn | Dentinstärke labial | Dentinstärke lingual | Dentinstärke Mesial | Dentinstärke Distal |
|------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| 1 | 2,35 | 2,00 | 2,25 | 2,35 |
| 2 | 2,65 | 2,35 | 2,15 | 2,35 |
| 3 | 2,55 | 2,40 | 2,25 | 2,10 |
| 4 | 2,55 | 2,50 | 2,35 | 2,05 |
| 5 | 2,50 | 2,45 | 2,05 | 1,95 |
| 6 | 2,45 | 2,35 | 2,25 | 3,35 |

Tabelle 2: Stärke der Dentinschicht vom Wurzelkanallumen zum Wurzelzement in mm bei Aufsicht auf den Wurzelquerschnitt

| Zahn | Scheibe | Anzahl der Dentinkanälchen (Stelle 1) | Anzahl der Dentinkanälchen (Stelle 2) | Anzahl der Dentinkanälchen (Stelle 3) |
|------|---------|---|---|---|
| 1 | 1 | 154 | 146 | 120 |
| | 2 | 203 | 172 | 171 |
| | 3 | 188 | 189 | 237 |
| 2 | 1 | 237 | 171 | 173 |
| | 2 | 203 | 200 | 263 |
| | 3 | 260 | 209 | 225 |
| 3 | 1 | 122 | 150 | 229 |
| | 2 | 252 | 256 | 190 |
| | 3 | 276 | 254 | 276 |
| 4 | 1 | 252 | 255 | 190 |
| | 2 | 277 | 315 | 236 |
| | 3 | 198 | 157 | 278 |
| 5 | 1 | 260 | 298 | 227 |
| | 2 | 229 | 278 | 269 |
| | 3 | 254 | 272 | 263 |

Tabelle 3: Anzahl der Dentinkanälchen pro 7.115,27 μm^2

| Probe | Bohrergröße | Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion | Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion |
|-------|-------------|---|--|
| 026-1 | 006 | 426 | 1 |
| 026-2 | 006 | 1.192 | 7 |
| 026-3 | 006 | 182 | 28 |
| 026-4 | 006 | 1.394 | 16 |
| 027-1 | 006 | 1.638 | 1544 |
| 027-2 | 006 | 1.494 | 132 |
| 027-3 | 006 | 1.232 | 11 |
| 027-4 | 006 | 1.783 | 18 |

Tabelle 4: Wurzelsegmente autoklaviert in NaCl-Lösung; Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion mit CHX; Durchmesser des Rosenbohrers beträgt 0,6 mm; Bohrtiefe ist 0,6 mm; Gesamtvolumen der Bohrspäne beträgt 0,2262 mm^3

| Probe | Bohrergröße | Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion | Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion |
|-------|-------------|---|--|
| 36-1 | 006 | 7.110 | 164 |
| 36-2 | 008 | 12.840 | 93 |
| 38-2 | 010 | 11.690 | 53 |

Tabelle 5: Wurzelsegmente autoklaviert in TSB-Medium; Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion und nach der Desinfektion mit CHX; Durchmesser des Rosenbohrers beträgt 0,6 mm oder 0,8 mm oder 1,0 mm; Bohrtiefe entspricht dem Rosenbohrerdurchmesser; Gesamtvolumen beträgt dem Rosenbohrerdurchmesser entsprechend 0,2262 mm^3 oder 0,5362 mm^3 oder 1,0472 mm^3

| Probe | Bohrergröße | Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion | Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion |
|-------|-------------|---|--|
| 39-1 | 006 | 12.650 | 68 |
| 39-2 | 008 | 8.440 | 44 |
| 40-2 | 010 | 13.150 | 37 |

Tabelle 6: Variation des Inkubationsmodus in der „Schüttelgruppe“; Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion und nach der Desinfektion mit CHX; Durchmesser des Rosenbohrers beträgt 0,6 mm oder 0,8 mm oder 1,0 mm; Bohrtiefe entspricht dem Rosenbohrerdurchmesser; Gesamtvolumen beträgt dem Rosenbohrerdurchmesser entsprechend 0,2262 mm³ oder 0,5362 mm³ oder 1,0472 mm³

| Probe | Bohrergröße | Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion | Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion * |
|-------|-------------|---|--|
| 44-2 | 006 | 276.000 | - |
| 45-1 | 008 | 624.000 | - |
| 46-2 | 010 | 421.000 | - |

Tabelle 7: Variation des Inkubationsmodus in der „Rüttelgruppe“; Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion mit CHX; * Proben für Anzahl der Bakterienkolonien nach der Desinfektion nicht auswertbar; Durchmesser des Rosenbohrers beträgt 0,6 mm oder 0,8 mm oder 1,0 mm; Bohrtiefe entspricht dem Rosenbohrerdurchmesser; Gesamtvolumen beträgt dem Rosenbohrerdurchmesser entsprechend 0,2262 mm³ oder 0,5362 mm³ oder 1,0472 mm³

| Probe | Bohrtiefe (in mm ± 0,02) | Bakterienanzahl vor der Desinfektion | Bakterienanzahl nach der Desinfektion |
|--------------|-------------------------------------|---|--|
| 52-1 | 0,5 | 800.000 | 0 |
| 52-1 | 1,0 | 944.000 | 6 |
| 52-1 | 1,5 | 898.000 | 1 |
| 52-2 | 0,5 | 878.000 | 8 |
| 52-2 | 1,0 | 624.000 | 4 |
| 52-2 | 1,5 | 1.173.000 | 3 |
| 53-1 | 0,5 | 988.000 | 0 |
| 53-1 | 1,0 | 897.000 | 1 |
| 53-1 | 1,5 | 910.000 | 8 |
| 53-2 | 0,5 | 1.055.000 | 1 |
| 53-2 | 1,0 | 793.000 | 0 |
| 53-2 | 1,5 | 1.036.000 | 0 |
| 54-2 | 0,5 | 1.057.000 | 74 |
| 54-2 | 1,0 | 921.000 | 210 |
| 54-2 | 1,5 | 1.071.000 | 0 |
| 55-1 | 0,5 | 560.000 | 0 |
| 55-1 | 1,0 | 681.000 | 0 |
| 55-1 | 1,5 | 664.000 | 0 |
| 55-2 | 0,5 | 1.040.000 | 4 |
| 55-2 | 1,0 | 917.000 | 0 |
| 55-2 | 1,5 | 820.000 | 17 |

Tabelle 8: Variation des Bohrvorganges; Anzahl der Bakterienkolonien vor der Desinfektion und nach der Desinfektion mit CHX; Durchmesser des Rosenbohrers ist 0,8 mm; Bohrtiefe beträgt 0,5 mm oder 1,0 mm oder 1,5 mm; Gesamtvolumen beträgt entsprechend der Bohrtiefe 0,3854 mm³ oder 0,6367 mm³ oder 0,8880 mm³

8.2 Hauptversuche

| Versuch | Probe | Sterilkontrolle | Autoklavier-Medium |
|---------|-------|-----------------|--------------------|
| 1 | 58 | 0,002 | |
| | 59 | 0,001 | |
| | 60 | 0,002 | 0,040 |
| | 61 | 0,001 | |
| | 62 | 0,002 | |
| 2 | 63 | 0,001 | |
| | 64 | 0,001 | |
| | 65 | 0,002 | 0,010 |
| | 66 | 0,002 | |
| | 67 | 0,001 | |
| 3 | 68 | 0,002 | |
| | 69 | 0,002 | |
| | 70 | 0,002 | |
| | 71 | 0,002 | |
| | 72 | 0,002 | 0,012 |
| 4 | 73 | 0,006 | |
| | 74 | 0,003 | |
| | 75 | 0,002 | |
| | 76 | 0,002 | |
| | 77 | 0,008 | |
| 5 | 78 | 0,000 | |
| | 79 | 0,000 | |
| | 80 | 0,000 | |
| | 81 | 0,004 | |
| | 82 | 0,000 | 0,006 |
| 6 | 83 | 0,000 | |
| | 84 | 0,000 | |
| | 85 | 0,000 | |
| | 86 | 0,000 | |
| | 87 | 0,000 | |
| 7 | 88 | 0,001 | |
| | 89 | 0,002 | |
| | 90 | 0,002 | |
| | 91 | 0,004 | |
| | 92 | 0,003 | |
| 8 | 93 | 0,005 | 0,012 |
| | 94 | 0,003 | |
| | 95 | 0,001 | |
| | 96 | 0,002 | |
| | 97 | 0,002 | |
| 9 | 98 | 0,002 | |
| | 99 | 0,002 | |
| | 100 | 0,001 | |
| | 101 | 0,002 | |
| | 102 | 0,002 | |
| 10 | 103 | 0,002 | 0,007 |
| | 104 | 0,002 | |
| | 105 | 0,003 | |
| | 106 | 0,001 | |
| | 107 | 0,002 | |

Tabelle 9: Optische Dichte, gemessen am Photometer bei 600 nm Wellenlänge, der Sterilkontrollen und des jeweiligen Autoklaviermediums nach 20 Stunden Inkubationszeit

| Versuch | Charge | Bakteriensuspension |
|---------|--------|---------------------|
| 1 | 1 - 1 | 1,353 |
| | 1 - 2 | 1,276 |
| 2 | 2 - 1 | 1,328 |
| | 2 - 2 | 1,345 |
| 3 | 3 - 1 | 1,360 |
| | 3 - 2 | 1,253 |
| 4 | 4 - 1 | 1,321 |
| | 4 - 2 | 1,332 |
| 5 | 5 - 1 | 1,296 |
| | 5 - 2 | 1,306 |
| 6 | 6 - 1 | 1,333 |
| | 6 - 2 | 1,366 |
| 7 | 7 - 1 | 1,224 |
| | 7 - 2 | 1,359 |
| 8 | 8 - 1 | 1,234 |
| | 8 - 2 | 1,379 |
| 9 | 9 - 1 | 1,238 |
| | 9 - 2 | 1,360 |
| 10 | 10 - 1 | 1,289 |
| | 10 - 2 | 1,344 |

Tabelle 10: Optische Dichte der Bakteriensuspensionen, gemessen am Photometer bei 600 nm Wellenlänge nach 20 Stunden Inkubationszeit (Übernachtskulturen)

| Bohrtiefe | 0,5% NaOCl | | 1,0% NaOCl | | 3,0% NaOCl | | 0,2% CHX | | 1,0% CHX | |
|-------------------|---------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------|--------------|-------------|
| | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil |
| | Median | | Median | | Median | | Median | | Median | |
| vor Desinfektion | 3.000 | 7.250 | 2.750 | 13.500 | 2.000 | 8.250 | 1.000 | 16.250 | 1.750 | 3.500 |
| 0,5 mm | 4.000 | | 6.000 | | 6.000 | | 4.000 | | 2.500 | |
| nach Desinfektion | 750 | 22.750 | 0 | 0 | 0 | 1.000 | 2.750 | 135.000 | 0 | 16.750 |
| | 8.500 | | 0 | | 0 | | 15.500 | | 500 | |
| vor Desinfektion | 6.000 | 11.000 | 10.000 | 28.500 | 6.000 | 9.000 | 7.000 | 41.000 | 4.500 | 12.000 |
| 1,0 mm | 8.000 | | 14.000 | | 7.000 | | 10.000 | | 7.000 | |
| nach Desinfektion | 22.000 | 78.000 | 0 | 1.000 | 0 | 17.500 | 3 | 429.000 | 0 | 33.500 |
| | 40.000 | | 0 | | 2.000 | | 6.000 | | 0 | |
| vor Desinfektion | 10.000 | 17.500 | 9.500 | 25.500 | 4.500 | 14.000 | 6.500 | 54.000 | 3.000 | 16.000 |
| 1,5 mm | 12.000 | | 19.000 | | 10.000 | | 32.000 | | 5.000 | |
| nach Desinfektion | 6.000 | 65.000 | 0 | 500 | 0 | 15.500 | 5.000 | 174.000 | 0 | 31.000 |
| | 25.000 | | 0 | | 1.000 | | 24.000 | | 1.000 | |

Tabelle 11: Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion für alle Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) bei einer Einwirkzeit von 30 s; Angaben für die Mediane sowie 25%- und 75%-Quantile

| Bohrtiefe | 0,5% NaOCl | | 1,0% NaOCl | | 3,0% NaOCl | | 0,2% CHX | | 1,0% CHX | |
|-------------------|----------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------|--------------|-------------|
| | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil | 25% Quantil | 75% Quantil |
| | Median | | Median | | Median | | Median | | Median | |
| vor Desinfektion | 12.500 | 52.250 | 3.500 | 9.250 | 6.750 | 29.000 | 1.000 | 3.250 | 1.750 | 3.250 |
| 0,5 mm | 25.000 | | 7.000 | | 12.500 | | 2.000 | | 2.000 | |
| nach Desinfektion | 1.000 | 32.750 | 0 | 2.750 | 0 | 2.750 | 3.750 | 32.250 | 0 | 2.000 |
| | 6.000 | | 0 | | 0 | | 7.500 | | 0 | |
| vor Desinfektion | 20.500 | 154.000 | 13.000 | 21.000 | 23.000 | 79.000 | 6.000 | 34.500 | 2.500 | 5.500 |
| 1,0 mm | 81.000 | | 17.000 | | 30.000 | | 13.000 | | 4.000 | |
| nach Desinfektion | 27.000 | 119.500 | 1.500 | 255.500 | 1.000 | 30.500 | 8.000 | 56.000 | 0 | 3.500 |
| | 80.000 | | 9.000 | | 10.000 | | 20.000 | | 0 | |
| vor Desinfektion | 68.000 | 218.000 | 14.500 | 21.000 | 32.500 | 200.000 | 4.500 | 13.500 | 2.500 | 9.000 |
| 1,5 mm | 103.000 | | 15.000 | | 46.000 | | 7.000 | | 5.000 | |
| nach Desinfektion | 68.500 | 173.500 | 0 | 9.500 | 0 | 5.000 | 12.000 | 137.500 | 0 | 2.500 |
| | 125.000 | | 3.000 | | 0 | | 45.000 | | 0 | |

Tabelle 12: Anzahl der Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion für alle Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) bei einer Einwirkzeit von 600 s; Angaben für die Mediane sowie 25%- und 75%-Quantile

| Bohr- tiefe | 0,5% | | 1,0% | | 3,0% | | 0,2% | | 1,0% | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | NaOCl | | NaOCl | | NaOCl | | CHX | | CHX | |
| | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% |
| | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil |
| | Median | | Median | | Median | | Median | | Median | |
| 0,5mm | 0,0042 | 0,6250 | 0 | 0 | 0 | 0,0129 | 0,1750 | 1,2204 | 0 | 0,6958 |
| | 0,1750 | | 0 | | 0 | | 0,3111 | | 0,0250 | |
| 1,0mm | 0,2902 | 1,1846 | 0 | 0,0056 | 0 | 0,2833 | 0,0306 | 0,6906 | 0 | 0,4643 |
| | 0,4444 | | 0 | | 0,0333 | | 0,1200 | | 0 | |
| 1,5mm | 0,0403 | 0,5340 | 0 | 0,0026 | 0 | 0,2679 | 0,0475 | 0,4795 | 0 | 0,3186 |
| | 0,2273 | | 0 | | 0,0071 | | 0,1130 | | 0,0100 | |

Tabelle 13: relative Überlebensraten in Prozent für alle Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) bei einer Einwirkzeit von 30 s; Angaben für die Mediane sowie 25%- und 75%-Quantile

| Bohr- tiefe | 0,5% | | 1,0% | | 3,0% | | 0,2% | | 1,0% | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | NaOCl | | NaOCl | | NaOCl | | CHX | | CHX | |
| | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% | 25% | 75% |
| | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil | Quantil |
| | Median | | Median | | Median | | Median | | Median | |
| 0,5mm | 0,0019 | 0,1446 | 0 | 0,0875 | 0 | 0,0275 | 0,1679 | 2,5125 | 0 | 0,1000 |
| | 0,0158 | | 0 | | 0 | | 0,5250 | | 0 | |
| 1,0mm | 0,0493 | 0,4164 | 0,0115 | 1,5247 | 0,0009 | 0,1117 | 0,0692 | 0,4943 | 0 | 0,0583 |
| | 0,1160 | | 0,0360 | | 0,0244 | | 0,1256 | | 0 | |
| 1,5mm | 0,0625 | 0,2070 | 0 | 0,0633 | 0 | 0,0106 | 0,1895 | 2,1850 | 0 | 0,0331 |
| | 0,1214 | | 0,0150 | | 0 | | 0,4000 | | 0 | |

Tabelle 14: relative Überlebensraten in Prozent für alle Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) bei einer Einwirkzeit von 600 s; Angaben für die Mediane sowie 25%- und 75%-Quantile

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> | |
|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | ns | ns | ns | ns | 30 Sekunden |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | 0,001 | | ns | ns | 0,035 | |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | ns | ns | | ns | ns | |
| <i>CHX 0,2%</i> | 0,000 | 0,009 | 0,000 | | ns | |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,000 | 0,005 | 0,000 | ns | | |
| | 600 Sekunden | | | | ER : SIG | |

Tabelle 15: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien vor der Desinfektion; Bohrtiefe 0,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> | |
|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,003 | 0,007 | ns | ns | 30 Sekunden |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | ns | | ns | 0,000 | ns | |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | 0,015 | ns | | 0,000 | ns | |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | 0,004 | 0,002 | | 0,029 | |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,011 | ns | ns | 0,000 | | |
| | 600 Sekunden | | | | ER : SIG | |

Tabelle 16: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien nach der Desinfektion; Bohrtiefe 0,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,003 | 0,011 | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | ns | | ns | 0,000 | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | ns | ns | | 0,000 | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | 0,001 | 0,002 | 0,000 | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | ns | ns | ns | 0,000 | |

600 Sekunden

30 Sekunden

ER : SIG

Tabelle 17: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Überlebensrate nach der Desinfektion; Bohrtiefe 0,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | ns | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | 0,032 | | 0,032 | ns | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | ns | 0,016 | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | ns | ns | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,008 | 0,008 | 0,008 | 0,016 | |

600 Sekunden

30 Sekunden

ER : NS

Tabelle 18: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien vor der Desinfektion; Bohrtiefe 1,0 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,008 | 0,032 | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | ns | | ns | 0,016 | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | 0,032 | ns | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | ns | ns | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,008 | ns | ns | 0,008 | |

600 Sekunden

ER : NS

30 Sekunden

Tabelle 19: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien nach der Desinfektion; Bohrtiefe 1,0 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,008 | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | ns | | ns | 0,008 | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | ns | ns | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | ns | ns | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | ns | ns | ns | 0,032 | |

600 Sekunden

ER : NS

30 Sekunden

Tabelle 20: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Überlebensrate nach der Desinfektion; Bohrtiefe 1,0 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | ns | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | 0,008 | | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | ns | 0,016 | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | 0,008 | ns | 0,008 | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,008 | 0,008 | 0,008 | ns | |

600 Sekunden

ER : NS

30 Sekunden

Tabelle 21: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien vor der Desinfektion; Bohrtiefe 1,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,008 | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | 0,008 | | ns | 0,008 | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | 0,008 | ns | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | 0,016 | 0,016 | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,008 | ns | ns | 0,008 | |

600 Sekunden

ER : NS

30 Sekunden

Tabelle 22: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl*: 0,5% / 1,0% / 3,0% und *CHX*: 0,2% / 1,0%) gegeneinander; Anzahl der Kolonien nach der Desinfektion; Bohrtiefe 1,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | <i>NaOCl 0,5%</i> | <i>NaOCl 1,0%</i> | <i>NaOCl 3,0%</i> | <i>CHX 0,2%</i> | <i>CHX 1,0%</i> |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <i>NaOCl 0,5%</i> | | 0,008 | ns | ns | ns |
| <i>NaOCl 1,0%</i> | 0,032 | | ns | 0,008 | ns |
| <i>NaOCl 3,0%</i> | 0,016 | ns | | ns | ns |
| <i>CHX 0,2%</i> | ns | 0,008 | 0,008 | | ns |
| <i>CHX 1,0%</i> | 0,016 | ns | ns | 0,008 | |

600 Sekunden

30 Sekunden

ER : NS

Tabelle 23: Signifikanzanalyse der Materialien (*NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0%* und *CHX: 0,2% / 1,0%*) gegeneinander; Überlebensrate nach der Desinfektion; Bohrtiefe 1,5 mm; Werte oberhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 30 s, Werte unterhalb der Diagonale bei Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; rechts unten Error-Rate-Analyse (ER); NS/ns = nicht signifikant, SIG/Zahl = P-Wert

| | Bohrtiefe in mm | Kolonien vor Desinfektion | Kolonien nach Desinfektion | Überlebensrate |
|-------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------|
| NaOCl 0,5% | 0,5 | 0,000 | ns | ns |
| | 1,0 | 0,008 | ns | ns |
| | 1,5 | 0,008 | 0,032 | ns |
| NaOCl 1,0% | 0,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 | ns | ns | ns |
| | 1,5 | ns | ns | ns |
| NaOCl 3,0% | 0,5 | 0,029 | ns | ns |
| | 1,0 | 0,008 | ns | ns |
| | 1,5 | 0,008 | ns | ns |
| CHX 0,2% | 0,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 | ns | ns | ns |
| | 1,5 | ns | ns | ns |
| CHX 1,0% | 0,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 | ns | ns | ns |
| | 1,5 | ns | ns | ns |

Tabelle 24: Signifikanzanalyse der Einwirkzeiten (30 s / 600 s) gegeneinander; Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion sowie Überlebensrate nach der Desinfektion bei den verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm); Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$, ns = nicht signifikant, Zahl = P-Wert

| | Bohrtiefen in mm | Kolonien vor Desinfektion | Kolonien nach Desinfektion | Überlebensrate |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| NaOCl 0,5% | 0,5 – 1,0 | ns | 0,043 | ns |
| | 0,5 – 1,5 | 0,042 | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |
| NaOCl 1,0% | 0,5 – 1,0 | 0,043 | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | 0,043 | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |
| NaOCl 3,0% | 0,5 – 1,0 | ns | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |
| CHX 0,2% | 0,5 – 1,0 | 0,042 | ns | 0,043 |
| | 0,5 – 1,5 | 0,043 | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |
| CHX 1,0% | 0,5 – 1,0 | ns | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |

Tabelle 25: Signifikanzanalyse der Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) gegeneinander; Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion sowie Überlebensrate nach der Desinfektion bei den verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 30 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$, ns = nicht signifikant, Zahl = P-Wert

| | Bohrtiefen in mm | Kolonien vor Desinfektion | Kolonien nach Desinfektion | Überlebensrate |
|-------------------|---------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------|
| NaOCl 0,5% | 0,5 – 1,0 | ns | 0,043 | ns |
| | 0,5 – 1,5 | 0,043 | 0,043 | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | 0,043 | ns |
| NaOCl 1,0% | 0,5 – 1,0 | 0,043 | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | 0,043 | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |
| NaOCl 3,0% | 0,5 – 1,0 | 0,043 | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | 0,043 | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | 0,043 | ns | ns |
| CHX 0,2% | 0,5 – 1,0 | 0,043 | 0,043 | 0,043 |
| | 0,5 – 1,5 | 0,042 | 0,043 | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | 0,043 |
| CHX 1,0% | 0,5 – 1,0 | ns | ns | ns |
| | 0,5 – 1,5 | ns | ns | ns |
| | 1,0 – 1,5 | ns | ns | ns |

Tabelle 26: Signifikanzanalyse der Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm) gegeneinander; Bakterienkolonien vor und nach der Desinfektion sowie Überlebensrate nach der Desinfektion bei den verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%); Einwirkzeit 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$, ns = nicht signifikant, Zahl = P-Wert

| | Bohrtiefe in mm | Einwirkzeit 30 s | Einwirkzeit 600 s |
|------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| NaOCl 0,5% | 0,5 | 0,005 | 0,005 |
| | 1,0 | 0,043 | 0,043 |
| | 1,5 | 0,043 | 0,043 |
| NaOCl 1,0% | 0,5 | 0,005 | 0,005 |
| | 1,0 | 0,043 | 0,043 |
| | 1,5 | 0,043 | 0,043 |
| NaOCl 3,0% | 0,5 | 0,005 | 0,005 |
| | 1,0 | 0,042 | 0,043 |
| | 1,5 | 0,043 | 0,043 |
| CHX 0,2% | 0,5 | 0,005 | 0,005 |
| | 1,0 | 0,043 | 0,043 |
| | 1,5 | 0,043 | 0,043 |
| CHX 1,0% | 0,5 | 0,005 | 0,005 |
| | 1,0 | 0,043 | 0,043 |
| | 1,5 | 0,043 | 0,043 |

Tabelle 27: Signifikanzanalyse der Bakterienkolonien vor der Desinfektion und nach der Desinfektion gegeneinander; bei den verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen (NaOCl: 0,5% / 1,0% / 3,0% und CHX: 0,2% / 1,0%) und in den unterschiedlichen Bohrtiefen (0,5 mm / 1,0 mm / 1,5 mm); Einwirkzeiten 30 s und 600 s; Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$, ns = nicht signifikant, Zahl = P-Wert

| Versuchsbedingung | Probe | Größe des Kanallumens |
|------------------------------------|-------|-----------------------|
| 3,0 % NaOCl Einwirkzeit: 10 min | 58 | ++ |
| | 59 | ± |
| | 60 | + |
| | 61 | ++ |
| | 62 | - |
| 0,5 % NaOCl Einwirkzeit: 10 min | 63 | ± |
| | 64 | ++ |
| | 65 | - |
| | 66 | - |
| | 67 | ++ |
| 1,0 % NaOCl Einwirkzeit: 10 min | 68 | - |
| | 69 | + |
| | 70 | ± |
| | 71 | ± |
| | 72 | ± |
| 0,2 % CHX Einwirkzeit: 10 min | 73 | ± |
| | 74 | ± |
| | 75 | + |
| | 76 | ± |
| | 77 | - |
| 3,0 % NaOCl Einwirkzeit: 30 s | 78 | - |
| | 79 | + |
| | 80 | ± |
| | 81 | ± |
| | 82 | ++ |
| 0,5 % NaOCl Einwirkzeit: 30 s | 83 | ++ |
| | 84 | -- |
| | 85 | ± |
| | 86 | ± |
| | 87 | ± |
| 1,0 % NaOCl Einwirkzeit: 30 s | 88 | ± |
| | 89 | - |
| | 90 | - |
| | 91 | + |
| | 92 | ± |
| 0,2 % CHX Einwirkzeit: 30 s | 93 | ++ |
| | 94 | ± |
| | 95 | ± |
| | 96 | + |
| | 97 | - |
| 1,0 % CHX Einwirkzeit: 10 min | 98 | ± |
| | 99 | -- |
| | 100 | -- |
| | 101 | - |
| | 102 | ± |
| 1,0 % CHX Einwirkzeit: 30 s | 103 | -- |
| | 104 | -- |
| | 105 | ± |
| | 106 | ± |
| | 107 | ± |

Tabelle 28: Tendenzielle Beurteilung der Weite der Kanallumina der einzelnen Proben: sehr groß (++), groß (+), ideal (±), klein (-), sehr klein (--)

9. Abkürzungsverzeichnis

Ca(OH)₂ = Kalziumhydroxid

CHX = Chlorhexidindigluconat

CMCP = Camphered-para-Mono-Chloro-Phenol (K statt C = deutsch: Kampfer)

CMF-PBS = Ca²⁺-Ma²⁺-Freie, Phosphat-Buffered Saline

(PBS = phosphat-gepufferte Kochsalzlösung)

DGZMK = Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

DNA = Desoxyribonucleinsäure (A = Acid)

DMSO = Dimethylsulfoxid

EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure (A= Acid) = Natriumedetat

ER:YAG = Laser mit einem Erbium-Yttrium-Aluminium-Granat-Kristall

H₂O₂ = Wasserstoffperoxid

JKJ = Jod-Kalium-Jodid

KBE = Kolonie-bildende Einheiten

MTAD = Mixture of Tetracycline isomer, Acid and Detergent

NaOCl = Natriumhypochlorit

PCR = Polymerase chain reaction (deutsch: Polymerasekettenreaktion)

REM = Rasterelektronenmikroskop

TSA / TSB = tryptische(r) Soja-Agar / Bouillon

10. Literaturverzeichnis

1. Abou-Rass M, Piccinino MV.
The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982 Sep;54(3):323-8.
2. Akpata ES.
Total viable count of microorganisms in the infected dental pulp
J Dent Res 1974 Nov;53(6):1330-3.
3. Akpata ES.
Effect of endodontic procedures on the population of viable microorganisms in the infected root canal
J Endod 1976 Dec;2(12):369-73.
4. Akpata ES, Blechman H.
Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro
J Dent Res 1982 Feb;61(2):435-8.
5. Averbach RE, Kleier DJ.
Clinical update on root canal disinfection
Compend Contin Educ Dent 2006 May;27(5):284, 286-4, 289.
6. Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H.
Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms
Int Endod J 1999 Mar;32(2):99-102.
7. Barbosa CA, Goncalves RB, Siqueira JF, Jr., de UM.
Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study
J Endod 1997 May;23(5):297-300.
8. Barbosa SV, Safavi KE, Spangberg SW.
Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine
Int Endod J 1994 Nov;27(6):309-12.
9. Baseler Kolloquium zur chirurgischen Händedesinfektion.
Desinfektants - Wieviel Zeit muss sein?
Feb 2005; www.bode-chemie.de
10. Baumann M.
Endodontie: Rückblick und Ausblick.
2007; www.dg-endo.de

11. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.
Untersuchungen zur mikrobiologischen Belastung von Verdunstungskühlanlagen in Bayern.
Nov 2007; www.lgl.bayern.de
12. Beer R, Baumann M.
Praktische Endodontie.
1. Auflage Urban & Fischer-Verlag, München/Jena; 1994.
13. Beer R, Baumann M.
Farbatlanten der Zahnmedizin.
1. Auflage ed. Thieme-Verlag, Stuttgart; 1997.
14. Beltz RE, Torabinejad M, Pouresmail M.
Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin
J Endod 2003 May;29(5):334-7.
15. Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al.
Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules
Int Endod J 2006 Jan;39(1):10-7.
16. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ.
Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study)
Br Dent J 2006 Mar;200(6):337-41, discussion.
17. Bössmann K, Hoppe WF.
[Antimicrobial effectiveness of different agents for treating and managing the infected root canal]
Dtsch Zahnärztl Z 1981 Apr;36(4):217-21.
18. Boyce JM, Pittet D.
Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings.
Am J Infect Control 2002 Dez;30(8):1-46.
19. Bundesverband Handschutz e.V.
Fragen zum Hand- und Hautschutz.
Aug 2007; www.dvh.de
20. Byström A, Sundqvist G.
Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy
Scand J Dent Res 1981 Aug;89(4):321-8.
21. Byström A, Sundqvist G.
The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy
Int Endod J 1985 Jan;18(1):35-40.

22. Carlsson J, Sundqvist G.
Evaluation of methods of transport and cultivation of bacterial specimens from infected dental root canals
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1980 May;49(5):451-4.
23. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A.
The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms
J Clin Microbiol 1999 Jun;37(6):1771-6.
24. Chugal NM, Clive JM, Spangberg LS.
Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003 Jul;96(1):81-90.
25. Cox CF, White KC, Ramus DL, Farmer JB, Snuggs HM.
Reparative dentin: factors affecting its deposition
Quintessence Int 1992 Apr;23(4):257-70.
26. Crumpton BJ, Goodell GG, McClanahan SB.
Effects on smear layer and debris removal with varying volumes of 17% REDTA after rotary instrumentation
J Endod 2005 Jul;31(7):536-8.
27. Cwikla SJ, Belanger M, Giguere S, Progulske-Fox A, Vertucci FJ.
Dentinal tubule disinfection using three calcium hydroxide formulations
J Endod 2005 Jan;31(1):50-2.
28. Desinfektionsmittel-Kommission im Verbund für Angewandte Hygiene.
Fragen und Antworten zu Maßnahmen der Antiseptik und chemischen Desinfektion.
Hygiene & Medizin 2007;32(4):130-131.
29. Deutsche Gesellschaft für Endodontie.
Zahnerhalt statt Zähne ziehen.
Zahnärztliche Mitteilungen Jun 2007;11:14.
30. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie.
Richtlinie für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel.
2002; www.dghm.de
31. Dissertation von Kristin van der Mühlen.
Flächendekontamination im Krankenhaus: Gegenüberstellung von Reinigung und Desinfektion in Bezug auf ihren Einfluss auf das potentielle Infektionsrisiko.
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München, 2002.
32. Donlan RM, Costerton JW.
Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms
Clin Microbiol Rev 2002 Apr;15(2):167-93.

33. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL.
Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms
J Endod 2006 Jun;32(6):527-31.
34. DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe.
Effizienz von Aufbereitungsverfahren zur Entfernung mikrobiologischer Belastungen.
GWf- Wasser Spezial 2006;147(13):2-6.
35. Engström B, Spangberg L.
V. Toxic and antimicrobial effects of antiseptics in vitro
Sven Tandlak Tidskr 1969 Sep;62(9):543-9.
36. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT.
In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006 Aug;102(2):27-31.
37. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul K.
Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study
J Endod 2004 Feb;30(2):84-7.
38. Ergucu Z, Hiller KA, Schmalz G.
Influence of dentin on the effectiveness of antibacterial agents
J Endod 2005 Feb;31(2):124-9.
39. Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA.
Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals
Int Endod J 2007 Feb;40(2):85-93.
40. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pecora JD, Sousa-Neto MD.
Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods
Braz Dent J 2003;14(1):58-62.
41. Evanov C, Liewehr F, Buxton TB, Joyce AP.
Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 degrees C and 46 degrees C
J Endod 2004 Sep;30(9):653-7.
42. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D.
Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide
Int Endod J 2002 Mar;35(3):221-8.
43. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T.
Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin
J Endod 2003 May;29(5):338-9.

44. Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP, Moller AJ.
Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth
Eur J Oral Sci 2006 Aug;114(4):278-85.
45. Falk KW, Sedgley CM.
The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro
J Endod 2005 Oct;31(10):742-5.
46. Figdor D.
Apical periodontitis: a very prevalent problem
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002 Dec;94(6):651-2.
47. Figdor D.
Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species
Aust Endod J 2004 Apr;30(1):11-4.
48. Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spangberg LS.
Molecular detection of Enterococcus species in root canals of therapy-resistant endodontic infections
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005 Jan;99(1):112-8.
49. Gängler P, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M.
Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie.
2. Auflage Thieme-Verlag, Stuttgart; 2005.
50. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.
In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis
Int Endod J 2001 Sep;34(6):424-8.
51. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al.
Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro
Int Endod J 2003 Apr;36(4):267-75.
52. Grande NM, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F.
Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis
J Endod 2006 May;32(5):460-4.
53. Gulabivala K, Stock CJ, Lewsey JD, Ghori S, Ng YL, Spratt DA.
Effectiveness of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model
Int Endod J 2004 Sep;37(9):624-31.
54. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP.
Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study
Int Endod J 2000 Mar;33(2):126-31.

55. Haapasalo M, Orstavik D.
In vitro infection and disinfection of dentinal tubules
J Dent Res 1987 Aug;66(8):1375-9.
56. Haapasalo M, Ranta H, Ranta KT.
Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections
Acta Odontol Scand 1983;41(1):19-22.
57. Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U.
Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie.
5. Auflage Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg; 2005.
58. Hata G, Hayami S, Weine FS, Toda T.
Effectiveness of oxidative potential water as a root canal irrigant
Int Endod J 2001 Jun;34(4):308-17.
59. Heidemann D.
Endodontie.
4. Auflage Urban & Fischer-Verlag, München; 2004.
60. Hellwig E, Klimek J, Attin T.
Einführung in die Zahnerhaltung.
3. Auflage Urban & Fischer-Verlag, München/Jena; 2003.
61. Hellwig E, Lehmann KM.
Zahnärztliche Propädeutik.
9. Auflage Urban & Fischer-Verlag, München/Jena; 2002.
62. Hohensteiner Institute für Hygiene und Biotechnologie.
Antimikrobielle Oberflächen - Wirksamkeitsnachweise bieten Sicherheit.
Informationsdienst Wissenschaft 2006; [www. idw-online.de](http://www.idw-online.de)
63. Hu BS, Fung CP, Lau YJ, Lin YH, Shi ZY.
Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of enterococci
J Microbiol Immunol Infect 1999 Jun;32(2):111-5.
64. Hugger A., Trüp J.C., Kerschbaum Th.
Orale Physiologie.
Curriculum, Quintessenz-Verlags-GmbH, Berlin; 2006.
65. Hülsemann M, Versümer J.
Die Anwendung von Chlorphenol-Präparaten als medikamentöse Einlage.
Endodontie 2003;12:165-178.
66. Hülsemann M, Körber E, Klaiber B.
Endodontie.
1. Auflage Thieme-Verlag, Stuttgart; 1993.
67. Jahan KM, Hossain M, Nakamura Y, Yoshishige Y, Kinoshita J, Matsumoto K.
An assessment following root canal preparation by Er,Cr: YSGG laser irradiation in straight and curved roots, in vitro
Lasers Med Sci 2006 Dec;21(4):229-34.

68. Joest E.
Handbuch der speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere.
3. Auflage Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg; 1970.
69. Kalfas S, Figdor D, Sundqvist G.
A new bacterial species associated with failed endodontic treatment: identification and description of *Actinomyces radidentis*
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001 Aug;92(2):208-14.
70. Kamburis JJ, Barker TH, Barfield RD, Eleazer PD.
Removal of organic debris from bovine dentin shavings
J Endod 2003 Sep;29(9):559-61.
71. Kaufman B, Spangberg L, Barry J, Fouad AF.
Enterococcus spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions
J Endod 2005 Dec;31(12):851-6.
72. Kayaoglu G, Orstavik D.
Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease
Crit Rev Oral Biol Med 2004;15(5):308-20.
73. Kayser F, Böttger E, Zinkernagel R, Haller O, Eckert J, Deplazes P.
Medizinische Mikrobiologie.
11. Auflage Thieme-Verlag, Stuttgart; 2005.
74. Keil E, Fiedler H.
Klinische Chemie systematisch.
Uni-Med Verlag, Bremen; 2000.
75. Khademi AA, Yazdizadeh M, Feizianfard M.
Determination of the minimum instrumentation size for penetration of irrigants to the apical third of root canal systems
J Endod 2006 May;32(5):417-20.
76. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A.
Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents
Aust Endod J 2006 Dec;32(3):112-5.
77. Kho P, Baumgartner JC.
A comparison of the antimicrobial efficacy of NaOCl/Biopure MTAD versus NaOCl/EDTA against *Enterococcus faecalis*
J Endod 2006 Jul;32(7):652-5.
78. Kim S, Kratchman S.
Modern endodontic surgery concepts and practice: a review
J Endod 2006 Jul;32(7):601-23.
79. Köhler, Eggers, Fleischer, Marre, Pfister, Pulverer.
Medizinische Mikrobiologie.
8. Auflage Urban & Fischer-Verlag, München/Jena; 2001.

80. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des Robert-Koch-Institutes.
Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen.
Bundesgesundheitsblatt 2004;47:51-61.
81. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S.
Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin
J Endod 2000 Jun;26(6):315-7.
82. Kowalski WJ, Kasper EL, Hatton JF, Murray BE, Nallapareddy SR, Gillespie MJ.
Enterococcus faecalis adhesin, Ace, mediates attachment to particulate dentin
J Endod 2006 Jul;32(7):634-7.
83. Lee DY, Spangberg LS, Bok YB, Lee CY, Kum KY.
The sustaining effect of three polymers on the release of chlorhexidine from a controlled release drug device for root canal disinfection
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005 Jul;100(1):105-11.
84. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ.
Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics
Aust Endod J 2004 Dec;30(3):93-8.
85. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, et al.
Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles
J Endod 2000 Nov;26(11):652-5.
86. Lima KC, Fava LR, Siqueira JF, Jr.
Susceptibilities of Enterococcus faecalis biofilms to some antimicrobial medications
J Endod 2001 Oct;27(10):616-9.
87. Lin YH, Mickel AK, Chogle S.
Effectiveness of selected materials against Enterococcus faecalis: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on Enterococcus faecalis
J Endod 2003 Sep;29(9):565-6.
88. Lindl T, Bauer J.
Zell- und Gewebekultur.
3. Auflage Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1994.
89. Love RM.
Regional variation in root dentinal tubule infection by Streptococcus gordonii
J Endod 1996 Jun;22(6):290-3.
90. Love RM.
Enterococcus faecalis - a mechanism for its role in endodontic failure
Int Endod J 2001 Jul;34(5):399-405.
91. Love RM, Chandler NP, Jenkinson HF.
Penetration of smeared or nonsmeared dentine by Streptococcus gordonii
Int Endod J 1996 Jan;29(1):2-12.

-
92. Lovschall H, Fejerskov O, Josephsen K.
Age-related and site-specific changes in the pulpodentinal morphology of rat molars
Arch Oral Biol 2002 May;47(5):361-7.
93. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, McPherson JC.
In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on E. faecalis in root canal dentin
J Endod 2003 Mar;29(3):187-90.
94. Messer HH, Chen RS.
The duration of effectiveness of root canal medicaments
J Endod 1984 Jun;10(6):240-5.
95. Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH.
Bacterial penetration of human dentin in vitro
J Dent Res 1980 Aug;59(8):1398-403.
96. Möller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP.
Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains
Eur J Oral Sci 2004 Jun;112(3):207-15.
97. Muselmani B, Kneist S, Glockmann E.
Vergleich der antimikrobiellen Wirkung hydrodynamischer und konventioneller Wurzelkanalspülungen - Eine In-vitro-Studie.
38. Jahrestagung der AfG in Mainz; Jan 2006.
98. Nagaoka S, Miyazaki Y, Liu HJ, Iwamoto Y, Kitano M, Kawagoe M.
Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth
J Endod 1995 Feb;21(2):70-3.
99. Nakashima K, Terata R.
Effect of pH modified EDTA solution to the properties of dentin
J Endod 2005 Jan;31(1):47-9.
100. Noetzel J, Nonhoff J, Wagner J.
In-vitro-Studie zur Effektivität der Wurzelkanal desinfektion mit Ozon und Kalziumhydroxid
Dtsch Zahnarzt Z 2005 Oct;Sonderausgabe zur Jahrestagung der DGZMK.
101. Ohara P, Torabinejad M, Kettering JD.
Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria
Endod Dent Traumatol 1993 Jun;9(3):95-100.
102. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA.
Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel
Int Endod J 2004 Jan;37(1):38-41.

103. Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO.
Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007 Oct;104(4):125-8.
104. Orstavik D.
Root canal disinfection: a review of concepts and recent developments
Aust Endod J 2003 Aug;29(2):70-4.
105. Orstavik D.
Bacterial adherence related to agglutination and surface film formation
Adv Exp Med Biol 1978;107:869-75.
106. Orstavik D, Haapasalo M.
Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules
Endod Dent Traumatol 1990 Aug;6(4):142-9.
107. Pashley DH, Michelich V, Kehl T.
Dentin permeability: effects of smear layer removal
J Prosthet Dent 1981 Nov;46(5):531-7.
108. Passarinho-Neto JG, Marchesan MA, Ferreira RB, Silva RG, Silva-Sousa YT, Sousa-Neto MD.
In vitro evaluation of endodontic debris removal as obtained by rotary instrumentation coupled with ultrasonic irrigation
Aust Endod J 2006 Dec;32(3):123-8.
109. Pataky L, Ivanyi I, Grigar A, Fazekas A.
Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study
J Endod 2002 Aug;28(8):603-5.
110. Perez F, Calas P, Rochd T.
Effect of dentin treatment on in vitro root tubule bacterial invasion
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1996 Oct;82(4):446-51.
111. Perez F, Rochd T, Lodter JP, Calas P, Michel G.
In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993 Jul;76(1):97-103.
112. Perin FM, Franca SC, Silva-Sousa YT, Alfredo E, Saquy PC, Estrela C, et al.
Evaluation of the antimicrobial effect of Er:YAG laser irradiation versus 1% sodium hypochlorite irrigation for root canal disinfection
Aust Endod J 2004 Apr;30(1):20-2.
113. Peters LB, Wesselink PR.
Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms
Int Endod J 2002 Aug;35(8):660-7.

-
114. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, van Winkelhoff AJ.
Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis
J Endod 2001 Feb;27(2):76-81.
115. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR.
Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro
Int Endod J 2000 Jan;33(1):28-36.
116. Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ.
Combinations of bacterial species in endodontic infections
Int Endod J 2002 Aug;35(8):698-702.
117. Pissiotis E, Spangberg L.
Dentin as inhibitor of bacterial toxicity on pulpal cells in vitro
J Endod 1992 Apr;18(4):166-71.
118. Podbielski A, Spahr A, Haller B.
Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens
J Endod 2003 May;29(5):340-5.
119. Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M.
Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells
J Endod 2002 Sep;28(9):634-7.
120. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.
Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin
Int Endod J 2001 Apr;34(3):184-8.
121. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.
The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments
J Endod 2005 May;31(5):380-6.
122. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.
Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA
J Endod 2006 Feb;32(2):138-41.
123. Rocas IN, Siqueira J.F. BY.
Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections
Oral Microbiol Immunol 2006;21:112-22.
124. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR.
Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases
J Endod 2004 May;30(5):315-20.

-
125. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K.
Chlorhexidine substantivity in root canal dentin
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004 Oct;98(4):488-92.
126. Rossmann LE.
Louis I. Grossman 1901-1988
The Pinnacle 2003;VII(1):3-5.
127. Rutberg M, Spangberg E, Spangberg L.
Evaluation of enhanced vascular permeability of endodontic medicaments in vivo
J Endod 1977 Sep;3(9):347-51.
128. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K.
Root canal dentinal tubule disinfection
J Endod 1990 May;16(5):207-10.
129. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D.
Survival of Enterococcus faecalis in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro
Int Endod J 2004 Mar;37(3):193-8.
130. Salomon F-V, Geyer H, Gille U.
Anatomie für die Tiermedizin.
1. Auflage Enke-Verlag, Stuttgart; 2005.
131. Sassone LM, Fidel RA, Fidel SR, Dias M, Hirata RJ.
Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test
Braz Dent J 2003;14(2):99-102.
132. Schäfer E, Bössmann K.
Antimicrobial efficacy of chloroxylenol and chlorhexidine in the treatment of infected root canals
Am J Dent 2001 Aug;14(4):233-7.
133. Schäfer E, Bössmann K.
Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against Enterococcus faecalis
J Endod 2005 Jan;31(1):53-6.
134. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W.
Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation
Arch Oral Biol 2000 May;45(5):355-61.
135. Schmalz G.
[Root canal therapy - clinical results]
Dtsch Zahnärztl Z 1990 May;45(5):251-6.
136. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K.
Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions
J Endod 2001 Jan;27(1):23-30.

137. Sedgley C.
Root canal irrigation - a historical perspective
J Hist Dent 2004 Jul;52(2):61-5.
138. Sedgley C, Buck G, Appelbe O.
Prevalence of Enterococcus faecalis at multiple oral sites in endodontic patients using culture and PCR
J Endod 2006 Feb;32(2):104-9.
139. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK.
Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo
Int Endod J 2005 Oct;38(10):735-42.
140. Sedgley CM, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, et al.
Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic Enterococcus spp
Oral Microbiol Immunol 2005 Feb;20(1):10-9.
141. Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B.
Influence of irrigant needle depth in removing bioluminescent bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro
Int Endod J 2005 Feb;38(2):97-104.
142. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M.
In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite
J Endod 2003 Jul;29(7):450-2.
143. Shabahang S, Torabinejad M.
Effect of MTAD on Enterococcus faecalis-contaminated root canals of extracted human teeth
J Endod 2003 Sep;29(9):576-9.
144. Siqueira JF, Jr.
Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002 Sep;94(3):281-93.
145. Siqueira JF, Jr.
Microbial causes of endodontic flare-ups
Int Endod J 2003 Jul;36(7):453-63.
146. Siqueira JF, Jr.
Taxonomic changes of bacteria associated with endodontic infections
J Endod 2003 Oct;29(10):619-23.
147. Siqueira JF, Jr., Araujo MC, Garcia PF, Fraga RC, Dantas CJ.
Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals
J Endod 1997 Aug;23(8):499-502.
148. Siqueira JF, Jr., de UM.
Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria
J Endod 1996 Dec;22(12):674-6.

149. Siqueira JF, Jr., de UM.
Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles
J Endod 1997 Mar;23(3):167-9.
150. Siqueira JF, Jr., de UM, Fonseca ME.
A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria
J Endod 1996 Jun;22(6):308-10.
151. Siqueira JF, Jr., Lima KC, Magalhaes FA, Lopes HP, de UM.
Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques
J Endod 1999 May;25(5):332-5.
152. Siqueira JF, Jr., Lopes HP.
Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study
Int Endod J 2001 Apr;34(3):216-20.
153. Siqueira JF, Jr., Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de UM.
Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro
Int Endod J 1997 Jul;30(4):279-82.
154. Siqueira JF, Jr., Rocas IN.
Uncultivated phylotypes and newly named species associated with primary and persistent endodontic infections
J Clin Microbiol 2005 Jul;43(7):3314-9.
155. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC.
Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite
J Endod 2000 Jun;26(6):331-4.
156. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR.
Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin
J Endod 2001 Sep;27(9):563-6.
157. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Rosado AS.
Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach
Oral Microbiol Immunol 2004 Dec;19(6):363-70.
158. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de UM.
Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals
J Endod 2002 Mar;28(3):181-4.

159. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Souto R, de UM, Colombo AP.
Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections
J Endod 2002 Mar;28(3):168-72.
160. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN.
Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation
Int Endod J 1997 Mar;30(2):91-5.
161. Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Orstavik D.
In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on Enterococcus faecalis
Eur J Oral Sci 2004 Aug;112(4):326-31.
162. Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M.
The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy
J Endod 2005 Sep;31(9):669-71.
163. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G.
Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis
Int Endod J 1997 Sep;30(5):297-306.
164. Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K.
Factors affecting the long-term results of endodontic treatment
J Endod 1990 Oct;16(10):498-504.
165. Soekanto A, Kasugai S, Mataka S, Ohya K, Ogura H.
Toxicity of camphorated phenol and camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture
J Endod 1996 Jun;22(6):284-9.
166. Spangberg L, Engstrom B, Langeland K.
Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1973 Dec;36(6):856-71.
167. Spangberg L, Rutberg M, Rydinge E.
Biologic effects of endodontic antimicrobial agents
J Endod 1979 Jun;5(6):166-75.
168. Spangberg LS.
Endodontics today - a turn-of-the-century reflection
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2000 Jun;89(6):659.
169. Spangberg LS.
To do a "root canal"
Aust Endod J 2003 Apr;29(1):13-6.

170. Spangberg LS.
In vitro assessment of the toxicity of endodontic materials
Int Endod J 1981 Jan;14(1):27-33.
171. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K.
An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates
Int Endod J 2001 Jun;34(4):300-7.
172. Strübig W.
Geschichte der Zahnheilkunde.
Deutscher Ärzte-Verlag, Köln; 1989.
173. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB.
Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment
J Endod 2006 Feb;32(2):93-8.
174. Sundqvist G.
Ecology of the root canal flora
J Endod 1992 Sep;18(9):427-30.
175. Sundqvist G.
Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994 Oct;78(4):522-30.
176. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U.
Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998 Jan;85(1):86-93.
177. Tanalp J, Kaptan F, Sert S, Kayahan B, Bayirli G.
Quantitative evaluation of the amount of apically extruded debris using three different rotary instrumentation systems
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006 Feb;101(2):250-7.
178. Tanriverdi F, Esener T, Erganis O, Belli S.
An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with Enterococcus faecalis
Braz Dent J 1997;8(2):67-72.
179. Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT.
The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis
Int Endod J 2005 May;38(5):285-90.
180. Tinaz AC, Karadag LS, Alacam T, Mihcioglu T.
Evaluation of the smear layer removal effectiveness of EDTA using two techniques: an SEM study
J Contemp Dent Pract 2006 Feb 15;7(1):9-16.

181. Torabinejad M.
Endodontic mishaps: etiology, prevention, and management
Alpha Omegan 1990;83(4):42-8.
182. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S.
The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer
J Endod 2003 Apr;29(4):233-9.
183. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK.
Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002 Dec;94(6):658-66.
184. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al.
A new solution for the removal of the smear layer
J Endod 2003 Mar;29(3):170-5.
185. Trope M, Delano EO, Orstavik D.
Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment
J Endod 1999 May;25(5):345-50.
186. Tsesis I, Rosen E, Schwartz-Arad D, Fuss Z.
Retrospective evaluation of surgical endodontic treatment: traditional versus modern technique
J Endod 2006 May;32(5):412-6.
187. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF.
Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro
Endod Dent Traumatol 1993 Dec;9(6):243-8.
188. van der Sluis LW, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR.
The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation
Int Endod J 2006 Jun;39(6):472-6.
189. von Fraunhofer JA, Fagundes DK, McDonald NJ, Dumsha TC.
The effect of root canal preparation on microleakage within endodontically treated teeth: an in vitro study
Int Endod J 2000 Jul;33(4):355-60.
190. Walker A.
A definite and dependable therapy for pulpless teeth
JADA 1936 Aug;23.
191. Waltimo TM, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP.
In vitro yeast infection of human dentin
J Endod 2000 Apr;26(4):207-9.

192. Wang Y, Spencer P.
Analysis of acid-treated dentin smear debris and smear layers using confocal Raman microspectroscopy
J Biomed Mater Res 2002 May;60(2):300-8.
193. Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, ener-West M, Johnson JD.
The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals
J Endod 2003 Sep;29(9):562-4.
194. Weiger R, de LJ, Decker HE, Lost C.
Vitality status of microorganisms in infected human root dentine
Int Endod J 2002 Feb;35(2):166-71.
195. Weiger R, Manncke B, Werner H, Lost C.
Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth
Endod Dent Traumatol 1995 Feb;11(1):15-9.
196. WHO World Alliance for Patient Safety.
WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care (Advanced Draft).
Oct 2005; www. who.int
197. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK und der DGZ.
Revision einer Wurzelkanalbehandlung
Dtsch Zahnarzt Z 2004 Jul;59.
198. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK und der DGZ.
Die Wurzelkanalspülung
Dtsch Zahnarzt Z 2006 Oct.
199. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK und der DGZ.
Die maschinelle Wurzelkanalaufbereitung
Dtsch Zahnarzt Z 2005 Aug;60.
200. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK und der DGZ.
Wurzelkanalaufbereitungen
Dtsch Zahnarzt Z 2000 Apr;55.
201. Yang SE, Cha JH, Kim ES, Kum KY, Lee CY, Jung IY.
Effect of smear layer and chlorhexidine treatment on the adhesion of Enterococcus faecalis to bovine dentin
J Endod 2006 Jul;32(7):663-7.
202. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS.
The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003 Nov;96(5):578-81.
203. Zamany A, Spangberg LS.
An effective method of inactivating chlorhexidine
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002 May;93(5):617-20.

204. Zehnder M.
Root canal irrigants
J Endod 2006 May;32(5):389-98.
205. Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LS.
Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005 Dec;100(6):756-61.
206. Zoletti GO, Siqueira JF, Jr., Santos KR.
Identification of Enterococcus faecalis in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches
J Endod 2006 Aug;32(8):722-6.

11. Tabellarischer Lebenslauf

Name : Sandra Margarete Kandlbinder

Anschrift : Heideweg 9, 93170 Bernhardswald

Geburtstag : 10. September 1979

Geburtsort : Regensburg

Familienstand : ledig

Schulbildung :

| | |
|-------------|--|
| 1986 – 1990 | Grundschule Bernhardswald |
| 1990 – 1998 | Regental-Gymnasium Nittenau |
| 1998 – 2000 | Albrecht-Altendorfer-Gymnasium Regensburg; Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife |

Universitätsstudium : *WS 2000 – SS 2005* Studium der Zahnmedizin an der
Universität Regensburg

- *Oktober 2001* naturwissenschaftliche Vorprüfung
- *April 2003* zahnärztliche Vorprüfung
- *November 2005* zahnärztliche Abschlussprüfung
- *Dezember 2005* Approbation als Zahnärztin
- *Jan. - Okt. 2006* Doktorandin in Vollzeit an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie;
Betreuer: Prof. Dr. Gottfried Schmalz

berufliche Laufbahn :

- *Nov. 2006 - Jan. 2007* Vorbereitungsassistentin in der Praxis
Dr. Konstanze Groß in Leiblfing
- *Feb. 2007 - Apr. 2008* Vorbereitungsassistentin in der Praxis
Dr. Anita Saller in Teisnach
- *Mai 2008 - Apr. 2008* Vorbereitungsassistentin in der Praxis
Dr. Andreas Wagner in Kallmünz
- *seit Nov. 2008* Vorbereitungsassistentin in der Praxis
Dr. Irmgard Bucher in Wörth a. D.

12. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Gottfried Schmalz danke ich recht herzlich für die kurzfristige Überlassung dieses Dissertationsthemas, die großzügige Bereitstellung der Arbeitsmaterialien und die engmaschige persönliche Betreuung der Experimente.

Außerdem gilt mein ganz besonderer Dank meinen Eltern und meinem Freund Thomas, ohne deren finanzielle Unterstützung dieses Promotionssemester überhaupt nicht möglich gewesen wäre. Überdies haben sie mir durch das gesamte Studium hindurch auch emotional unablässig liebevoll und aufbauend beigestanden.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Karl-Anton Hiller, der mit mir zusammen den Versuchsaufbau konzipiert und mir bei der statistischen und graphischen Auswertung der Ergebnisse geholfen hat.

Meinen Dank aussprechen möchte ich ebenfalls dem Laborteam der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie des Uniklinikums Regensburg, insbesondere Frau Brigitte Bey am Rasterelektronenmikroskop und Frau Claudia Waha an der Bakterienbank, die mir bei der Durchführung der Versuche stets hilfreich zur Seite standen.

Auch die freundschaftliche und reibungslose Zusammenarbeit mit meiner Doktoranden-Kollegin Frau Elisabeth Tabenski-Bosakowski soll an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben.

Zu guter Letzt danke ich meinem Freund und meinem Bruder für ihre Hilfestellung in allen computertechnischen Fragen zur Gestaltung der Dissertationsschrift sowie allen Lektoren, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.