

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchung zur Effektivität unterschiedlicher
Plasmaquellen im Wurzelkanalmodell mit standardisierter
Krümmung

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jonas Doehring

aus Görlitz

Datum der Promotion: 05.03.2021

Meiner Familie, meinen Wurzeln gewidmet

- back to the roots-

Vorwort

Basierend auf den Versuchen der vorliegenden Arbeit entstand folgende Publikation:

Ballout, H., M. Hertel, J. Doehring, E. Kostka, S. Hartwig, S. Paris and S. Preissner (2018). "Effects of plasma jet, dielectric barrier discharge, photodynamic therapy and sodium hypochlorite on infected curved root canals." J Biophotonics **11**(3).

Aus dem erarbeiteten Versuchsaufbau ist Abschnitt 2 „Materials and Methods“ entstanden. Aus meiner statistischen Auswertung sind die Abbildungen „Figure 1“ und „Figure 2“ hervorgegangen.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	IX
1 Abstract.....	1
2 Einleitung	5
2.1 Grundlagen der endodontischen Therapie	5
2.2 Die Rolle der Anatomie des Wurzelkanalsystems	6
2.3 Die Rolle von <i>Enterococcus faecalis</i>	7
2.4 Desinfektion des Wurzelkanals.....	9
2.4.1 Natriumhypochlorit	9
2.4.2 Chlorhexidindigluconat.....	10
2.4.3 Chelatoren.....	11
2.4.4 Weitere Desinfektionsmethoden	12
2.5 Elektrophysikalische Desinfektionsmethoden.....	13
2.5.1 Photodynamische Therapie	13
2.5.2 Kaltes Plasma	14
2.6 Zielstellung.....	17
3 Methodik.....	18
3.1 Vorüberlegungen	18
3.2 Technische Grundlagen der verwendeten Modelle	19
3.3 Zahnauswahl	23
3.4 Vorbereitung der Zähne	24
3.5 Herstellung der Proben für den Vorversuch	25
3.6 Herstellung der Proben für den Hauptversuch	27
3.7. Bakterienkultivierung	30
3.8 Infektion der Probenblöcke und Inkubation	31

3.9 Die Desinfektion.....	33
3.9.1 Negativkontrolle	33
3.9.2 Natriumhypochlorit mit passiver Ultraschallaktivierung.....	34
3.9.3 Photodynamische Therapie	35
3.9.4 Kaltes Plasma I	36
3.9.5 Kaltes Plasma II	37
3.10 Erstellen der Verdünnungsreihe	38
3.11 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	39
4 Ergebnisse und Auswertung.....	40
4.1 Wurzelkanalkrümmung	40
4.2 Koloniebildende Einheiten	46
4.3 Rasterelektronenmikroskopie	55
5 Diskussion	61
5.1 Das Wurzelkanalmodell	61
5.2 Versuchsaufbau.....	66
5.3 Koloniebildende Einheiten und statistische Auswertung	68
5.4 Rasterelektronenmikroskopie	69
5.5 Fazit.....	70
Literaturverzeichnis	71
Eidesstattliche Versicherung	X
Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen.....	XI
Lebenslauf Jonas Doehring	XII
Publikationsliste.....	XIII
Danksagung.....	XIV

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°	Grad
°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
APPJ	Atmospheric Pressure Plasma Jet
Aqua dest.	destilliertes Wasser
A-Silikon	Additionsvernetzendes Silikon
BHI	Brain Heart Infusion, Hirn-Herz-Bouillon
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
CA	Citric Acid, Zitronensäure
ca.	circa
CFU	Colony Forming Units, koloniebildende Einheit
cm	Zentimeter
CP	Cold Plasma, Kaltes Plasma
DBD	Dielectric Barrier Discharge
DIL	Dillution, Verdünnung
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
<i>et al.</i>	und andere
FE-DBD	Floating-Electric Dielectric Barrier Discharge
ggf.	gegebenenfalls
H ₀	Nullhypothese
H ₁	Alternativhypothese
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
JKJ	Jodkaliumjodid
kV	Kilovolt

logCFU/ml..... *Logarithmus der Koloniebildenden Einheiten pro Milliliter*
 mA *Milliampere*
 MKG *Mund-, Kiefer-, Gesichtschirurgie*
 ml..... *Milliliter*
 mm..... *Millimeter*
 n *Anzahl*
 NaCl..... *0,9%ige Natriumchlorid-Lösung*
 NaOCl..... *Natriumhypochlorid*
 NC *Negative Control, Negativkontrolle*
 nm..... *Nanometer*
 No..... *Nummer*
p *probabilitas, Wahrscheinlichkeit, Signifikanzwert*
 PDT *photodynamische Therapie*
 PUI..... *passive Ultraschallaktivierung*
r *Effektstärke*
 REM..... *Rasterelektronenmikroskop*
 s *Sekunden*
 SEI..... *Secondary Electron Imaging*
 SEM..... *Scanning Electron Microscope*
 sog..... *sogenannt*
 u.a. *unter anderem*
 U/min *Umdrehungen pro Minute*
 UV..... *Ultraviolett*
 vgl..... *vergleiche*
 vs. *versus, gegen(übergestellt)*
 z.B. *zum Beispiel*
 µl *Mikroliter*

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1** Mikro-CT Modelle unterschiedlicher Wurzelkanalkonfigurationen modifiziert nach [17] © 2016 *International Endodontic Journal*. Published by John Wiley & Sons Ltd 6
- Abbildung 2** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Gruppe *E. faecalis*-Bakterien aus: *Public Health Image Library (PHIL)*, CDC/Pete Wardell; <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=12803>..... 8
- Abbildung 3** Schematische Darstellung einer DBD (A) und einer FE-DBD (B) modifiziert nach [92]. *Creative Commons License* (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) 15
- Abbildung 4** Schematische Darstellung eines APPJ nach Schütze *et al.* 1992 (A) und einer Plasma-Nadel nach Stoffels *et al.* 2004 (B) modifiziert nach [92]. *Creative Commons License* (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) 15
- Abbildung 5** Validierung der Vorüberlegungen mittels Herstellung von Probenblöcken aus Holz 18
- Abbildung 6** Geometrische Prinzipien des Gehrungsschnitts: Der Winkel an der geraden Seite des Probenblocks (blau + rot + schwarz) sei 180°. Der schwarze Winkel bildet zum Querschnitt des Blockes (kurze graue Linie) einen rechten Winkel von 90°. Der Schnittwinkel (rot) beträgt 10°. Somit ergeben sich für den blauen Winkel 80°, für den gelben Winkel 100°..... 20
- Abbildung 7** Herstellungsverfahren der Probenblöcke: Teilung entlang der Achse, die im 10°-Winkel zur Außenseite die Mittellinie schneidet, horizontale Rotation des apikalen Teils um 180°, adhäsive Wiedervereinigung der Anteile 21

Abbildung 8	Winkelbetrachtung des fertigen Probenblocks: Durch Addition ergeben sich innenseitig (gelb + rot + schwarz) 200° und außenseitig (blau + blau) 160°. Abweichend von der gedachten Zahn­längsachse ergibt sich der grüne Winkel mit 20°. Dieser entspricht der Wurzelkanalkrümmung.	22
Abbildung 9	Auswahl der Zähne zur Modellherstellung nach den oben genannten Kriterien (n=50)	23
Abbildung 10	Zur Einbettung vorbereiteter Probenzahn in UV-Küvette zentriert...	26
Abbildung 11	In der Schleifvorrichtung fixierter Probenblock	29
Abbildung 12	Infektion der Probenblöcke durch Injektion der infizierten BHI mit zusätzlicher PUI	32
Abbildung 13	Versuchsgruppe NC.....	33
Abbildung 14	Versuchsgruppe NaOCl + PUI.....	34
Abbildung 15	Versuchsgruppe PDT.....	35
Abbildung 16	Versuchsgruppe CP I.....	36
Abbildung 17	Versuchsgruppe CP II.....	37
Abbildung 18	Vertikalschnitt durch einen Probenblock, Probennummer 5, Versuchsgruppe NaOCl + PUI	39
Abbildung 19	Digital vermessene und anschließend mathematisch berechnete Wurzelkanalkrümmung sortiert nach Probennummer (n=40); Arithmetisches Mittel aller Wurzelkanalkrümmungen 22,87°	40
Abbildung 20	Krümmungswinkel in Grad (n=40); Spannweite 13,3°, Minimum 14,6°, Maximum 27,9°	41
Abbildung 21	Versuchsgruppe NC: mediane Wurzelkanalkrümmung: 22,3°, min. Winkel 20,5°, max. Winkel 26° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim	42

- Abbildung 22** Versuchsgruppe NaOCl + PUI: mediane Wurzelkanalkrümmung: 24,95°, min. Winkel: 14,6°, max. Winkel: 27,9° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 42
- Abbildung 23** Versuchsgruppe PDT: mediane Wurzelkanalkrümmung: 22,25°, min. Winkel: 19°, max. Winkel: 24,4° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 43
- Abbildung 24** Versuchsgruppe CP I: mediane Wurzelkanalkrümmung: 23,3°, min. Winkel: 20,2°, max. Winkel: 27,5° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 43
- Abbildung 25** Versuchsgruppe CP II: mediane Wurzelkanalkrümmung: 22,1°, min. Winkel: 19,4°, max. Winkel: 27,3° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 44
- Abbildung 26** Testgruppen mit den jeweiligen Wurzelkanalkrümmungen der Probenblöcke (n=40) 45
- Abbildung 27** Analog erfasste CFU pro Blutagarplatte in der Verdünnungsstufe 10^{-3} (n=40) 49
- Abbildung 28** Logarithmierte CFU/ml im koronalen und apikalen Abschnitt der Probenblöcke (n=80) modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 50
- Abbildung 29** Versuchsgruppe NC, SEI, 15 kV, No. 3, Wurzelkanalkrümmung 24,8°
A) Koronal 10-fach, B) Koronal 500-fach, C) Koronal 2000-fach,
D) Koronal 2. Position 2000-fach, E) Apikal 25-fach, F) Apikal 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 56
- Abbildung 30** Versuchsgruppe NaOCl + PUI, SEI, 15 kV, No. 20, Wurzelkanalkrümmung 27,9°
A) Koronal 10-fach, B) Koronal 2000-fach, C) Koronal 2. Position 2000-fach modifiziert nach [106]

© 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, D)
Apikal 10-fach E) Apikal 500-fach, F) Apikal 2. Position 500-fach... 57

Abbildung 31 Versuchsgruppe PDT, SEI, 15 kV, No. 27, Wurzelkanalkrümmung 24,4° A) Koronal 10-fach, B) Koronal 2000-fach, C) Koronal 2. Position 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, D) Apikal 10-fach, E) Apikal 2000-fach, F) Apikal 2. Position 2000-fach 58

Abbildung 32 Versuchsgruppe CP I, SEI, 15 kV, No. 24, Wurzelkanalkrümmung 24,4° A) Koronal 10-fach, B) Koronal 1000-fach, C) Koronal 2. Position 1500-fach, D) Apikal 10-fach, E) Apikal 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, F) Apikal 1500-fach 59

Abbildung 33 Versuchsgruppe CP II, SEI, 15 kV, No. 19, Wurzelkanalkrümmung 20,8° A) Koronal 10-fach, B) Koronal 1500-fach, C) Koronal 3500-fach, D) Apikal 10-fach, E) Apikal 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, F) Apikal 2000-fach 60

Abbildung 34 Digital vermessener Probenblock - links 24,2°, rechts 22,5°, Differenz 1,7° 61

Abbildung 35 Probenblock in mesio-distaler und bucco-oraler Projektion; sowohl koronal als auch apikal deutlich ausgeprägtes Lumen des Wurzelkanals und großes Pulpenkavum 62

Abbildung 36 Fügespalt als sichtbare schwarze Linie zwischen koronalem und apikalem Abschnitt 63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Absolute CFU der Versuchsgruppe NC nach Probennummer und Verdünnung	46
Tabelle 2: Absolute CFU der Versuchsgruppe NaOCl + PUI nach Probennummer und Verdünnung	46
Tabelle 3: Absolute CFU der Versuchsgruppe PDT nach Probennummer und Verdünnung	47
Tabelle 4: Absolute CFU der Versuchsgruppe CP I nach Probennummer und Verdünnung	47
Tabelle 5: Absolute CFU der Versuchsgruppe CP II nach Probennummer und Verdünnung	48
Tabelle 6: Medianer logCFU/ml des koronalen und apikalen Probenblocks	51
Tabelle 7: p -Werte des Mann-Whitney-U-Tests	52
Tabelle 8: Effektstärke r zur Beurteilung des Ausmaßes der Wirkung; schwach: $r < 0,1$; mittel: $0,1 \leq r < 0,3$; stark: $r > 0,5$	53
Tabelle 9: p -Wert für Vergleich koronal vs. apikal in jeder einzelnen Versuchsgruppe	54

1 Abstract

Die Anatomie des Wurzelkanalsystems ist ein wesentlicher zu beachtender Aspekt bei der endodontischen Therapie [1, 2]. Komplexe Wurzelkanalkonfigurationen und Krümmungen des Kanals erschweren die Instrumentierung und Reduktion der Keimlast [3]. Mikroorganismen wie *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) überdauern die nährstoffarmen Wirtsbedingungen im Wurzelkanalsystem und verursachen rezidivierende Entzündungen [4]. Dass kaltes Plasma (CP) eine antibakterielle Wirkung auf *E. faecalis* in verschiedenen Dentinschichten besitzt, konnte in entsprechenden Studien bereits nachgewiesen werden [5].

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit verschiedener Plasmaquellen im Vergleich zu etablierten Desinfektionslösungen in unterschiedlichen Dentinschichttiefen in gekrümmten Wurzelkanälen *in vitro*. Um physiologische Bedingungen abbilden zu können, wurde dafür ein neuartiges Wurzelkanalmodell mit standardisierter Krümmung entwickelt.

40 extrahierte humane Inzisivi wurden auf 16 mm Länge gekürzt und die Wurzelkanäle auf einen Durchmesser von 0,70 mm aufbereitet. Die Zähne wurden in Kunststoff eingebettet und mittels Gehrungsschnitt in koronalen und apikalen Teil getrennt. Nach horizontaler Rotation eines der Abschnitte um 180° wurden beide Teile adhäsiv miteinander verbunden. Nach Sterilisierung der Proben folgte die Infektion mit *E. faecalis*-infizierter Hirn-Herz-Bouillon (BHI). Zur Desinfektion der Kanäle wurden zwei verschiedene Plasmaquellen (CP I und CP II), die photodynamische Therapie (PDT) sowie Natriumhypochlorit mit passiver Ultraschallaktivierung (NaOCl + PUI) angewendet. Die Negativkontrolle (NC) bestand aus Spülung mittels steriler Kochsalzlösung (NaCl). Anschließend wurden koronaler und apikaler Teil getrennt und durch Instrumentierung Dentin abgetragen. Die gewonnenen Späne

wurden gesammelt und eine Verdünnungsreihe erstellt. Von den Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} wurden jeweils 100 μ l entnommen und auf Blutagarplatten ausplattiert. Diese wurden bei 37 °C unter anaeroben Bedingungen für 48 Stunden inkubiert. Zur Auswertung erfolgte die Erfassung der koloniebildenden Einheiten (CFU) und eine statistische Analyse mittels Kruskal-Wallis- und Mann-Whitney-U-Test. Zusätzlich erfolgte eine deskriptive strukturelle Untersuchung der Proben mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM).

Sowohl in Bezug auf NC als auch im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen zeigte nur NaOCl + PUI eine signifikante Reduktion der CFU ($p < 0,001$). Die reduzierende Wirkung stellte sich koronal und apikal ein. PDT ($p = 0,015$) erzielte im koronalen Anteil eine signifikant höhere Reduktion der CFU als CP II. Im REM zeigt sich insbesondere bei NaOCl + PUI eine verminderte bakterielle Besiedlung der Wurzelkanaloberfläche. Auch CP I, PDT und CP II weisen im Vergleich zur NC einen sichtbaren Unterschied des bakteriellen Biofilms auf.

Die Ergebnisse bestätigen NaOCl als Standardspüllösung hinsichtlich der antibakteriellen Wirksamkeit bei der endodontischen Therapie. Jedoch bieten PDT und CP vielversprechende Ansätze und könnten insbesondere im Sinne einer adjuvanten Anwendung das endodontische Therapiespektrum erweitern.

The anatomy of the root canal system affects the outcome of endodontic treatment [1, 2]. Complex configuration and curvatures impede instrumentation and bacterial reduction [3]. Microorganisms such as *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) outlast the nutrient-poor conditions and therefore cause recurring inflammation [4]. The antibacterial effect of cold plasma (CP) on *E. faecalis* in different layers of root canal dentin has been shown before [5].

The aim of the present study was to investigate the bactericidal efficacy of different plasma sources as well as established disinfection methods in the different depths of curved root canals *in vitro*. In order to simulate the physiological conditions, a new root canal model with a standardized curvature has been developed.

40 extracted human incisors were cut to a length of 16 mm each and the canals were widened up to a diameter of 0.7 mm. After embedding the teeth into acrylic resin, the specimens were divided into coronal and apical part by miter cut. The parts were adhesively reattached after rotating one part 180° horizontally. The samples were subsequently incubated with *E. faecalis*-infected brain heart infusion (BHI). For the endodontic disinfection, two plasma sources (CP I and CP II), photodynamic therapy (PDT) and sodium hypochlorite with passive ultrasonic activation (NaOCl + PUI) were applied. Sterile saline solution (NaCl) was used for negative control (NC). Afterwards, the coronal and apical part were divided and by drilling, dentin was removed. Dentin chips were collected and serially diluted. 100 µl were taken from the dilutions 10⁻³, 10⁻⁴ and 10⁻⁵ and spread out on Columbia agar plates. After incubation for 48 hours at 37 °C under anaerobic conditions, colony forming units (CFU) were captured and statistically analyzed using Kruskal-Wallis- and Mann-Whitney *U*-test. Additionally, scanning electron microscopy (SEM) was used for descriptive structural examination.

Only NaOCl + PUI showed a significant reduction of CFU ($p < .0001$) compared to all other groups in both coronal and apical part. PDT ($p = .015$) obtained a significant

higher reduction of CFU than CP II in the coronal part. Especially NaOCl + PUI showed a reduced bacterial colonization of the root canal surface in the SEM. But also CP I, PDT and CP II exhibit a visible difference of bacterial biofilms compared to NC.

The results underline NaOCl as gold standard in endodontic therapy. However, PDT and CP provide promising approaches and could expand endodontic therapy spectrum, especially in terms of an adjuvant use.

2 Einleitung

2.1 Grundlagen der endodontischen Therapie

Die bakterielle Besiedlung des Wurzelkanalsystems von Zähnen ist der Hauptgrund für die Notwendigkeit einer endodontischen Behandlung [6]. Im intakten endodontischen Komplex ist das Pulpagewebe gegenüber der Umwelt hermetisch abgeschirmt. Kommt es in Folge von chemischen, thermischen, mechanischen oder infektiös-toxischen Reizeinwirkungen zu einer Exposition, führt dies zu pulpitischen Beschwerden. Mikroorganismen und von ihnen sezernierte Toxine verursachen zunächst reversible Reaktionen, die bei Persistenz zu irreversiblen Pulpitiden und zur Exazerbation mit Ausbildung periapikaler Läsionen führen können. Die endodontische Behandlung zielt auf die Beseitigung einer möglichst großen Anzahl an Mikroorganismen ab. In der klinischen Anwendung hat sich dabei die Kombination aus dem mechanischen Abtrag von infiziertem Gewebe und der zusätzlichen chemischen Inaktivierung der Mikroorganismen – der sogenannten chemo-mechanischen Aufbereitung – bewährt. Nach Schaffung einer Zugangskavität erfolgt die Instrumentierung des Wurzelkanalsystems mit unterschiedlichen Feilen, die nekrotisches Gewebe entfernen und das Wurzelkanalsystem für die spätere Füllung formen sollen. Zur Beseitigung der bakteriellen Besiedlung werden synergistisch verschiedene Spüllösungen eingesetzt. Abschließend zur Aufbereitung und ggf. medikamentösen Zwischenbehandlungen wird das Wurzelkanalsystem bakteriendicht verschlossen. Auch unter Berücksichtigung aller Kautelen während der endodontischen Therapie gibt es eine Reihe von Faktoren, die zum Misserfolg führen können [7]. Einer der wichtigsten Aspekte ist die Persistenz von pathogenen Keimen, die Rezidive begünstigen.

2.2 Die Rolle der Anatomie des Wurzelkanalsystems

Einen erheblichen Einfluss auf den Erfolg einer endodontischen Therapie hat die Anatomie des Wurzelkanalsystems [8]. Nach *Vertucci* können 8 Typen der Wurzelkanalkonfiguration voneinander unterschieden werden [9]. Deren Kenntnis ist für eine Behandlung des Endodonts *lege artis* unabdingbar [10]. Jedoch kommt es nicht nur auf den Wurzelkanaltyp, sondern auch auf die individuelle Konfiguration des einzelnen Kanals an [11]. Wurzelkanäle weisen in ihrem Verlauf unterschiedlich starke Krümmungen auf. *Schneider* teilte diese in drei Kategorien - gering, mäßig und stark - ein [12]. Neben dieser radiologisch bestimmten Typisierung kann eine weitere Einteilung auf mathematischer Grundlage erfolgen. Hier ergeben sich vier Formen: I-, J-, C- und S-Form [13]. Darüber hinaus stellt auch der Krümmungsradius, der bei gleichem Krümmungswinkel erheblich differieren kann, einen nicht zu vernachlässigenden Parameter bei der Instrumentierung des Wurzelkanals dar [14]. In der Praxis sollte zudem beachtet werden, dass eine Krümmung in allen drei Raumebenen bestehen kann [15]. Die Wahl adäquater Instrumente für die mechanische Aufbereitung sowie der Aufbereitungstechnik sollte unter Berücksichtigung der anatomischen Verhältnisse erfolgen [16].

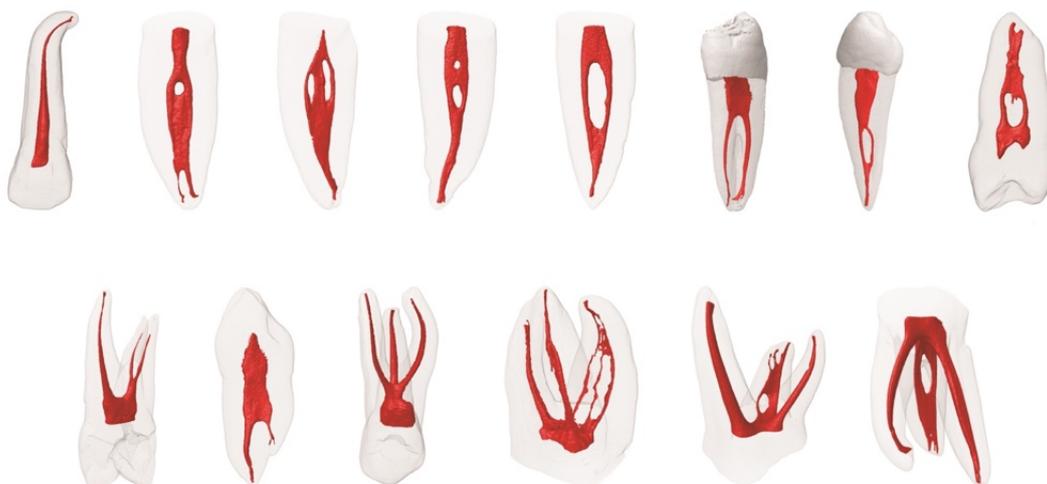


Abbildung 1 Mikro-CT Modelle unterschiedlicher Wurzelkanalkonfigurationen modifiziert nach [17]
© 2016 *International Endodontic Journal*. Published by John Wiley & Sons Ltd

2.3 Die Rolle von *Enterococcus faecalis*

Durch die chemo-mechanische Aufbereitung des Wurzelkanalsystems ist eine *Restitutio ad integrum* nicht möglich, daher steht bei der endodontischen Therapie die *Reparatio* im Fokus. Da die Persistenz von Bakterien im Wurzelkanalsystem zu Entzündungsprozessen und periapikalen Defekten führt [18], ist eine möglichst geringe bakterielle Belastung bzw. Asepsis [6] die Voraussetzung für den Heilungsprozess. Obwohl *E. faecalis* laut *Klimm et al.* nicht zur endodontischen Primärflora zählt [19], ist er oft mit endodontischen Misserfolgen und daraus resultierenden asymptomatischen periapikalen Läsionen assoziiert [20].

E. faecalis ist ein grampositives Bakterium aus der Gruppe der Enterokokken. Sie lagern in Paaren oder kurzen Ketten und zählen zu den fakultativen Anaerobiern. Gegenüber Temperaturschwankungen zeigen sie eine hohe Toleranz und wachsen bei Temperaturen zwischen 10 °C und 45 °C. Anhand biochemischer Eigenschaften können Enterokokken in 5 Gruppen aufgeteilt werden. Enterokokken, die einst zu den Streptokokken zählten, kommen im Gastrointestinaltrakt der meisten Säugetiere vor. Obwohl sie hier mehr als die Hälfte der physiologischen Darmflora ausmachen, sind es fakultativ pathogene Keime. So sind sie mit infektiöser Endokarditis, Infektionen des Urogenitaltraktes und Sepsis, besonders beim immunsupprimierten Patienten, assoziiert [21]. Die Pathogenität geht dabei von den Virulenzfaktoren aus. Diese umfassen u.a. Lipasen, Gelatinasen und Zytolysin A [22]. Aufgrund ihrer Resistenz gegenüber vielen Antibiotika machen sie einen immer größeren Anteil nosokomialer Mischinfektionen aus [23]. *E. faecalis* besitzt unter den Enterokokken die höchste Prävalenz bei rezidivierenden Infektionen des Wurzelkanalsystems [24]. Eine Besiedlung des Endodonts ist vermutlich erst durch die Wurzelkanalbehandlung an sich oder durch undichte postendodontische Restaurationen möglich [25]. Hier

konkurriert es mit anderen Mikroorganismen und passt sich der nährstoffarmen Umgebung schnell an [4]. Darüber hinaus ist es in der Lage, die Dentintubuli zu penetrieren und an Kollagen zu binden [26].

In Versuchen reagierte *E. faecalis* sensibel auf die PDT [27], CHX und NaOCl [28]. Wie *Retamozo et al.* nachwiesen, ist für eine ausreichende Desinfektion jedoch eine hohe Konzentration und eine mehrminütige Einwirkzeit notwendig [29].

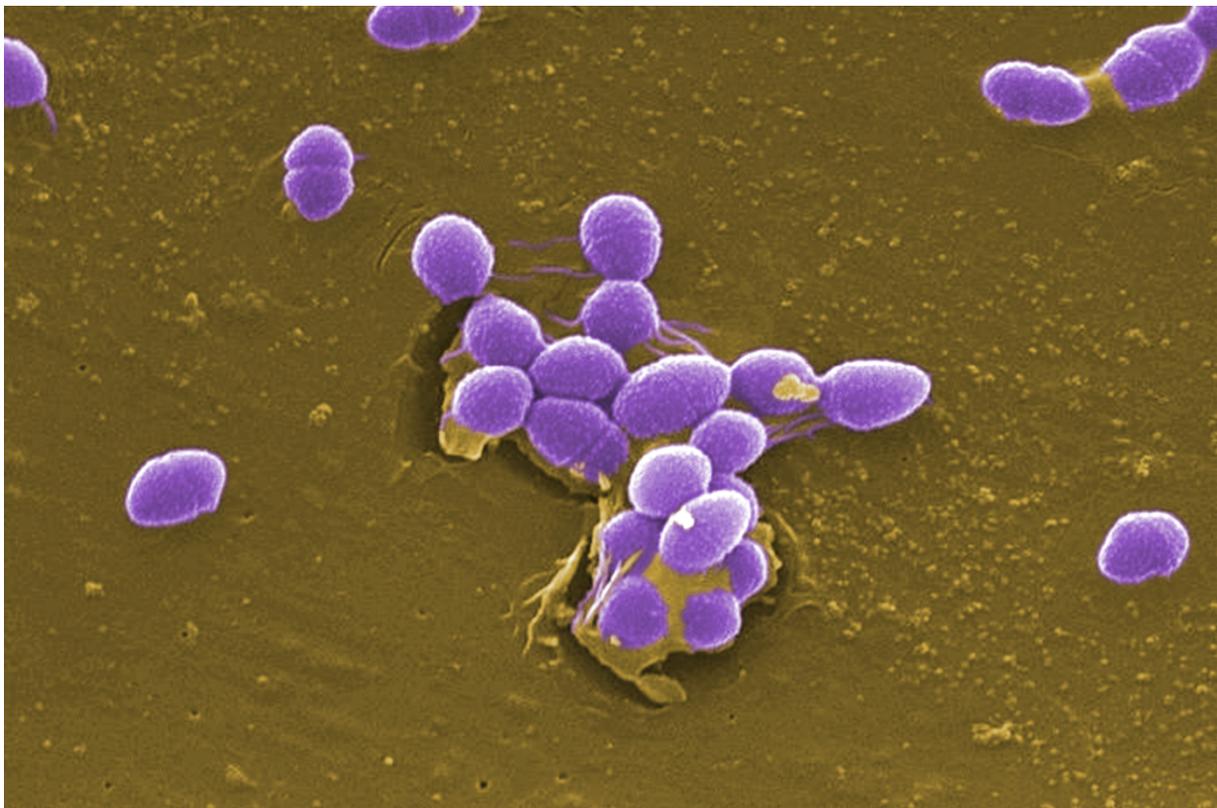


Abbildung 2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Gruppe *E. faecalis*-Bakterien aus: *Public Health Image Library (PHIL), CDC/Pete Wardell;* <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=12803>

2.4 Desinfektion des Wurzelkanals

Da durch die mechanische Aufbereitung und Instrumentierung nur etwa zwei Drittel der Oberfläche der Wurzelkanalwand bearbeitet werden [30], ist die kombinierte chemo-mechanische Aufbereitung obligat. Hierzu werden in der Praxis verschiedene Desinfektionslösungen angewandt. Die für die vorliegende Arbeit wichtigsten Agenzien sollen im Folgenden vorgestellt werden.

2.4.1 Natriumhypochlorit

NaOCl ist die weltweit am häufigsten angewandte Spüllösung zur Desinfektion bei der chemo-mechanischen Aufbereitung [31] und gilt als der Goldstandard [32]. Es löst nicht nur vitales Pulpagewebe, sondern insbesondere auch nekrotisches Gewebe aus der Wurzelkanalwand [33]. Zudem wirkt es effektiv bei der Entfernung des sog. Smear Layer, der durch die mechanische Aufbereitung entstehenden Schmierschicht [34]. Dieser Effekt kann durch die zusätzliche Ultraschallaktivierung erhöht werden [35], wodurch u.a. auch eine effektivere Reinigungswirkung in gekrümmten Wurzelkanälen erreicht wird [36]. Die stark antimikrobielle und bakterizide Wirkung beruht auf dem Einfluss der hypochlorigen Säure, die die prokaryotischen Vitalfunktionen und den Metabolismus beeinflussen und somit zu einem schnellen Zelltod führt [37, 38]. Die Wirkung von NaOCl ist abhängig von verschiedenen Parametern, wie etwa der Konzentration und der Temperatur [39]. Bei der Anwendung sind Konzentrationen zwischen 0,5% und 5,25% üblich [33], eine generelle Empfehlung für eine bestimmte Konzentration gibt es bisher nicht [40]. *Heling et al.* beschrieben bei der Wirkung von NaOCl auf *E. faecalis* eine minimale Hemmkonzentration von 0,157% sowie eine minimal bakterizide Konzentration von 2,5%.

NaOCl birgt jedoch auch einige Nachteile. So ist es nicht in der Lage, anorganisches Material aufzulösen [41]. Weiterhin ist die Zytotoxizität im Vergleich zu anderen Spüllösungen hoch [42, 43]. In hohen Konzentrationen vermindert NaOCl den Haftverbund zu Dentin [44], was sich negativ auf die postendodontische Therapie auswirken kann. In Anwesenheit von Dentinpulver ist die Wirkung von NaOCl auf *E. faecalis* herabgesetzt [45]. Auch sollte bei der praktischen Anwendung von NaOCl die extrem bleichende Wirkung beachtet werden.

2.4.2 Chlorhexidindigluconat

Das antiseptisch wirkende Chlorhexidin wird zur Desinfektion in verschiedenen Bereichen der Medizin, z.B. bei der chirurgischen Händedesinfektion oder präoperativen Hautdesinfektion [46], eingesetzt. Aufgrund der besseren Wasserlöslichkeit kommt jedoch häufiger Chlorhexidindigluconat (CHX) zum Einsatz [47]. Es findet sowohl als gebrauchsfertige Mundspüllösung zur Desinfektion bzw. Unterstützung der häuslichen Mundhygiene vor und nach operativen Eingriffen in der Mundhöhle, als auch als Gel zur lokalen antiseptischen Therapie bei Gingivitis und Parodontitis Anwendung. Der Wirkmechanismus beruht auf der Ladung des Moleküls. Als Kation bindet es an die negativ geladene Zellmembran der Prokaryotenzelle, penetriert diese und führt zum Zelltod [48]. Dabei ist der antibakterielle Effekt auf gram-positive Bakterien höher als auf gram-negative [49]. Daher wird es als Abschlussspülung und als Spülung bei Revisionsbehandlungen empfohlen [50]. Für die Verwendung in der Zahnmedizin ist es aufgrund der guten bakteriziden Wirkung gegen *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* interessant [40]. Weitere Vorteile von CHX sind die Substantivität, die hohe Biokompatibilität und die im Vergleich zu NaOCl geringere Zytotoxizität [51]. Aufgrund der Depotwirkung mit

prolongierter antimikrobieller Wirksamkeit [52] ist es als Zwischeneinlage sinnvoll [53]. Ähnlich wie bei NaOCl konnten *Evanov et al.* auch für CHX eine temperaturabhängige bakterizide Wirkung *in vitro* nachweisen [54]. Im Gegensatz zu NaOCl hat es zudem einen geringeren Einfluss auf den Haftverbund zum Dentin [55] und eignet sich darum als Spüllösung vor einer adhäsiven Befestigung von Wurzelkanalstiften [56]. Ein großer Nachteil ist die fehlende gewebeauflösende Wirkung [57]. Zudem wird die Wirkung gegenüber *E. faecalis* durch Dentinmatrix gehemmt [58]. Besondere Vorsicht ist zudem bei der gemeinsamen Anwendung mit NaOCl geboten, da hierbei Parachloranilin entstehen kann, welches möglicherweise eine kanzerogene Wirkung hat. Daher wird eine neutralisierende Zwischenspülung zwischen NaOCl und CHX empfohlen [51].

2.4.3 Chelatoren

Da NaOCl und CHX nicht in der Lage sind, anorganisches Material zu lösen, wird bei der chemischen Aufbereitung der Wurzelkanäle auf eine weitere Gruppe von Desinfizientia zurückgegriffen – die Chelatoren [59]. Zu diesen zählen u.a. Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und Zitronensäure (CA), die in unterschiedlichen Konzentrationen angewendet werden [60]. Als Komplexbildner reagieren sie mit den Kationen der anorganischen Matrix der präparationsbedingten Schmierschicht und lösen diese [61]. Bei der alternierenden Anwendung von EDTA mit 5,25%igem NaOCl konnte laut *O'Connell et al.* sogar eine vollständige Entfernung der Schmierschicht im koronalen und mittleren Wurzel Drittel erreicht werden [62]. Hierbei muss jedoch auch die inhibierende Wirkung von EDTA und CA auf NaOCl beachtet werden [63]. Der dekalzifizierende Effekt von EDTA ist abhängig von der Spülmenge und der Einwirkdauer [50]. Zudem demineralisiert und erweicht es das

Dentin der Wurzelkanalwand in Schichtstärken von bis zu 50 µm [64] und erweitert die Dentintubuli [65]. Sowohl CA als auch EDTA können Erosionen am Wurzelkanaldentin hervorrufen, wobei CA einen geringen Einfluss auf die Härte von Dentin hat [66]. EDTA hat eine eliminierende Wirkung auf die der Wurzelkanalwand anhaftenden Biofilme [50], jedoch nur einen geringen antimikrobiellen Effekt [67]. *Dos Santos Barroso et al.* konnten hingegen einen bakteriziden Effekt von 10%iger CA nachweisen [68]. Empfohlen wird die Verwendung von EDTA und CA als Abschlussspülung [50].

2.4.4 Weitere Desinfektionsmethoden

Neben den oben genannten gibt es weitere Agenzien, die in der Endodontie zwar seltener, jedoch ebenso wirksam eingesetzt werden können. Dazu zählen zum Beispiel Jodkaliumjodid (JKJ), Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und *Morinda citrifolia*. Für letztere konnte eine effektive Entfernung des Smear Layer nachgewiesen werden [69]. H₂O₂ ist antibakteriell wirksam [70] und kann zur Beseitigung von Anaerobiern eingesetzt werden [71]. Jedoch reduziert es den Mineralgehalt des Wurzelkanaldentins [72]. JKJ besitzt eine geringe Toxizität bei guter antimikrobieller Wirksamkeit [73] und wird auch als medikamentöse Einlage angewandt [74]. Es kann beispielsweise bei Unverträglichkeiten gegenüber NaOCl eingesetzt werden [75], allerdings ist hierbei auf eine mögliche Jodallergie zu achten. Als Zusatzspülung bei Revisionsbehandlungen ist es jedoch zu empfehlen [76].

2.5 Elektrophysikalische Desinfektionsmethoden

2.5.1 Photodynamische Therapie

Neben den chemisch wirksamen Spüllösungen gibt es weitere Möglichkeiten der Desinfektion des Wurzelkanalsystems. Dies sind vor allem elektrophysikalische Methoden. Die photodynamische Therapie (PDT) findet in medizinischen Bereichen eine vielfältige Anwendung u.a. in der Dermatologie und Ophthalmologie. Auch für die Endodontologie bietet PDT vielversprechende Ansätze und könnte das bisherige Therapiespektrum erweitern [77]. Gegenüber endodontologisch relevanten Keimen zeigte PDT gute antimikrobielle Eigenschaften [78]. *Garcez et al.* wiesen dabei sogar eine höhere antimikrobielle Wirkung als bei der Spülung mit 0,5%igem NaOCl nach [79]. Als Vorteil gilt die gute Gewebeverträglichkeit [80]. Bei der PDT wird die Anwendung eines kationischen Farbstoffes als Photosensibilisator, z.B. Methylenblau, mit einem Laser kombiniert [81]. Methylenblau ist ein Phenothiazin-Derivat mit der Summenformel $C_{16}H_{18}ClN_3S$ und einem Absorptionsmaximum im roten Lichtbereich bei 630-670 nm. Nach der Applikation diffundiert der Farbstoff während der Inkubationszeit in den Biofilm und lagert sich aufgrund der Ladungsunterschiede an die Prokaryotenzelle an [82]. Anschließend wird der Farbstoff durch Lichtapplikation angeregt und es kommt in der Folge zu einem quantenmechanischen Energietransfer. Hierbei entsteht aus Tripletsauerstoff sog. Singuletsauerstoff. Dieser ist ein starkes Oxidationsmittel und sehr reaktionsfreudig [81]. Neben der Schädigung der Zellwand kann er zudem Schäden an den Nukleinsäuren der Prokaryoten verursachen [83]. Weitere Vorteile sind neben dem photobiologischen Effekt auch die schmerzlindernde Wirkung [84]. Wie *Chiniforush et al.* in einer Studie aufzeigten, haben die verschiedenen, variabel wählbaren Parameter, wie die Lichtintensität des Lasers, bei der Anwendung einen Einfluss auf die bakterizide Wirkung [85]. So ist bspw. auch der

antimykotische Effekt von der Konzentration des Photosensibilisators abhängig [86]. Da die klinische Effektivität bisher nicht ausreichend gesichert ist [87], bedarf es weitergehender Untersuchungen, um einen optimalen bakteriziden Effekt zu erzielen [88].

2.5.2 Kaltes Plasma

Die Grundlagen der Plasmatechnologie wurden 1879 von dem britischen Forscher William Crookes geschaffen. Der Begriff des kalten Plasma (CP) für ein ionisiertes Gas wurde jedoch erst 1928 von dem amerikanischen Physiker und Chemiker Irvin Langmuir geprägt [89]. Führt man einem beliebigen Gas Energie zu, so wird dieses teilweise ionisiert. Der entstehende Zustand, der sog. vierte Aggregatzustand, bestimmt bis zu 99% der uns umgebenden Materie [90]. Natürlich und sichtbar kommt dieser Zustand z.B. in Gewitterblitzen und in der Aurora borealis und australis vor. Anhand des Ionisationsgrades und der Temperatur lassen sich verschiedene Plasmen unterscheiden. Während die natürlichen Vorkommen häufig hohe Temperaturen aufweisen [91], wurden Mitte der 1990iger Jahre sog. kalte Plasmen für verschiedene technische Anwendungen entwickelt. Da diese aufgrund der niedrigen Temperatur von unter 40 °C gewebeverträglich sind (tissue tolerable plasma), eignen sie sich auch für den medizinischen Einsatz.

Die Erzeugung von CP ist auf verschiedene Weise möglich. So können neben der Ionisierung des normalen atmosphärischen Luftgemisches auch zusätzliche Gasquellen, wie bspw. Helium oder Argon, zum Einsatz kommen. Die gängigsten Varianten der Plasmaerzeugung beruhen zum einen auf der Dielectric Barrier Discharge (DBD) bzw. Floating-Electric DBD (FE-DBD) und dem

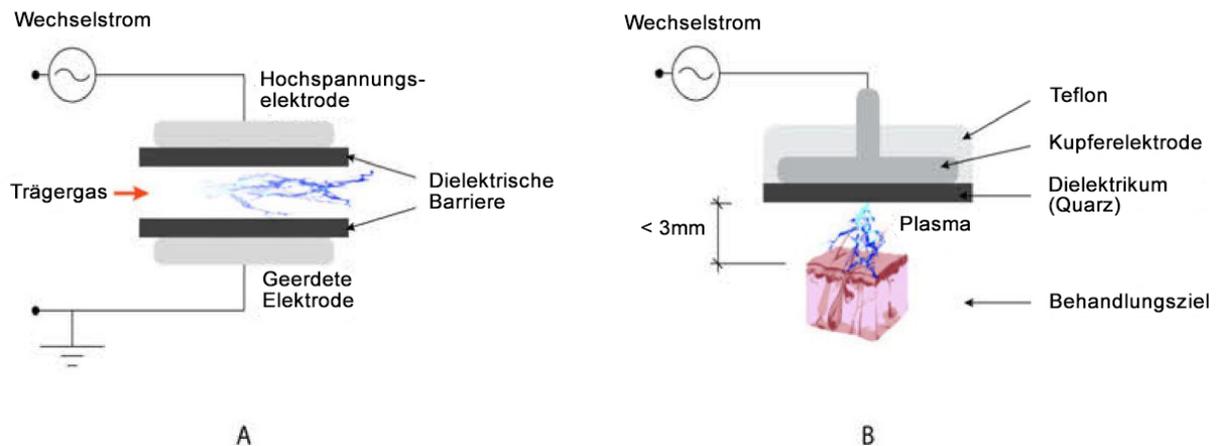


Abbildung 3 Schematische Darstellung einer DBD (A) und einer FE-DBD (B) modifiziert nach [92].
Creative Commons License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) [92]. Bei der DBD wird Luft ohne zusätzliche Gasquelle zwischen zwei Elektroden ionisiert. Im Falle der FE-DBD handelt es sich dabei zum einen um eine isolierte Hochspannungselektrode und zum anderen um eine aktive, nicht geerdete Elektrode, z.B. die Hautoberfläche. Im Gegensatz dazu wird beim APPJ ein Gas oder Gasgemisch mit hoher Fließrate zwischen zwei koaxiale Elektroden geleitet.

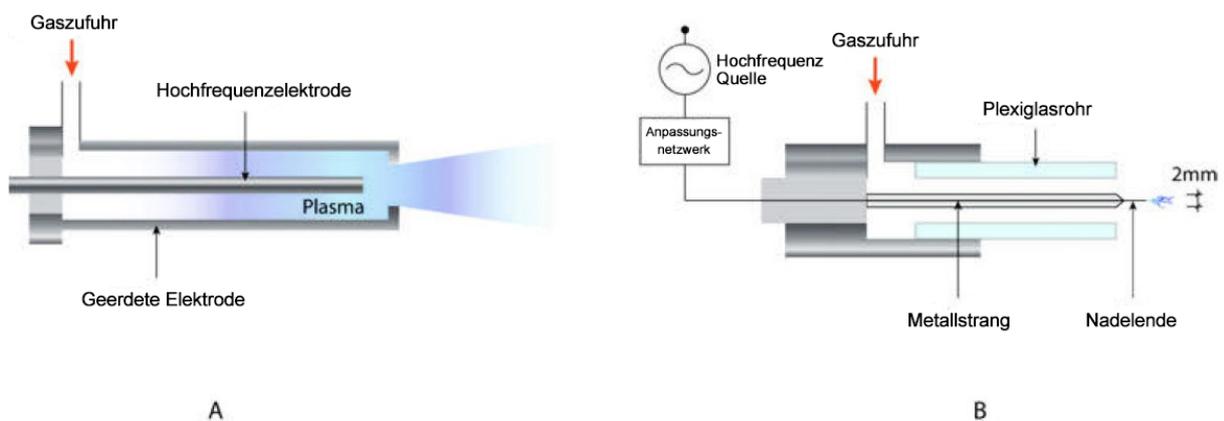


Abbildung 4 Schematische Darstellung eines APPJ nach Schütze *et al.* 1992 (A) und einer Plasma-Nadel nach Stoffels *et al.* 2004 (B) modifiziert nach [92]. Creative Commons License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Während die äußere Elektrode geerdet ist, wird an die innere eine Hochfrequenzspannung angelegt, wodurch es zur Entladung und Ionisation des Gases kommt. Die biologische Wirksamkeit beruht dabei auf der Zusammensetzung des Plasmas aus geladenen Teilchen, UV- und elektromagnetischer Strahlung sowie reaktiver Spezies [93].

Neben der Biokompatibilität liegen weitere Vorteile in der wundheilenden und desinfizierenden Wirkung [94] und der Verbesserung der Mikrozirkulation [95]. Aufgrund dieser Eigenschaften sind die bisherigen Anwendungsbereiche hauptsächlich in der Dermatologie [96] und Onkologie [97], zunehmend jedoch auch in der MKG-Chirurgie [98] und auch Zahnmedizin [99] zu finden. Von großem Interesse für den Einsatz bei der endodontischen Behandlung ist die Wirkung auf bakterielle Biofilme [100] und besonders auf den Problemkeim *E. faecalis* [101].

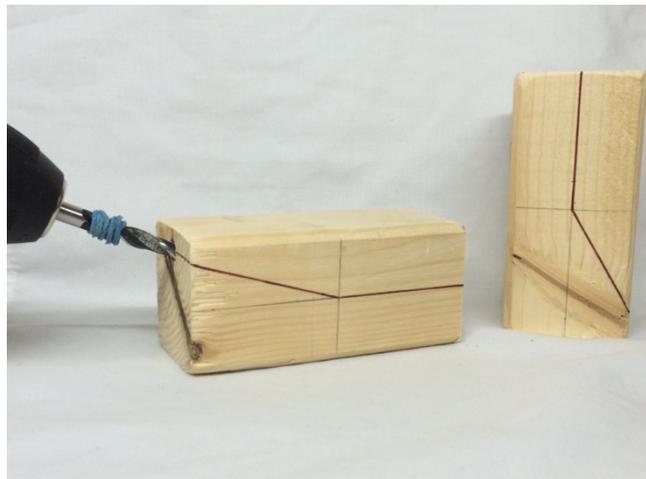
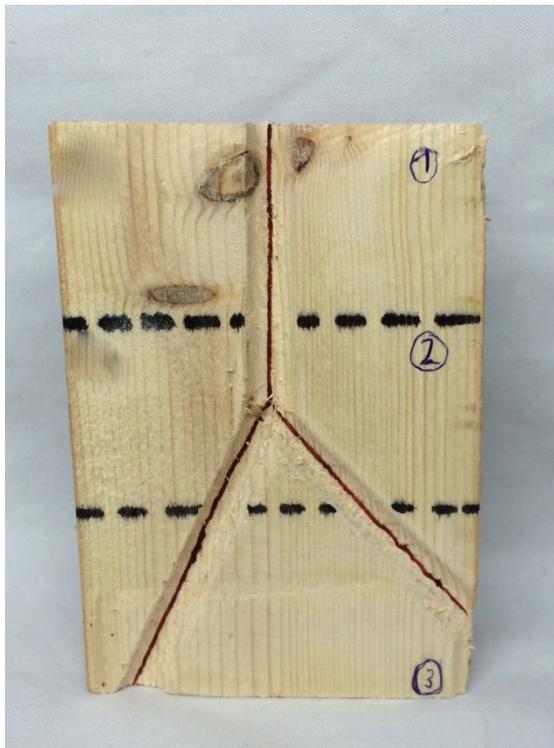
2.6 Zielstellung

Die bakterizide Wirkung von CP in den verschiedenen horizontalen Schichten von humanem Dentin konnte in Versuchen bereits nachgewiesen werden [5]. Belegt ist ebenfalls, dass sich ein Plasmastrahl entlang eines Wurzelkanals ausbreitet und so auch kleinste Kavitäten erreicht [102]. Da am Apex aufgrund von Ramifikationen und Isthmen die chemo-mechanische Aufbereitung erschwert ist, bietet CP gegenüber der chemo-mechanischen Aufbereitung einen vielversprechenden Therapieansatz. Die bisherigen *in-vitro*-Versuche an gekrümmten Wurzelkanälen wurden jedoch an Kunststoffmodellen durchgeführt [102-104]. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, verschiedene Plasmaquellen auf ihren antibakteriellen Effekt im Vergleich zu den bisher etablierten Spülagentien zu testen. Um jedoch die physiologischen Gegebenheiten dabei naturgetreu abbilden zu können, war die Herstellung eines Modells, bestehend aus humanem Zahnmaterial mit einer standardisierten Krümmung, ein weiteres Ziel der durchgeführten Versuche.

3 Methodik

3.1 Vorüberlegungen

Die erste zu lösende Aufgabe für den Versuchsaufbau war die Herstellung eines Modells des humanen Wurzelkanals mit standardisierter Krümmung. Vorüberlegungen gingen dahin, in ausreichend großen Dentinblöcken jeweils vom koronalen und vom apikalen Ende her mittels standardisierter Vorrichtung Bohrungen vorzunehmen, die sich in einem Punkt treffen würden. Zum einen wäre jedoch das weitere Prozedere (die Trennung in koronalen und apikalen Teil) unpraktisch gewesen. Zum anderen hätte zumindest die apikale Bohrung die Dentintubuli schräg angeschnitten. Der hieraus resultierende größere Querschnitt hätte den physiologischen Bedingungen nicht genau entsprochen und die Ergebnisse verfälschen können. Des Weiteren hätten Dentinblöcke einer entsprechenden Größe kaum human sein können.



*Abbildung 5 Validierung der Vorüberlegungen
mittels Herstellung von
Probenblöcken aus Holz*

3.2 Technische Grundlagen der verwendeten Modelle

Weiterführende Überlegungen führten zur Verwendung eines Gehrungsschnitts, mit dem die standardisierte Krümmung erstellt werden konnte. Eine Gehrung bezeichnet eine einfache Eckverbindung von zwei aneinander liegenden, abgewinkelten Teilen [105]. Die zusammenzufügenden Teile werden dabei meist in einem Winkel angeschnitten, der der Winkelhalbierenden des später resultierenden Winkels entspricht. Z.B. müssen zur Schaffung einer 90°-Eckverbindung Werkteile mit einer Gehrung von je 45° hergestellt und zusammengefügt werden. Voraussetzung hierfür sind jedoch ein präziser Winkelschnitt und eine gerade Schnittfläche. Dies birgt bei der Anwendung auf einen Wurzelkanal verschiedene Hürden. So ist bspw. die äußere Form von Zähnen sehr different und die Zahnachse entspricht nicht immer dem inneren Verlauf des Wurzelkanals. Dies erschwert den Gehrungsschnitt, der immer im gleichen Winkel erfolgen muss. Den Wurzelkanal parallel zu mindestens zwei Außenflächen – einer Auflageseite und einer Schnittseite – auszurichten, war daher eine weitere Voraussetzung für die technische Umsetzung.

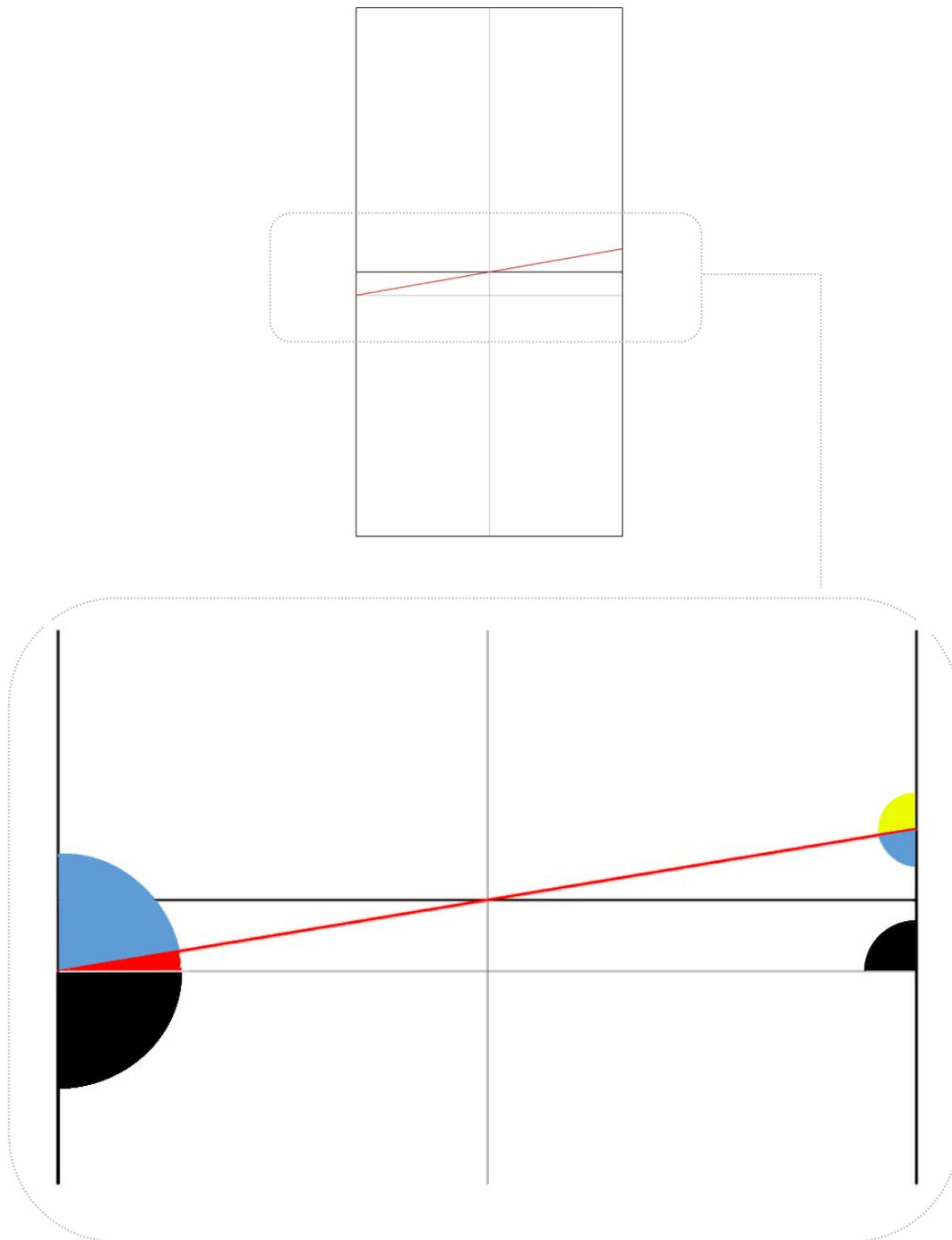
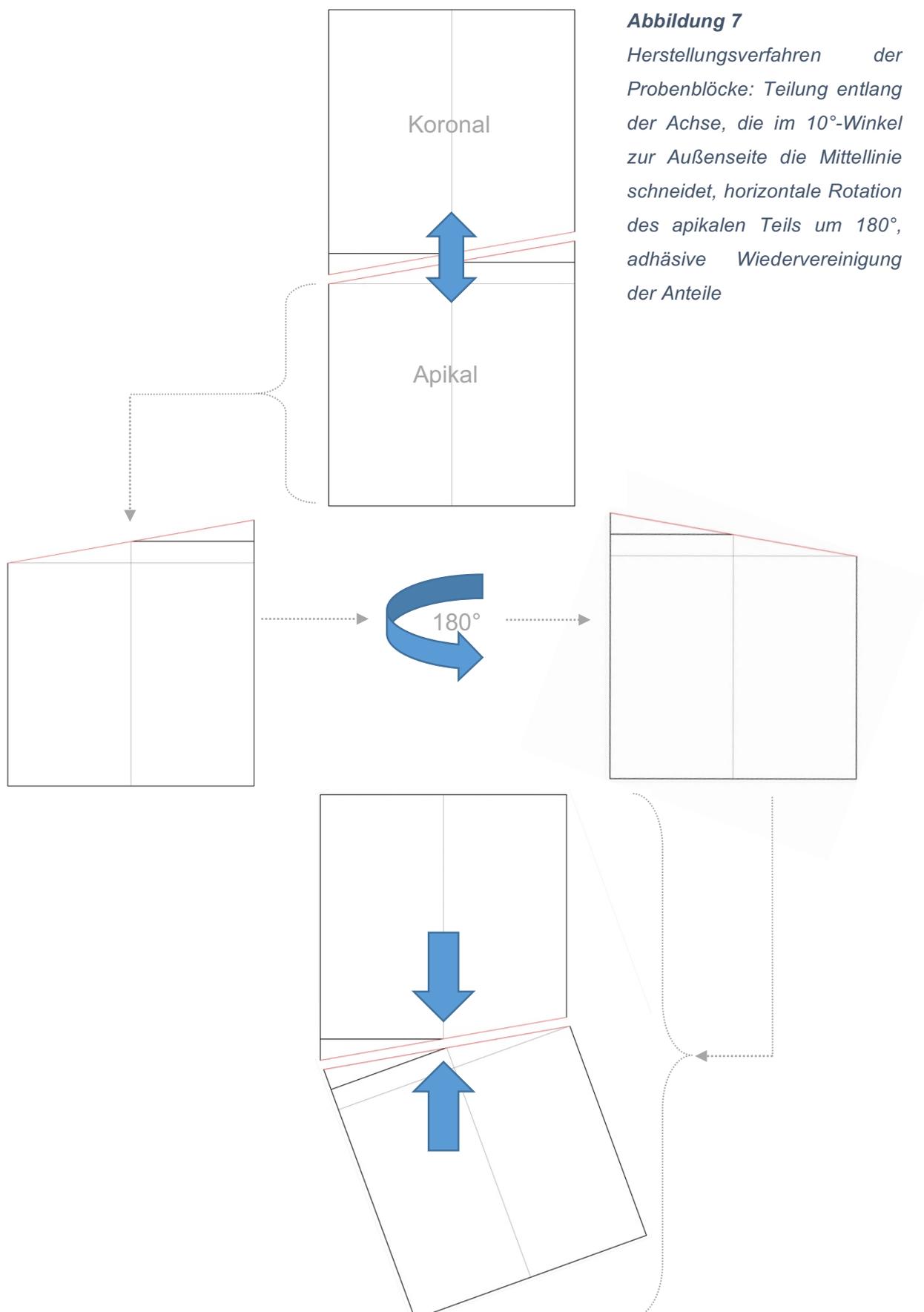


Abbildung 6 Geometrische Prinzipien des Gehrungsschnitts: Der Winkel an der geraden Seite des Probenblocks (blau + rot + schwarz) sei 180° . Der schwarze Winkel bildet zum Querschnitt des Blockes (kurze graue Linie) einen rechten Winkel von 90° . Der Schnittwinkel (rot) beträgt 10° . Somit ergeben sich für den blauen Winkel 80° , für den gelben Winkel 100° .

**Abbildung 7**

Herstellungsverfahren der Probenblöcke: Teilung entlang der Achse, die im 10°-Winkel zur Außenseite die Mittellinie schneidet, horizontale Rotation des apikalen Teils um 180°, adhäsive Wiedervereinigung der Anteile

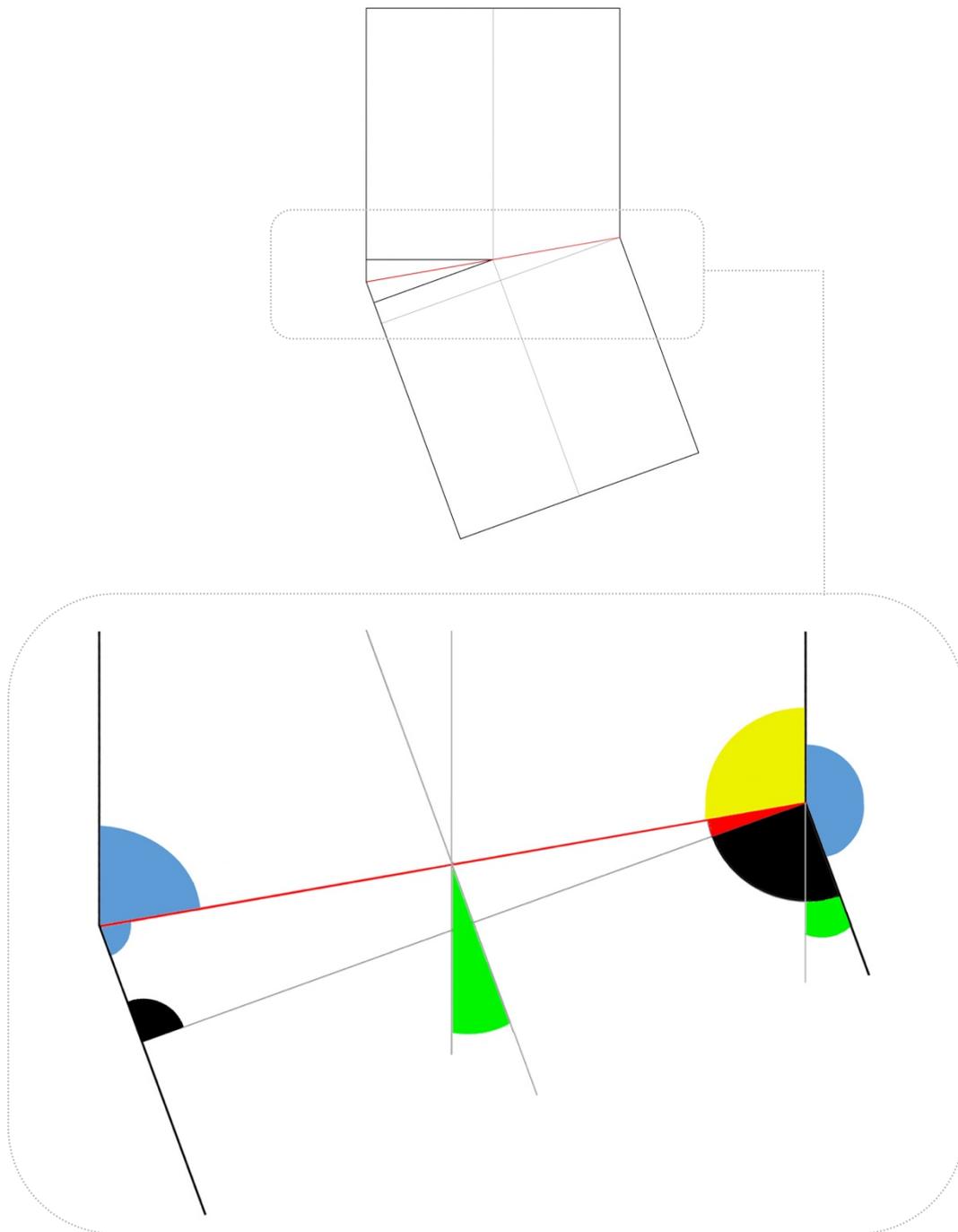


Abbildung 8 Winkelbetrachtung des fertigen Probenblocks: Durch Addition ergeben sich innenseitig (gelb + rot + schwarz) 200° und außenseitig (blau + blau) 160° . Abweichend von der gedachten Zahnllängsachse ergibt sich der grüne Winkel mit 20° . Dieser entspricht der Wurzelkanalkrümmung.

3.3 Zahnauswahl

Als Probenzähne wurden mittlere obere Inzisivi gewählt. Diese haben fast ausnahmslos eine einfache Wurzelkanalanatomie (Vertucci Typ I, [9]), einen geraden Wurzelkanalverlauf und einen leicht dreieckigen (im zervikalen Bereich) bis runden Wurzelkanalquerschnitt [19]. Die Zähne wurden nach der Extraktion in 0,5%igem Chloramin T (*Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland*) gelagert. Weitere Kriterien bei der Auswahl waren: Zahnlänge von mindestens 20 mm, äußerlich gerade Zahnachse, keine Perforationen, Wurzelkaries oder Wurzelkanalfüllungen (soweit sichtbar). Nach diesem Schema wurden zunächst 50 Zähne ausgewählt.



Abbildung 9 Auswahl der Zähne zur Modellherstellung nach den oben genannten Kriterien (n=50)

3.4 Vorbereitung der Zähne

Die Zähne wurden zunächst mit Küretten (*Gracey, Deppeler SA, Schweiz*) von außen gereinigt. Anschließend wurden mit einer diamantierten 0,2-mm-Bandsäge (*EXAKT Trennschleifsystem 300 CL, Fa. EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland*) 1,5 mm vom anatomischen Apex abgetrennt und die Zähne dekapitiert, sodass die Probenzähne eine Länge von rund 17 mm aufwiesen. Die Wurzelkanäle wurden mit einem Peeso-Reamer No. 1 / ISO 70 (*Peeso-Erweiterer, VDW GmbH, München, Deutschland*) auf einen Durchmesser von 0,7 mm aufbereitet, um einen einheitlichen Querschnitt in der Gesamtlänge zu erhalten. Die so präparierten Probenzähne wurden zur besseren Vergleichbarkeit und Kontrolle mittels Röntgenaufnahme (0,06s, 7mA, 60kV, Abstand 6 cm; *Heliodent DS, Sirona, Bensheim, Deutschland*) überprüft. Für die Vorversuche wurden aus der Gesamtheit die 10 Zähne ausgewählt, die den oben genannten Kriterien am wenigsten entsprachen.

3.5 Herstellung der Proben für den Vorversuch

Für erste Testversuche erfolgte die Herstellung der Probenblöcke mithilfe einer selbst hergestellten Gussform zur Einbettung des Zahnes. Als Form sollte eine UV-Küvette (*UV-Küvette halbmikro, BRAND GMBH + CO KG, Wertheim, Deutschland*) dienen, deren quadratischer Grundriss als Außenform am geeignetsten schien. Die Schwierigkeit bestand darin, den Wurzelkanal zentriert in der UV-Küvette verlaufen zu lassen. Der Boden der UV-Küvette wurde zunächst abgetrennt und die Form auf 20 mm Länge gekürzt (*EXAKT Trennschleifsystem 300 CL, Fa. EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland*). Die quadratischen Deckseiten dieses Quaders wurden in Plattenwachs (*S-U Plattenwachs, rosa, Schuler-Dental, Ulm, Deutschland*) gepresst. Durch Einzeichnen der Diagonalen im Wachs wurde der Schnittpunkt, die Position des Wurzelkanals, ermittelt. Die UV-Küvette wurde, mit Ausnahme einer Seite, mit Wachs überzogen. Am oberen Ende wurde eine kleine Öffnung zum Befüllen freigelegt. Die gesamte Konstruktion wurde in A-Silikon (*Honigum-Light, DMG, Hamburg, Deutschland*) eingebettet. Nach Ausbrühen des Wachses mit ca. 80°C heißem Wasser wurde der Hohlraum mit kaltpolymerisierendem Kunststoff (*Technovit 4071, Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland*) aufgefüllt. Nach Abbinden des Kunststoffs wurde zunächst das A-Silikon, anschließend die UV-Küvette aus der Kunststoffform entfernt. Zum Einbetten der Zähne wurde nun ein vorbereiteter Zahn in die UV-Küvette gegeben, diese in die Gussform geschoben und der Zahn anschließend mit einer Endo-Spülkanüle Größe ISO 35 (*VMK-ENDONeedle nach Dr. J. Buquet, Vedefar, Mechelen, Belgien*) fixiert. Dadurch wurde gleichzeitig der Wurzelkanal in der Gussform zentriert. Der Hohlraum zwischen Küvetten-Innenwand und Zahnoberfläche wurde mit kaltpolymerisierendem Kunststoff aufgefüllt. Nach Aushärten des Kunststoffs wurde die UV-Küvette der Form entnommen und der Zahn aus der UV-

Küvette herausgelöst. Der Probenblock wurde mit der 0,2-mm-Bandsäge im Winkel von 10° zerteilt. Mittels Säure-Ätz-Technik, wie in Kapitel 3.6 beschrieben, wurden koronaler und apikaler Teil wieder zusammengefügt.

Die Gussform zur Herstellung der Probenzähne für den Vorversuch war fraktur anfällig. Dies lag u.a. daran, dass der kaltpolymerisierende Kunststoff, aus dem die Gussform bestand, auch für den Probenblock selbst verwendet worden war. Aufgrund einer fehlenden Isolationsschicht verband sich die Gussform mit dem Probenblock. Eine solche Schicht herzustellen, war aufgrund der Modellgröße technisch nicht umsetzbar. Die Gussform musste darum für fast jeden Zahn neu hergestellt werden. Varianzen im Ergebnis der Probenblöcke waren die Folge. Zudem bedeutete diese Methode einen hohen Zeit- und Materialaufwand bei der Herstellung.



Abbildung 10 Zur Einbettung vorbereiteter Probenzahn in UV-Küvette zentriert

3.6 Herstellung der Proben für den Hauptversuch

Nach Evaluierung des Herstellungsprozesses und Auswertung der Vorversuche wurde die Methodik zum Herstellen der Probenzähne leicht verändert, um eine größere Anzahl Proben mit geringerer Abweichung herstellen zu können. Es erwies sich, dass die Zentrierung des Wurzelkanals zu mindestens zwei (statt zu allen vier) Außenseiten der Probenblöcke ausreichte. Dafür wurde ein Splint aus zwei Spülkanülen Größe ISO 60 (*Anel Stumpfe Kanüle, Dispomed Witt oHG, Gelnhausen, Deutschland*) und einer Endo-Spülkanüle Größe ISO 35 hergestellt, in den Wurzelkanal eingeführt und die Austrittsstellen mit Plattenwachs versiegelt. Zum Einbetten wurde eine Box aus Kunststoff-Objektträgern (*Plexiglas-Objektträger (25x75x2 mm), Fa.dia-plus, Oststeinbek, Deutschland*) und UV-Küvetten hergestellt. Die Innenseiten wurden mit Parafilm (*Parafilm® M Verschlussfolie, BRAND GMBH + CO KG, Wertheim, Deutschland*) isoliert, um eine Wiederverwendung zu ermöglichen. Der mit dem Metallsplint vorbereitete Zahn wurde in der Einbettvorrichtung fixiert und mit kaltpolymerisierendem Kunststoff eingebettet. So wurde eine bakteriendichte Versiegelung der gesamten Außenfläche des Zahnes sichergestellt.

Unter Verwendung von Kunststoff-Objektträgern und gegossenen Kunststoffblöcken aus kaltpolymerisierendem Kunststoff wurde im Anschluss eine Schleifvorrichtung hergestellt, mit der die Außenseiten des Probenblockes parallelisiert werden konnten. Dazu wurden die Enden des Metallsplintes auf den Kunststoffblöckchen abgestützt und eine Seite des Probenblockes am Objektträger mit doppelseitigem Klebeband (*tesa SE, Norderstedt, Deutschland*) befestigt. Aus Silikon (*silaplast FUTUR, Detax GmbH & Co. KG, Ettlingen, Deutschland*) wurde ein vertikaler Stopper für die Tellerschleifmaschine (*EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS, Fa. EXAKT Vertriebs*

GmbH, Norderstedt, Deutschland) hergestellt. Dieser sorgte dafür, dass der Abtrag bei jedem Schleifvorgang identisch war. Durch Unterdruck wurde die Schleifvorrichtung samt Probenblock in der Schleifmaschine fixiert. Je zwei gegenüberliegende Flächen wurden so geschliffen, dass die Flächen parallel und der Abstand dieser beiden Flächen zum Wurzelkanal identisch waren.

Das koronale und das apikale Ende der Probenblöcke wurden im Anschluss mit einer Präzisionskreissäge (*IsoMet™ 1000 Precision Saw, BUEHLER, Lake Bluff, Illinois, USA*) mit diamantiertem Sägeblatt (*IsoMet™ Diamond Wafering Blades, BUEHLER, a division of Illinois Tool Works Inc., Lake Bluff, Illinois, USA*) abgetrennt. Das Resultat waren Modellblöcke mit einer Gesamtlänge von 16 mm. Ein Probenblock wurde mittig in einem Winkel von 10° zur Querachse mit der Präzisionskreissäge in einen koronalen und einen apikalen Teil zerteilt. Dieser Block diente als Sägeschablone für alle weiteren Proben. So sollte sichergestellt werden, dass alle Proben eine kongruente Wurzelkrümmung aufwiesen.

Nach horizontaler Rotation eines der beiden Teile um 180° ergab sich eine Wurzelkanalkrümmung von 20°. Dies entspricht einer mäßigen Krümmung nach *Schneider* [12]. Zum erneuten Zusammenfügen der Proben wurde nach 10-sekündiger Dentinätzung mit Phosphorsäure-Ätzel (*ortho-Phosphorsäure 37 %, Orbis Dental Handelsgesellschaft mbH, Münster, Deutschland*), anschließender Wasserspülung und Drucklufttrocknung, Universaladhäsiv (*Scotchbond Universal DCA L-Pop-Blister, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland*) angewendet. Dazu wurden die beiden Teile auf ein Gummiband (*HYGENIC® Wedjets® Non-Latex Befestigungsschnur Dick - blau, Coltène/Whaledent GmbH + CO. KG, Langenau, Deutschland*) gefädelt, um zu verhindern, dass das Adhäsiv vom Fügeseit in den Wurzelkanal dringen und so die Dentintubuli verschließen würde. Es erfolgte die allseitige Lichtpolymerisation (1000mW/cm²; *VALO® Polymerisationsleuchte, Ultradent Products Inc., South*

Jordan, Utah, USA) für insgesamt 40 Sekunden. Die entstandenen Proben wurden zur Kontrolle mit den oben bereits angegebenen Parametern erneut radiologisch überprüft. Die Vermessung der Winkel zur Kontrolle erfolgte digital (*Sidexis, Dentsply Sirona, Bensheim, Deutschland*). Um ein Austrocknen der endodontischen Strukturen zu verhindern, wurden die Proben in destilliertem Wasser (Aqua dest.; „*Ampuwa*®“ Spüllösung, *Steriles pyrogenfreies Aqua ad iniectabilia, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland*) gelagert.



Abbildung 11 In der Schleifvorrichtung fixierter Probenblock

3.7. Bakterienkultivierung

Gefrorene *E. faecalis*-Stämme (ATCC 29212, DSMZ, Braunschweig, Deutschland) wurden zur Kultivierung auf Columbia Blutagar Platten (Sifin, Berlin, Deutschland) ausgestrichen. Die Platten wurden im Anaerobiertopf (Oxoid 2.5 Litre AnaeroJar™, Oxoid Ltd., Hampshire, GB) unter Zugabe von Anaerogen-Beuteln (Thermo Scientific™ Oxoid™ AnaeroGen™ 2.5L, Oxoid Ltd, Hants, GB) bei 37 °C im Brutschrank (Venticell 404, MMM Medcenter GmbH, Planegg, Deutschland) kultiviert. Insgesamt 2 Liter BHI (Sifin, Berlin, Deutschland) wurden als Nährmedium angesetzt und sterilisiert (121 °C, 15 Minuten; Tuttnauer Laborautoklav 3870 ELV, Tuttnauer Europe B.V., Breda, Niederlande). Einige der *E. faecalis*-Kolonien wurden entnommen und in 200 ml BHI gegeben. Diese wurde anschließend für 24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Um eine standardisierte Bakterienkolonisierung zu gewährleisten, wurde die optische Dichte für diese sog. Bakterienbouillon auf einen Startwert von 0,5 (entspricht 5×10^5 Zellen/ml) festgesetzt und photometrisch überprüft (600nm; Novaspec II Visible Spectrophotometer, GE Healthcare, Solingen, Germany).

3.8 Infektion der Probenblöcke und Inkubation

Bevor die Infektion mit der Bakterienbouillon erfolgte, wurden die Proben gereinigt. Der Vorgang diente zum einen der Beseitigung produktions- und aufbereitungsbedingter Verunreinigungen und zum anderen der Dekontamination. Die Probenblöcke wurden dazu im Ultraschallbad (*Bandelin Sonorex Super, BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland*) in unterschiedlichen Lösungen gereinigt: Zunächst für 4 Minuten in Aqua dest., anschließend für 3 mal 6 Minuten in 2%iger Chlorhexidindigluconatlösung (*Charité Apotheke, Berlin*). Es erfolgte die erneute Spülung mit Aqua dest. für 4 Minuten. Zur Beseitigung von anorganischem Material erfolgte eine 4-minütige Reinigung mit EDTA 17% (*CanalPro, Coltene, Magnum Dental AS, Aardla, Tartu/Estonia*). Abschließend wurden die Proben zunächst für 4 Minuten in 1%iger NaOCl-Lösung (*Hedinger, Stuttgart, Deutschland*) und zur Endreinigung erneut für 4 Minuten mit Aqua dest. behandelt. Die Probenblöcke wurden in einen mit Aqua dest. gefüllten Schraubbecher (*Schraubbecher 100 ml / PP, steril, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland*) gegeben und bei 121 °C für 15 Minuten sterilisiert. Die Infektion erfolgte unter sterilen Bedingungen (*Mikrobiologische Sicherheitskabine, Typ: ASW-UP IV-1270, Karl Bleyemehl Reinraumtechnik GmbH, Inden (Pier), Deutschland*). Die Proben wurden dazu jeweils einzeln dem Schraubbecher entnommen und in eine Petrischale (*Petrischale PS, Standard, steril, Greiner Bio-One International GmbH, Frickenhausen, Deutschland*) gestellt, deren Boden bereits mit der Bakterienbouillon gefüllt war. Mit Hilfe steriler Spritzen und Spülkanülen wurden die Kanäle mit genau 3 ml der infizierten BHI gespült. Zudem wurde ein Ultraschallansatz (*Irri S, VDW Endo Ultrasonic Tip, SATELEC®, Merignac Cedex, Frankreich*) zur Hälfte in den Kanal eingeführt und es erfolgte die PUI (*VDW.ultra, SATELEC®, Merignac Cedex, Frankreich*) für 5 Sekunden. Das Ziel war es, die

infizierte BHI und damit *E. faecalis* in die Dentintubuli zu spülen. Der Vorgang der Spülung und PUI wurde von beiden Seiten der Probe abwechselnd vom koronalen und vom apikalen Ende her jeweils dreimal durchgeführt. Je 5 Proben wurden anschließend in einen mit Bakterienbouillon gefüllten Becher gegeben. Diese wurden mit Parafilm versiegelt. Im Brutschrank wurden die Proben bei 37 °C zur Besiedelung der Wurzelkanäle aufbewahrt. Nach jeweils 24 Stunden wurden 25% der Bakterienbouillon entfernt und durch frische, nicht infizierte BHI ersetzt. Dies erfolgte über einen Zeitraum von 6 Tagen.

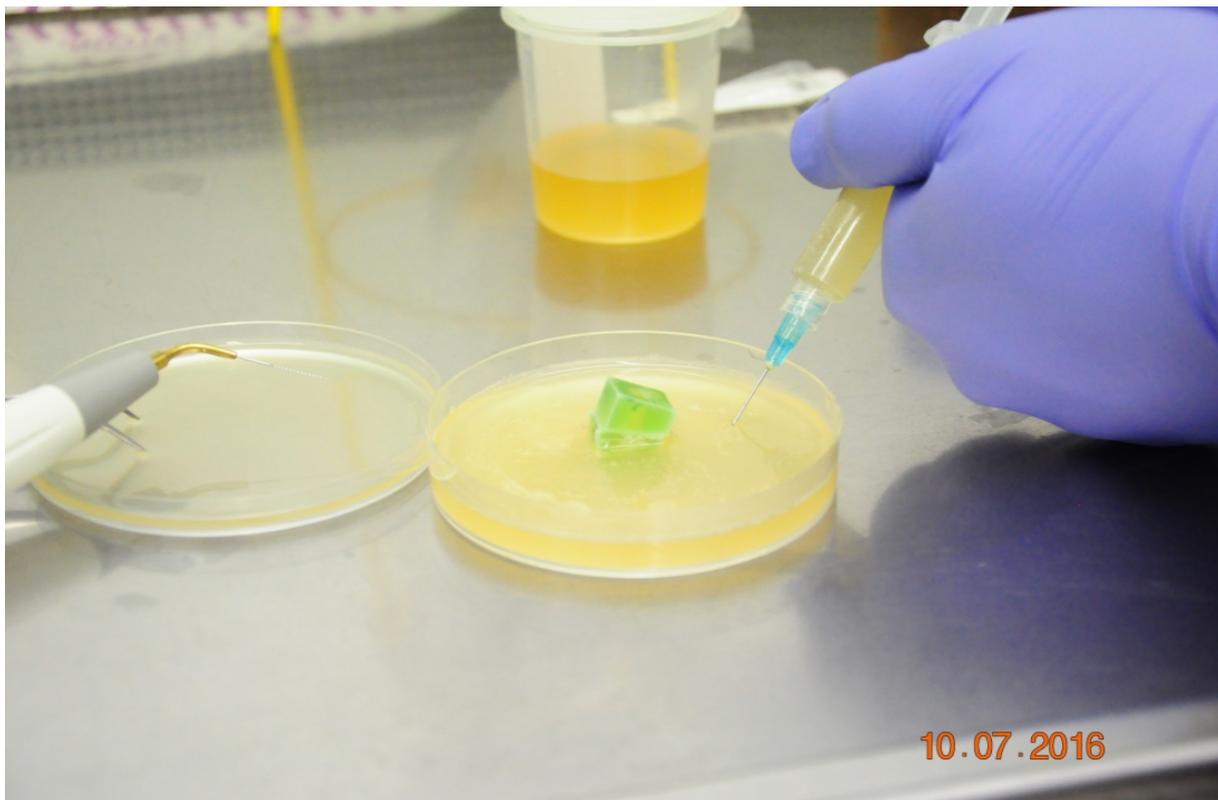


Abbildung 12 Infektion der Probenblöcke durch Injektion der infizierten BHI mit zusätzlicher PUI

3.9 Die Desinfektion

Die Proben wurden randomisiert in 5 Versuchsgruppen zu je 8 Proben eingeteilt. Die Desinfektion erfolgt ebenfalls unter sterilen Bedingungen.

Jeder einzelne Block wurde vor der jeweiligen Behandlung zunächst mit 5 ml steriler 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung (*NaCl 0,9%, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland*) über einen Zeitraum von 30 Sekunden von außen abgespült. Anschließend erfolgte mithilfe einer Endo-Spülkanüle der Größe ISO 35 auch die Spülung des Wurzelkanals mit 5 ml NaCl über einen Zeitraum von 30 Sekunden.

Die weitere Behandlung erfolgte entsprechend den 5 ausgewählten Desinfektionsmethoden.

3.9.1 Negativkontrolle

Für die NC wurde eine Endo-Spülkanüle der Größe ISO 35 in den Kanaleingang eingeführt und der Wurzelkanal über einen Zeitraum von 30 Sekunden mit insgesamt 5 ml NaCl gespült.

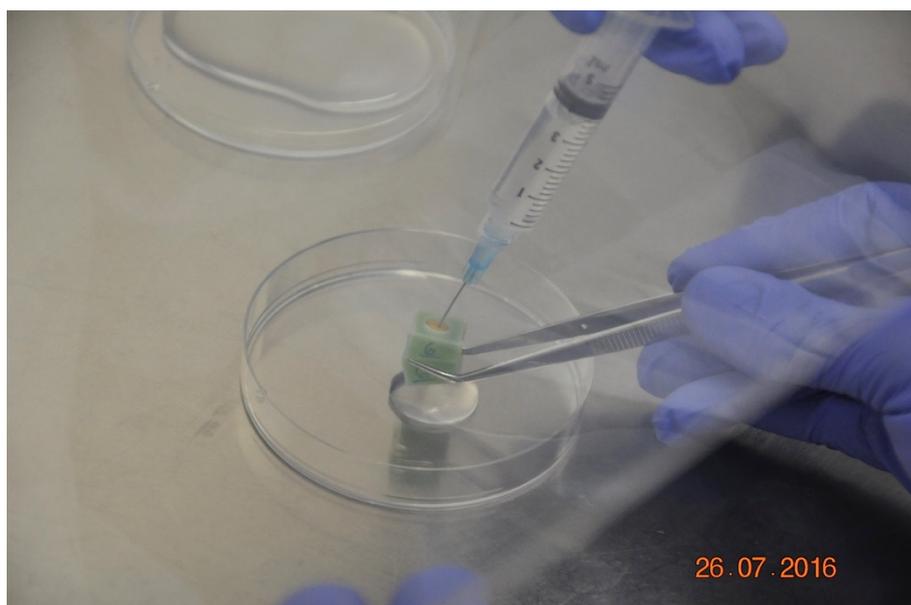


Abbildung 13 Versuchsgruppe NC

3.9.2 Natriumhypochlorit mit passiver Ultraschallaktivierung

Eine Endo-Spülkanüle der Größe ISO 35 wurde in den Kanaleingang eingebracht und der Wurzelkanal mit 2,5 ml 1%iger NaOCl-Lösung gespült. Der Block wurde anschließend mit dem apikalen Teil in die Petrischale gestellt. Eine Ultraschallfeile (*Irris S, VDW Endo Ultrasonic Tip, SATELEC®, Merignac Cedex, Frankreich*) wurde in voller Länge in den Kanal eingeführt. Es erfolgte die PUI für 30 Sekunden. Dabei wurde tropfenweise NaOCl auf den Wurzelkanaleingang gegeben. Das restliche NaOCl wurde durch den Kanal gespült. Insgesamt wurden 5 ml NaOCl verwendet.

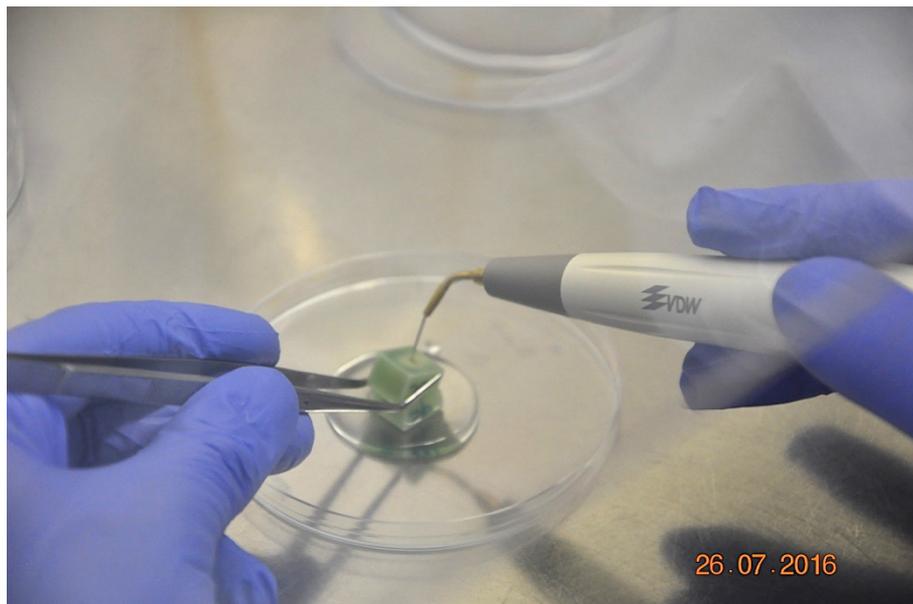


Abbildung 14 Versuchgruppe NaOCl + PUI

3.9.3 Photodynamische Therapie

Mit einer Applikator-Kanüle wurden ca. 0,05 ml Photosensibilisator (*HELBO®Blue Photosensitizer, bredent medical GmbH & Co.KG, Senden, Deutschland*) in den Wurzelkanal appliziert. Nach einer Einwirkzeit von 30 Sekunden wurde der Kanal mit 5 ml NaCl über einen Zeitraum von 30 Sekunden gespült, um überschüssigen Photosensibilisator zu entfernen. Der Lichtleiteraufsatz (*HELBO®3D Endo Probe, bredent medical GmbH & Co.KG, Senden, Deutschland*) wurde in voller Länge in den Kanal eingeführt. Es erfolgte die Laseraktivierung (*HELBO®TheraLite Laser, bredent medical GmbH & Co.KG, Senden, Deutschland*) für insgesamt 60 Sekunden.

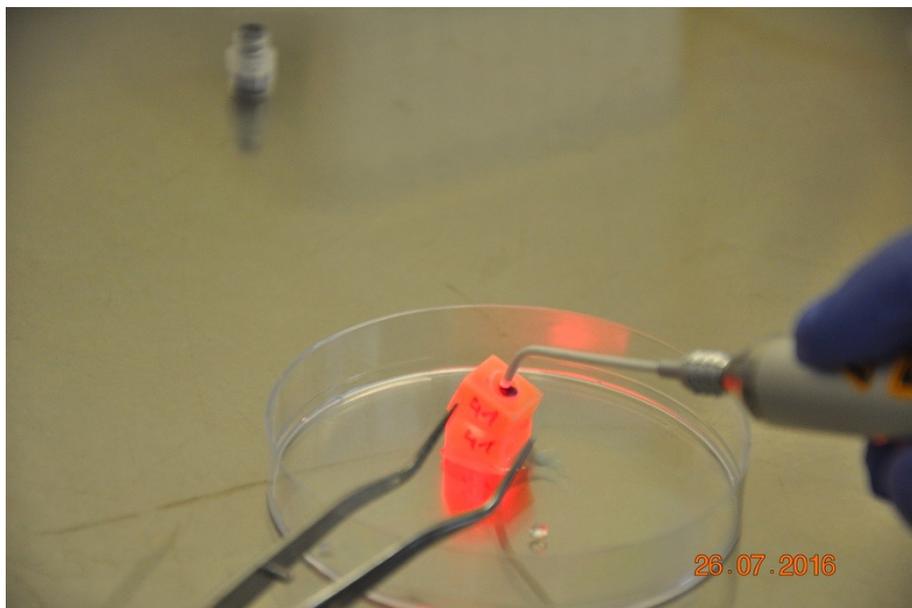


Abbildung 15 Versuchsgruppe PDT

3.9.4 Kaltes Plasma I

Der Plasmastrahl des APPJ-Geräts (*kINPen Med*®, *neoplas tools GmbH, Greifswald, Deutschland*) wurde für 60 Sekunden in einem Abstand von ca. 3 mm über den Kanaleingang gehalten. Der Argongas-Zustrom betrug 5,0 slm. Im Anschluss wurde der Kanal mit 5 ml NaCl 30 Sekunden gespült.

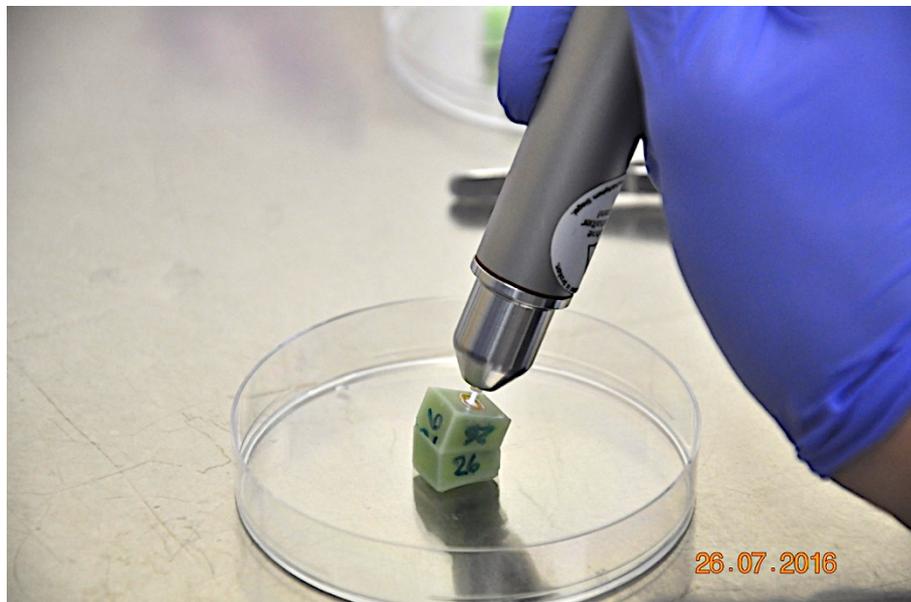


Abbildung 16 Versuchsgruppe CP I

3.9.5 Kaltes Plasma II

Unter leichten Lateralbewegungen wurde das FE-DBD-Gerät (*PlasmaDerm*®*FLEX9060*, *CINOGY GmbH, Duderstadt, Deutschland*) ca. 2 mm über den Kanaleingang gehalten und für 60 Sekunden aktiviert. Abschließend erfolgte die Spülung des Wurzelkanals mit 5 ml NaCl über 30 Sekunden.



Abbildung 17 Versuchsgruppe CP II

3.10 Erstellen der Verdünnungsreihe

Ein jeder Probenblock wurde im Anschluss an die Behandlung mit einer desinfizierten Schere entlang der adhäsiven Klebefläche wieder in einen koronalen und einen apikalen Teil getrennt. Mit einem Peeso-Reamer Größe 3 / ISO 110 und daran anknüpfend mit einem Peeso-Reamer Größe 5 / ISO 150 (*Peeso-Erweiterer, VDW GmbH, München, Deutschland*) wurde der Wurzelkanal bei 600 U/min (*Nobel Biocare™ OsseoSet™ 100, Nobel Biocare Services AG, Zürich, Schweiz*) erweitert. Die Dentinspäne wurden in sterilen Aluschalen (*Eagle Thermoplastics, Inc., Hodgenville, Kentucky, USA*) gesammelt. Alle Dentinspäne einer Probenhälfte wurden mit 1 ml steriler NaCl-Lösung in ein Mikroreaktionsgefäß (*Safe-Lock Tube, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland*) gegeben. Zudem wurden die Peeso-Reamer nach der Benutzung kurz in die NaCl-Lösung gehalten und rotiert, um so Debris von den Spanflächen des Bohrers zu spülen. Die 1-ml-Suspension wurde 10 Sekunden homogenisiert (*Vortex Genie 2™, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz*).

Im Anschluss wurde eine Verdünnungsreihe erstellt. Hierfür wurden der 1-ml-Suspension 100 µl entnommen. Diese wurden in ein neues Mikroreaktionsgefäß mit 900 µl NaCl-Lösung gegeben und erneut mit dem Vortex für 3 Sekunden gemischt. Dies entsprach der ersten Verdünnung von 10^{-1} . Dieser Vorgang wurde 4 Mal wiederholt bis zu einer Verdünnung von 10^{-5} . Die Verdünnungsstufen wurden gewählt, weil hier laut Vorversuch Werte von 20 bis 300 CFU pro Agarplatte zu erwarten waren. Den Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} wurden je 100 µl entnommen, diese auf jeweils eine Columbia Agar Platte gegeben und verstrichen. Die Platten wurden in Anaerobiertöpfen gelagert. Um streng anaerobe Bedingungen zu garantieren, erfolgte die Zugabe von Anaerogen-Beuteln. Nach 48-stündiger Inkubation bei 37 °C im Brutschrank erfolgte die Erfassung der CFU.

3.11 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Mittels REM (*CamScan Maxim 2040S, CamScan Electron Optics, Cambridgeshire, GB*) wurden randomisiert ausgesuchte Modelle aus jeder Versuchsgruppe deskriptiv strukturell untersucht. Hierfür wurden je Versuchsgruppe zwei Probenblöcke mit der diamantierten 0,2-mm-Bandsäge mittig vertikal zerteilt. Im Vakuum und mit einer Beschleunigungsspannung von 15 kV wurden die Oberflächen der Wurzelkanalinnenseiten abgetastet. Es wurde mit bis zu 3500-facher Vergrößerung gearbeitet.



Abbildung 18 Vertikalschnitt durch einen Probenblock, Probennummer 5, Versuchsgruppe NaOCl + PUI

4 Ergebnisse und Auswertung

4.1 Wurzelkanalkrümmung

Die Wurzelkanalmodelle wurden nach der Fertigstellung radiologisch überprüft. Um die Winkel zu bestimmen, wurden die Proben digital vermessen. Zur Errechnung der Wurzelkanalkrümmung musste der digital bestimmte Winkel von der Zahnlängsachse (180°) subtrahiert werden. Der mittlere Krümmungswinkel ergab für alle Wurzelkanalmodelle unabhängig von der Versuchsgruppe $22,87^\circ$.

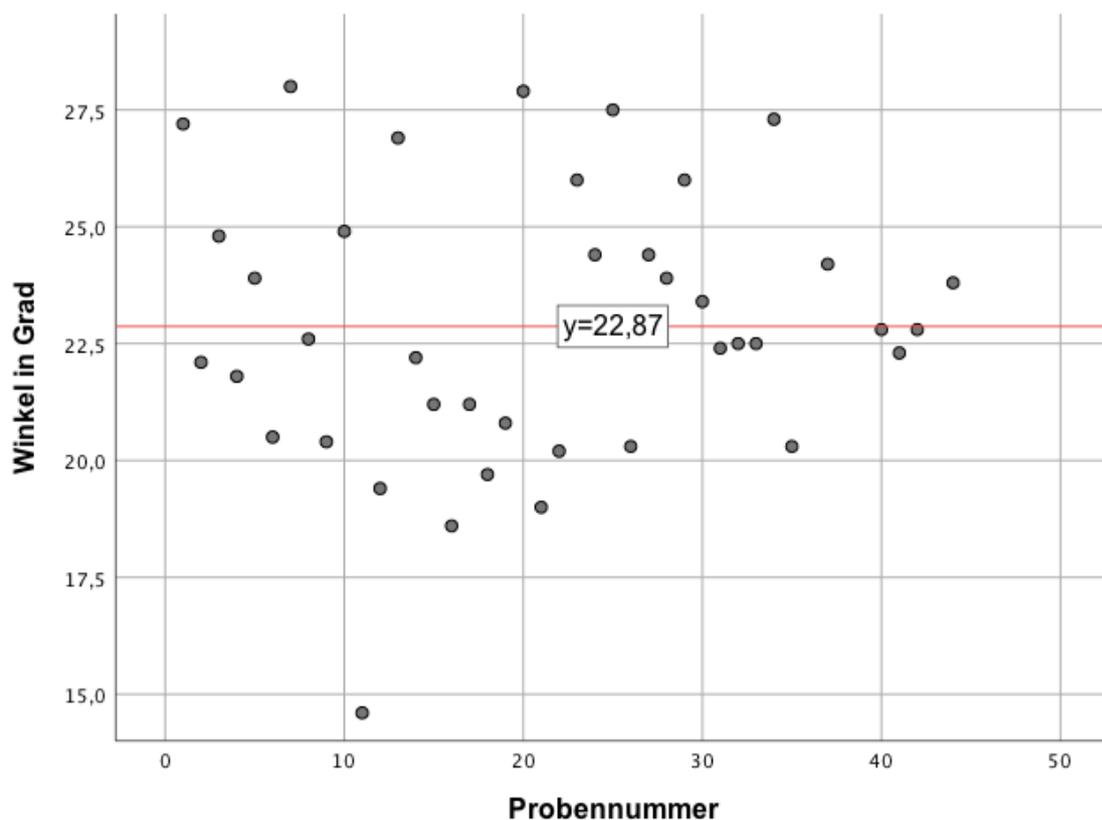


Abbildung 19 Digital vermessene und anschließend mathematisch berechnete Wurzelkanalkrümmung sortiert nach Probennummer (n=40); Arithmetisches Mittel aller Wurzelkanalkrümmungen $22,87^\circ$

Der Median der Wurzelkanalkrümmung aller Modellblöcke lag mit $22,55^\circ$ nur $0,32^\circ$ unterhalb des arithmetischen Mittels von $22,87^\circ$. Als Minimum wurde $14,6^\circ$ und als Maximum 28° Krümmung gemessen. Somit beträgt die Spannweite der Krümmungswinkel $13,4^\circ$. Die Standardabweichung liegt bei $2,92^\circ$, die Varianz beträgt $8,56^\circ$. Ein Ausreißer wurde bei $14,6^\circ$ Krümmung erfasst. Die Werte der Wurzelkanalkrümmung sind normalverteilt (Shapiro-Wilk-Test, $p = 0,357$).

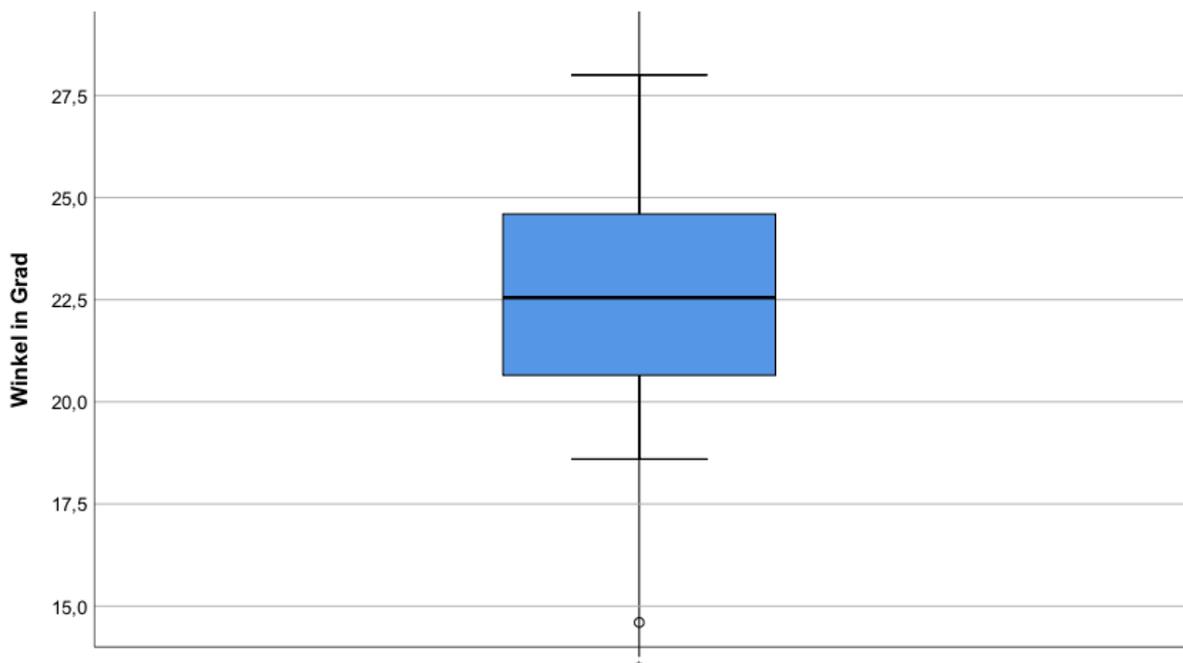


Abbildung 20 Krümmungswinkel in Grad (n=40); Spannweite $13,3^\circ$, Minimum $14,6^\circ$, Maximum $27,9^\circ$

Da die Wurzelkanalblöcke randomisiert zugeteilt wurden, ergaben sich in den jeweiligen Versuchsgruppen variierende Wurzelkanalkrümmungen.

Die Abbildungen 21 bis 25 zeigen die fertig vermessen Probenblöcke.

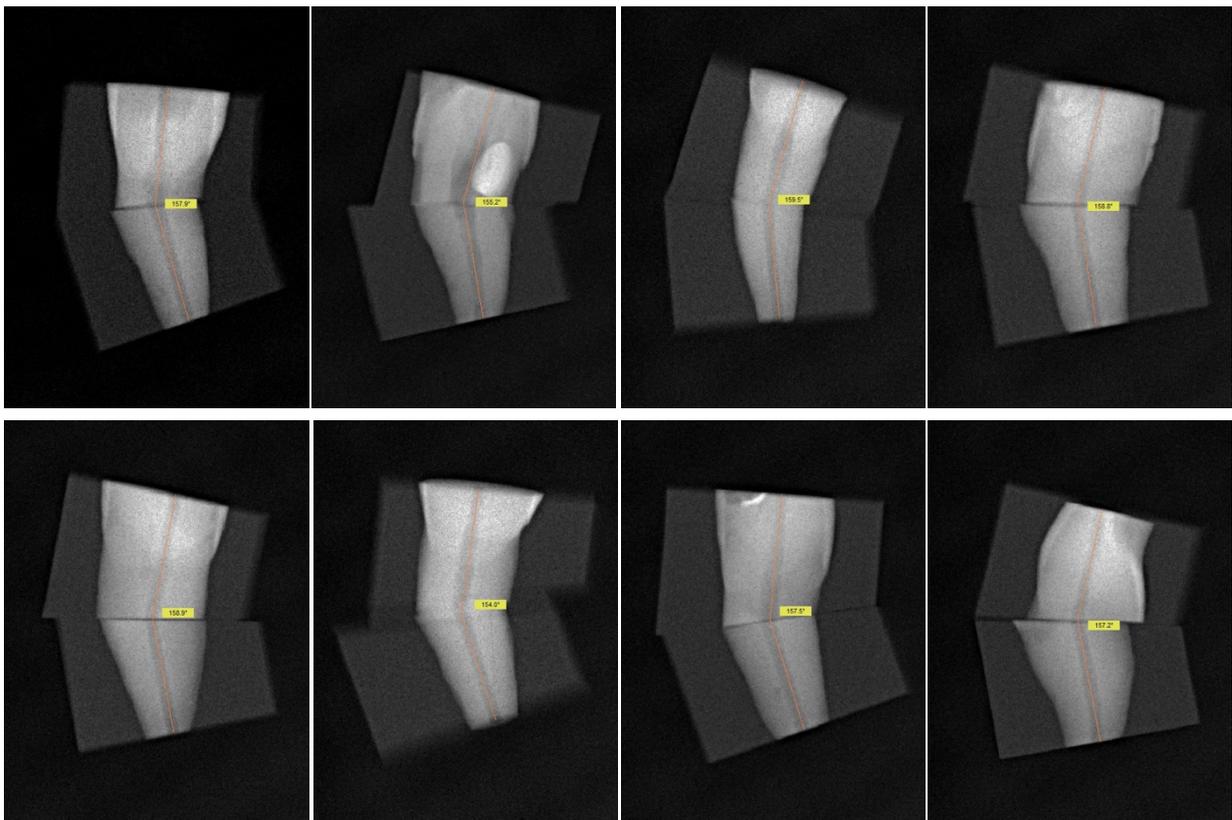


Abbildung 21 Versuchsgruppe NC: mediane Wurzelkanalkrümmung: 22,3°, min. Winkel 20,5°, max. Winkel 26° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

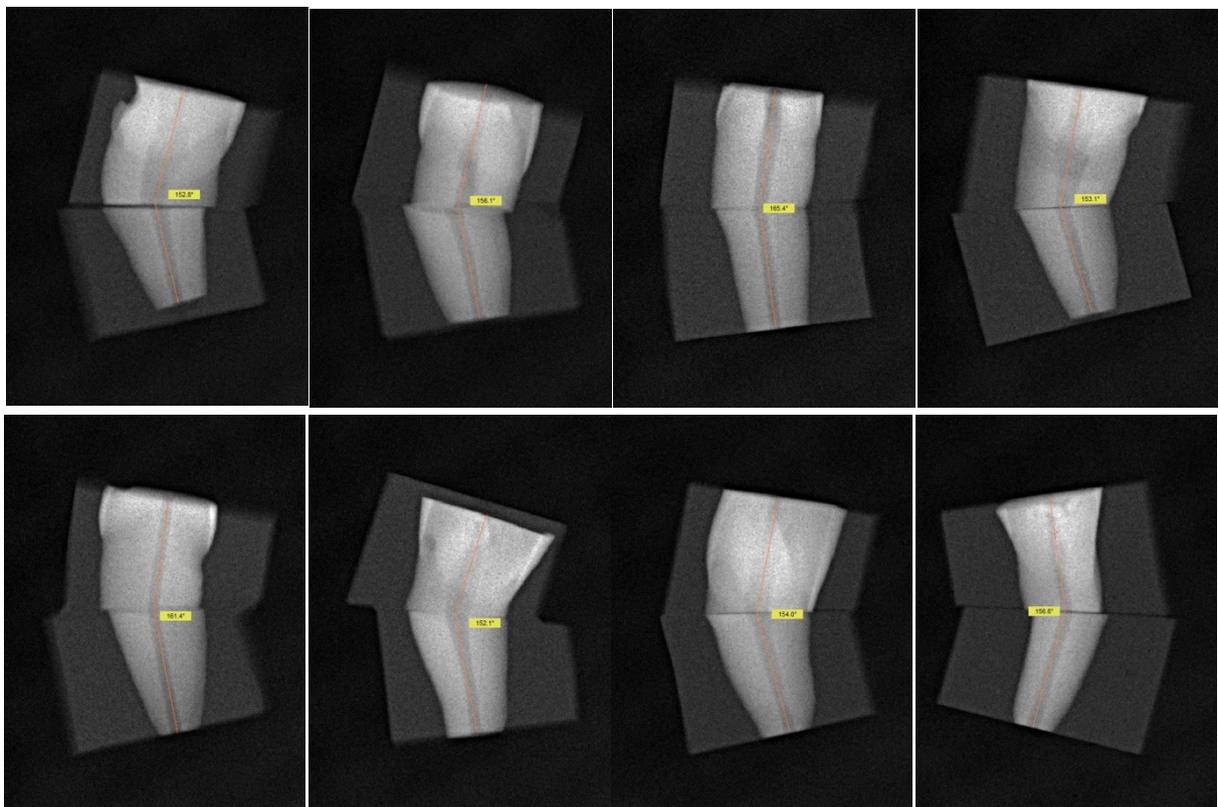


Abbildung 22 Versuchsgruppe NaOCl + PUI: mediane Wurzelkanalkrümmung: 24,95°, min. Winkel: 14,6°, max. Winkel: 27,9° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

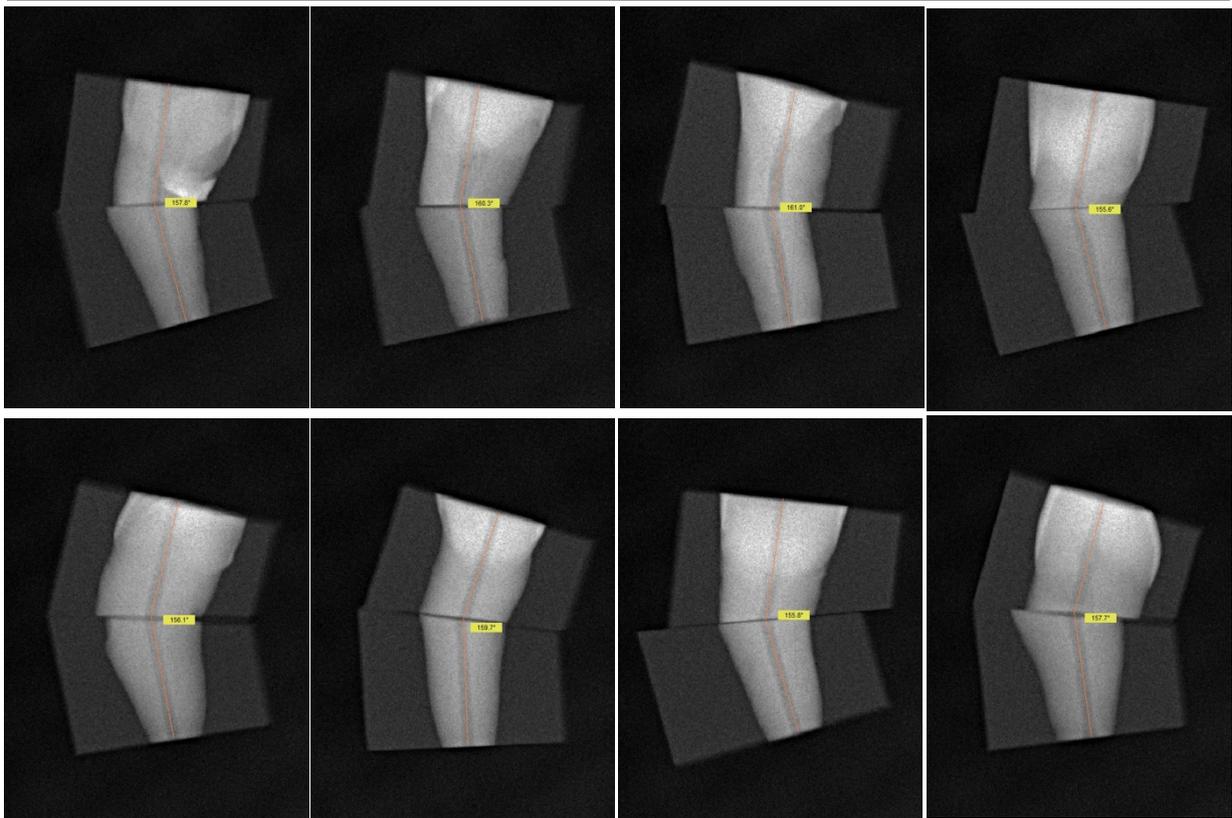


Abbildung 23 Versuchsgruppe PDT: mediane Wurzelkanalkrümmung: $22,25^\circ$, min. Winkel: 19° , max. Winkel: $24,4^\circ$ modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

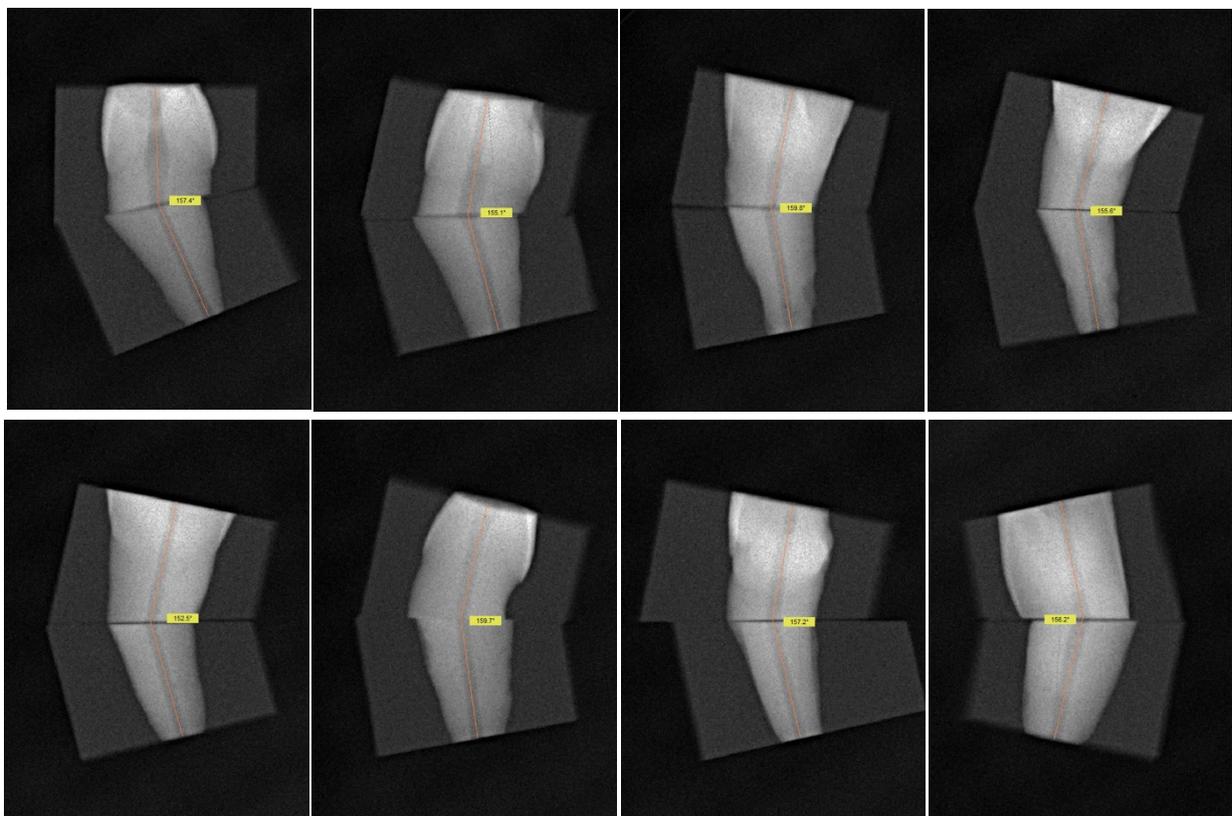


Abbildung 24 Versuchsgruppe CP I: mediane Wurzelkanalkrümmung: $23,3^\circ$, min. Winkel: $20,2^\circ$, max. Winkel: $27,5^\circ$ modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

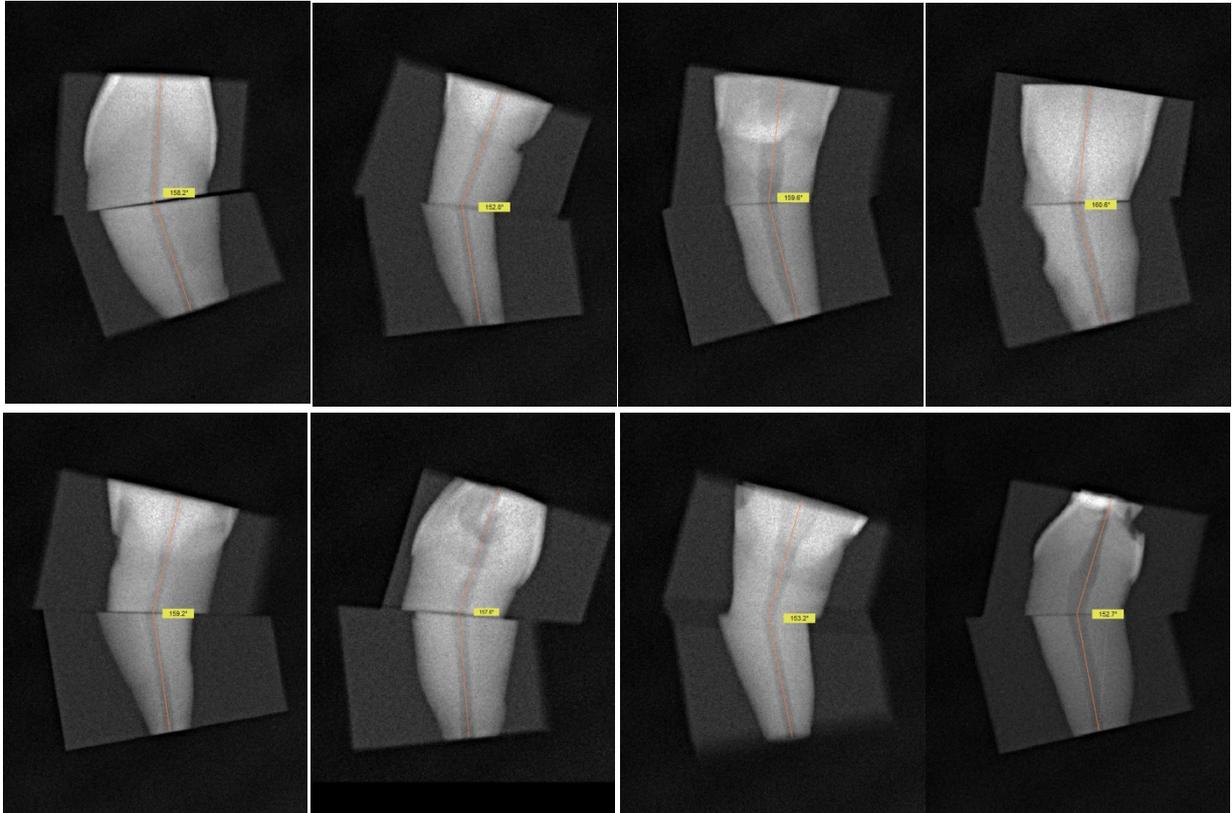


Abbildung 25 Versuchsgruppe CP II: mediane Wurzelkanalkrümmung: 22,1°, min. Winkel: 19,4°, max. Winkel: 27,3° modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Der Median der gemessenen Winkel lag in den einzelnen Versuchsgruppen zwischen 22,1° bei CP II und 24,95° bei NaOCl + PUI. Der kleinste Winkel wurde mit 14,6° bei NaOCl + PUI, der größte mit 28° bei CP II gemessen.

Die Spannweite war mit 13,3° bei NaOCl + PUI am stärksten ausgeprägt. Bei CP II betrug die Differenz zwischen minimalem und maximalem Krümmungswinkel 8,6° und bei CP I 7,3°. In den Versuchsgruppen NC und PDT lag die Differenz bei lediglich 5,5° und 5,4°.

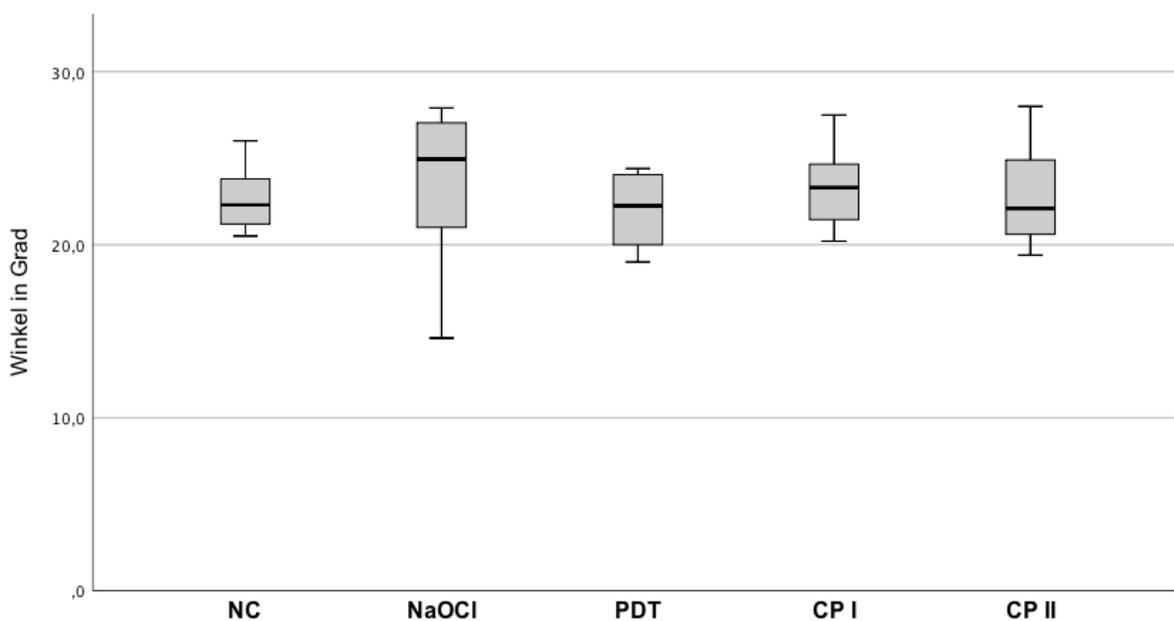


Abbildung 26 Testgruppen mit den jeweiligen Wurzelkanalkrümmungen der Probenblöcke (n=40)

4.2 Koloniebildende Einheiten

Die CFU wurden in allen Versuchsgruppen analog ausgezählt und dokumentiert. Die Ergebnisse der CFU-Zählung sind entsprechend den Verdünnungen (DIL) in den nachfolgenden Tabellen aufgelistet.

NC

		No.	6	2	32	17	3	15	42	29
		DIL								
koronal	10^{-3}	56	2	3	43	154	13	66	71	
	10^{-4}	3	1	0	1	12	2	7	3	
	10^{-5}	0	0	0	2	1	0	0	1	
apikal	10^{-3}	157	146	79	60	258	73	50	31	
	10^{-4}	12	17	5	3	15	5	5	2	
	10^{-5}	192	1	0	0	2	0	2	2	

Tabelle 1: Absolute CFU der Versuchsgruppe NC nach Probennummer und Verdünnung

NaOCl + PUI

		No.	20	30	11	13	1	23	5	16
		DIL								
koronal	10^{-3}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-5}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
apikal	10^{-3}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-4}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10^{-5}	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 2: Absolute CFU der Versuchsgruppe NaOCl + PUI nach Probennummer und Verdünnung

PDT

		No.		41	18	35	37	28	27	14	21
		DIL									
koronal	10^{-3}	17	38	8	6	2	17	59	3		
	10^{-4}	0	6	2	1	0	1	2	0		
	10^{-5}	2	0	1	0	0	0	0	0		
apikal	10^{-3}	23	60	5	4	56	215	5	23		
	10^{-4}	5	6	0	0	3	23	1	2		
	10^{-5}	2	0	0	0	0	2	1	0		

Tabelle 3: Absolute CFU der Versuchsgruppe PDT nach Probennummer und Verdünnung**CP I**

		No.		10	26	24	44	25	40	22	8
		DIL									
koronal	10^{-3}	3	4	4	37	33	79	3	30		
	10^{-4}	0	0	1	4	2	7	3	4		
	10^{-5}	0	0	0	2	1	0	0	0		
apikal	10^{-3}	31	92	2	120	32	48	314	7		
	10^{-4}	7	9	1	15	1	3	26	1		
	10^{-5}	0	3	0	0	1	1	7	1		

Tabelle 4: Absolute CFU der Versuchsgruppe CP I nach Probennummer und Verdünnung

CP II

	No.	34	33	12	9	19	7	31	4
	DIL								
koronal	10^{-3}	13	77	254	23	101	51	32	320
	10^{-4}	2	11	24	1	6	9	4	16
	10^{-5}	0	2	2	0	1	0	0	2
apikal	10^{-3}	174	3	228	48	69	20	42	377
	10^{-4}	8	1	29	8	7	1	3	40
	10^{-5}	3	0	1	0	0	0	0	7

Tabelle 5: Absolute CFU der Versuchsgruppe CP II nach Probennummer und Verdünnung

In den Verdünnungsstufen 10^{-4} und 10^{-5} lagen die erfassten CFU-Werte meist im einstelligen Bereich. Für die weitere Auswertung wurde daher auf die Verdünnungsstufe 10^{-3} zurückgegriffen, deren CFU-Werte im Bereich zwischen 20 und 300 lagen.

Da sich in den einzelnen Verdünnungsstufen teils große Streuungen der Ergebnisse ergaben, wurden die erfassten CFU umgewandelt.

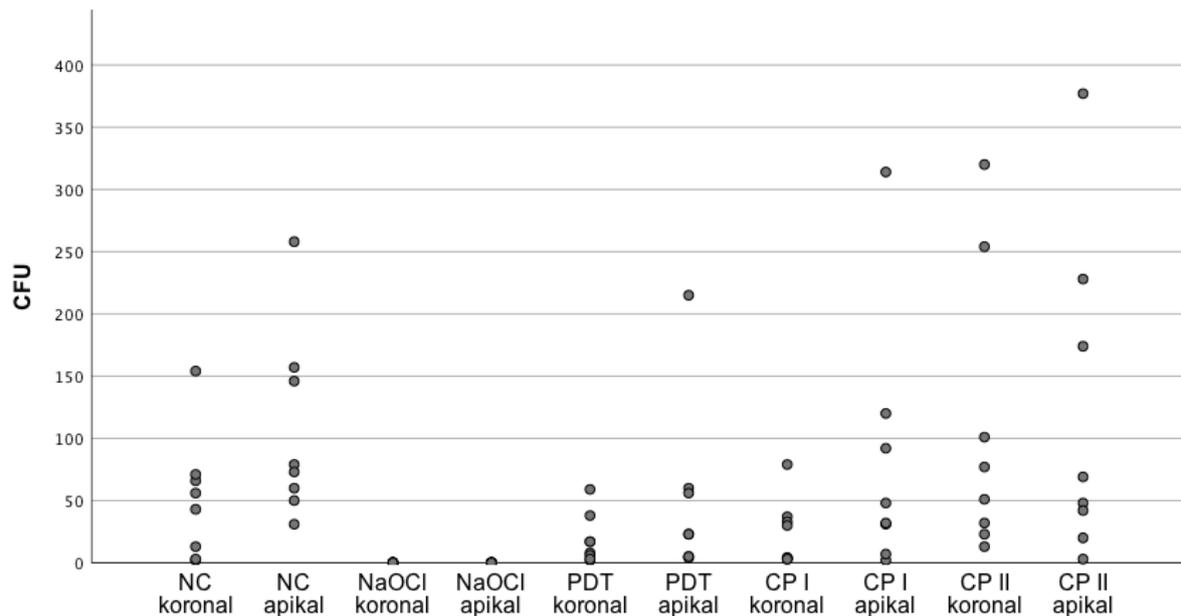


Abbildung 27 Analog erfasste CFU pro Blutagarplatte in der Verdünnungsstufe 10^{-3} (n=40)

Zunächst wurden die CFU auf einen Milliliter Lösung umgerechnet. Hierfür wurde folgende Formel angewendet:

$$\text{CFU/ml} = \frac{\text{CFU}}{(\text{ausplattiertes Volumen in [ml]} * \text{Verdünnungsfaktor})}$$

Da die erhaltenen Ergebnisse die vierfache Zehnerpotenz ergaben und somit für weitere Berechnungen ungeeignet waren, wurden die erhaltenen Ergebnisse logarithmiert. Für die Versuchsgruppen wurde von der Verdünnungsstufe 10^{-3} jeweils der mediane $\log\text{CFU/ml}$ errechnet.

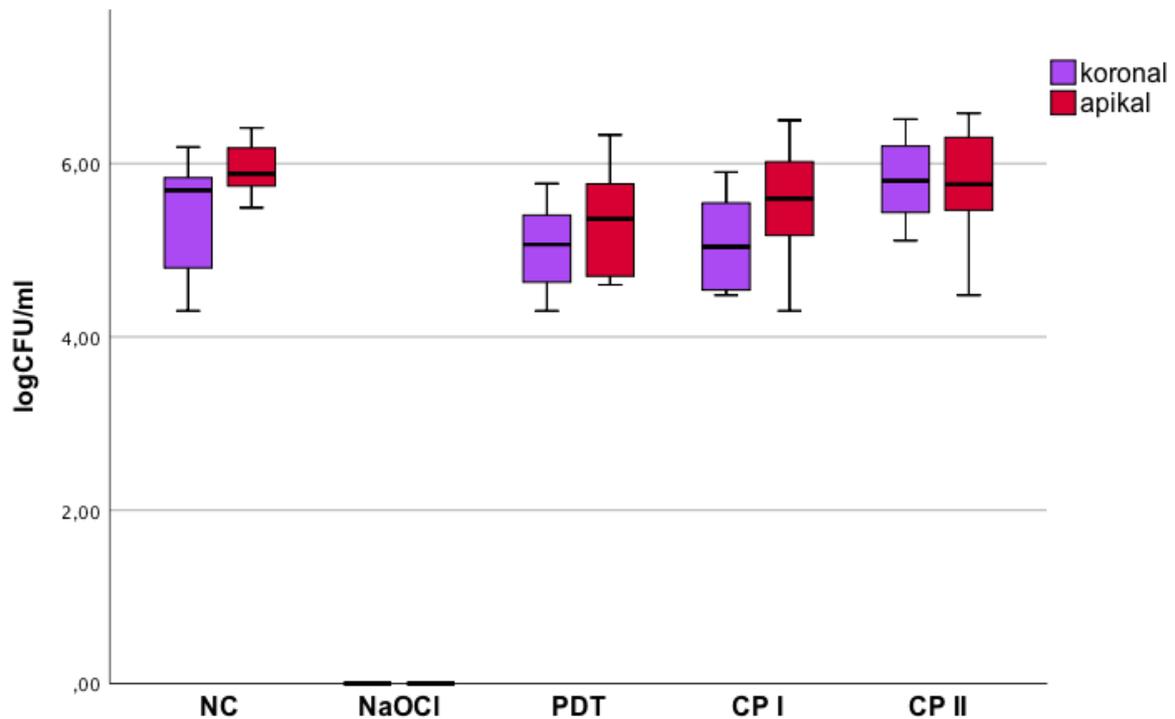


Abbildung 28 Logarithmierte CFU/ml im koronalen und apikalen Abschnitt der Probenblöcke (n=80) modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Er betrug für NC im koronalen Abschnitt 5,69 logCFU/ml sowie 5,88 logCFU/ml im apikalen Abschnitt. Für PDT ergaben sich koronal 5,07 logCFU/ml und apikal 5,36 logCFU/ml. Für CP I wurden koronal 5,04 logCFU/ml und apikal 5,60 logCFU/ml errechnet. Die Werte bei CP II ergaben koronal 5,80 logCFU/ml und apikal 5,76 logCFU/ml. Für NaOCl + PUI betragen sowohl der koronale als auch der apikale mediane logCFU/ml 0,00.

	mediane logCFU/ml	
	koronal	apikal
NC	5,69	5,88
NaOCl + PUI	0,00	0,00
PDT	5,07	5,36
CP I	5,04	5,60
CP II	5,80	5,76

Tabelle 6: Medianer logCFU/ml des koronalen und apikalen Probenblocks

Die weitere statistische Auswertung erfolgte in SPSS (*IBM® SPSS® Statistics Subscription, IBM Corporation, Armonk, NY, USA*). Der Nullhypothese (H_0), dass CP I und CP II keinen Unterschied in der bakteriziden Wirkung aufweisen, steht die Alternativhypothese (H_1) – es liegt ein Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen vor – gegenüber. Die Hypothesen wurden zunächst mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests überprüft. Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Bei Betrachtung sowohl der einzelnen Abschnitte als auch der gesamten Länge des Wurzelkanals ergab sich eine asymptotische Signifikanz von $p < 0,0001$. Somit musste H_0 zugunsten von H_1 verworfen werden. Es kann folglich davon ausgegangen werden, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen besteht. Zur eingehenderen Betrachtung wurden nun die einzelnen Versuchsgruppen untereinander mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests analysiert. Als Signifikanzschwelle wurde auch hier $p < 0,05$ festgelegt.

NaOCl + PUI zeigte im Vergleich zu allen anderen Versuchsgruppen einen signifikanten Unterschied sowohl bei Betrachtung der gesamten Wurzelkanallänge als

auch bei separierter Betrachtung der koronalen und apikalen Probenabschnitte ($p < 0,0001$).

Im koronalen Abschnitt erwies sich zudem PDT als signifikant wirksamer als CP II ($p = 0,015$). CP I erwies sich koronal als nicht signifikant wirksamer als CP II ($p = 0,05$).

Im Vergleich zur NC konnte nur PDT als Desinfektionsmethode im apikalen Abschnitt eine signifikante Reduktion der CFU erzielen ($p = 0,028$).

Bei einem Vergleich auf der gesamten Länge des Kanals erreichte neben NaOCl + PUI ebenfalls nur PDT eine signifikante Reduktion der Keimlast ($p = 0,015$) im Vergleich zu NC. Hier zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied zwischen PDT und CP II ($p = 0,007$). Ein signifikanter Unterschied zwischen CP I und CP II war nicht zu verzeichnen ($p = 0,061$).

	p-Wert		
	koronal	apikal	overall
NC vs. NaOCl + PUI	0,000	0,000	0,000
NC vs. PDT	0,234	0,028	0,015
NC vs. CP I	0,382	0,234	0,102
NC vs. CP II	0,279	0,645	0,724
NaOCl + PUI vs. PDT	0,000	0,000	0,000
NaOCl + PUI vs. CPI	0,000	0,000	0,000
NaOCl + PUI vs. CP II	0,000	0,000	0,000
PDT vs. CP I	0,959	0,442	0,590
PDT vs. CP II	0,015	0,279	0,007
CP I vs. CP II	0,050	0,505	0,061

Tabelle 7: p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests

	Effektstärke <i>r</i>		
	koronal	apikal	overall
NaOCl vs. NC	0,8	0,9	0,9
NaOCl vs. PDT	0,8	0,9	0,9
NaOCl vs. CP I	0,9	0,9	0,9
NaOCl vs. CP II	0,9	0,9	0,9
PDT vs. NC	-	0,5	0,4
PDT vs. CP I	0,6	-	0,5
CP I vs. CP II	0,5	-	-

Tabelle 8: Effektstärke *r* zur Beurteilung des Ausmaßes der Wirkung; schwach: $r < 0,1$; mittel: $0,1 \leq r < 0,3$; stark: $r > 0,5$

Obwohl im Vergleich zwischen NaOCl + PUI und allen anderen Versuchsgruppen stets ein signifikanter Unterschied von $p < 0,0001$ bestand, unterschieden sich die Ergebnisse in ihrer Effektstärke (*r*). NaOCl + PUI erzielte immer eine starke Effektstärke ($r > 0,5$). Im koronalen Abschnitt fiel diese verglichen mit NC und PDT jedoch etwas schwächer aus ($r = 0,8$) als bei allen anderen Proben ($r = 0,9$).

Ein starker Effekt zeigte sich auch im koronalen Abschnitt zwischen PDT und CP I ($r = 0,6$), während hier zwischen CP I und CP II lediglich eine mittlere Effektstärke vorlag ($r = 0,5$). Apikal ergab sich auch zwischen PDT und NC eine starke Effektstärke ($r = 0,5$). Über die gesamte Länge des Kanals hinweg betrachtet, war sowohl zwischen PDT und NC ($r = 0,4$) als auch zwischen PDT und CP I ($r = 0,5$) eine mittlere Effektstärke zu verzeichnen.

	p-Wert koronal vs. apikal
NC	0,083
NaOCI	0,999
PDT	0,382
CP I	0,195
CP II	0,959

Tabelle 9: p-Wert für Vergleich koronal vs. apikal in jeder einzelnen Versuchsgruppe

Betrachtet man die einzelnen Versuchsgruppen, so ergab sich für keine der Desinfektionsmethoden ein signifikanter Unterschied in der Reduktion der Keimlast zwischen koronalem und apikalem Abschnitt ($p > 0,05$). Die p-Werte lagen zwischen $p = 0,083$ für NC und $p = 0,9999$ bei NaOCI + PUI. Die Desinfektion in letztgenannter Versuchsgruppe war sowohl koronal als auch apikal gleichermaßen effektiv (CFU = 0).

4.3 Rasterelektronenmikroskopie

Die nachfolgenden Abbildungen zeigen REM-Aufnahmen der Innenseite je eines koronalen und eines apikalen Abschnittes pro Versuchsgruppe. *E. faecalis* imponiert deutlich sichtbar als kugelförmige Erhebung an der Wurzelkanalwand. Vergleicht man die unterschiedlichen Bilder miteinander, so wird deutlich, dass keine verwendete Desinfektionsmethode eine restlose Beseitigung der Bakterien erzielte. Jedoch lassen sich unter Berücksichtigung der jeweiligen Vergrößerung Unterschiede ausmachen. Die Oberfläche mit der geringsten bakteriellen Besiedlung war bei NaOCl + PUI auszumachen. Bei CP I imponierte eine geringere Besiedlung im Vergleich zu PDT und CP II. Der dichteste Biofilm war bei NC sichtbar.

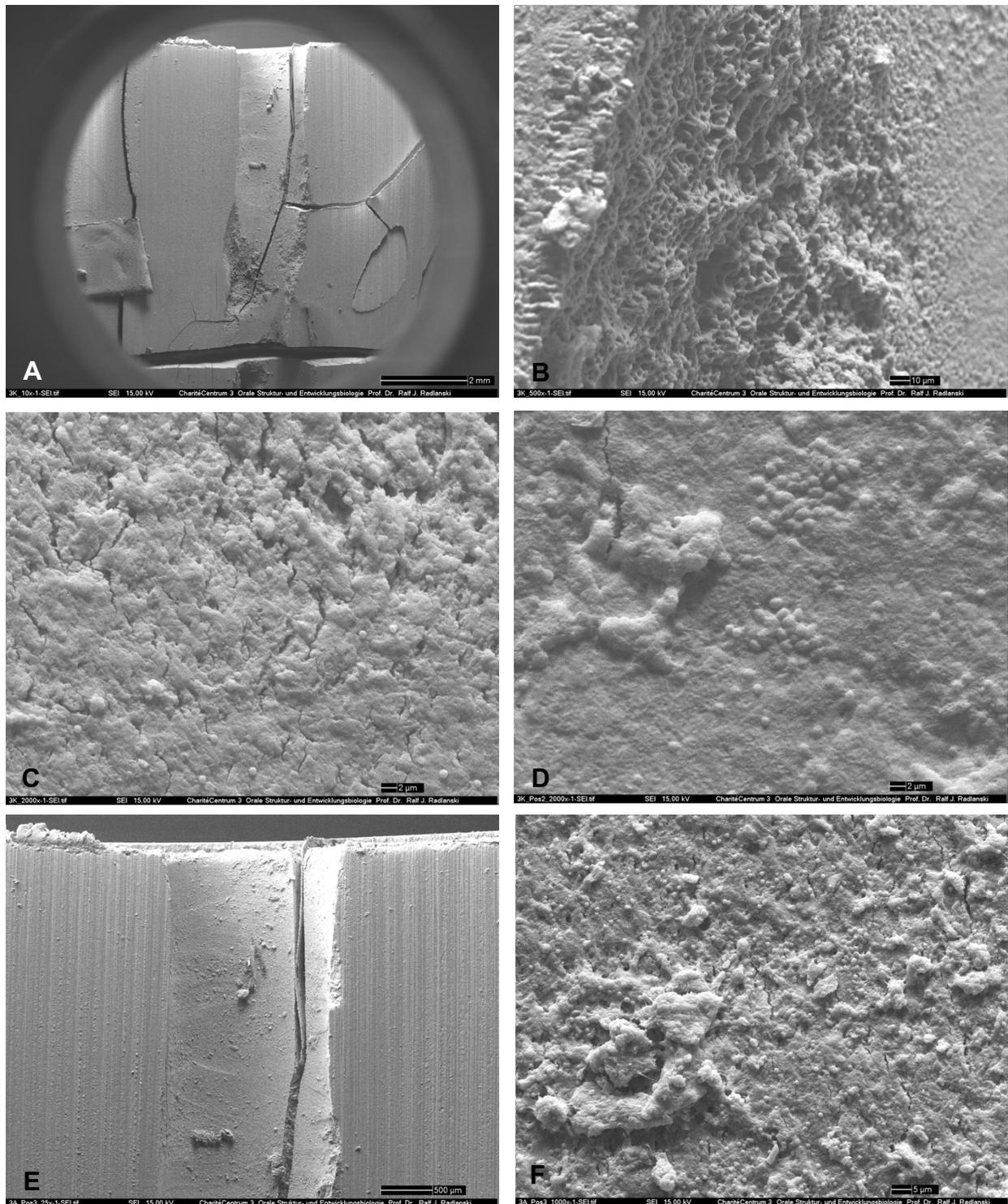


Abbildung 29 Versuchsgruppe NC, SEI, 15 kV, No. 3, Wurzelkanalkrümmung 24,8°
 A) Koronal 10-fach, B) Koronal 500-fach, C) Koronal 2000-fach,
 D) Koronal 2. Position 2000-fach, E) Apikal 25-fach, F) Apikal 1000-fach modifiziert
 nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

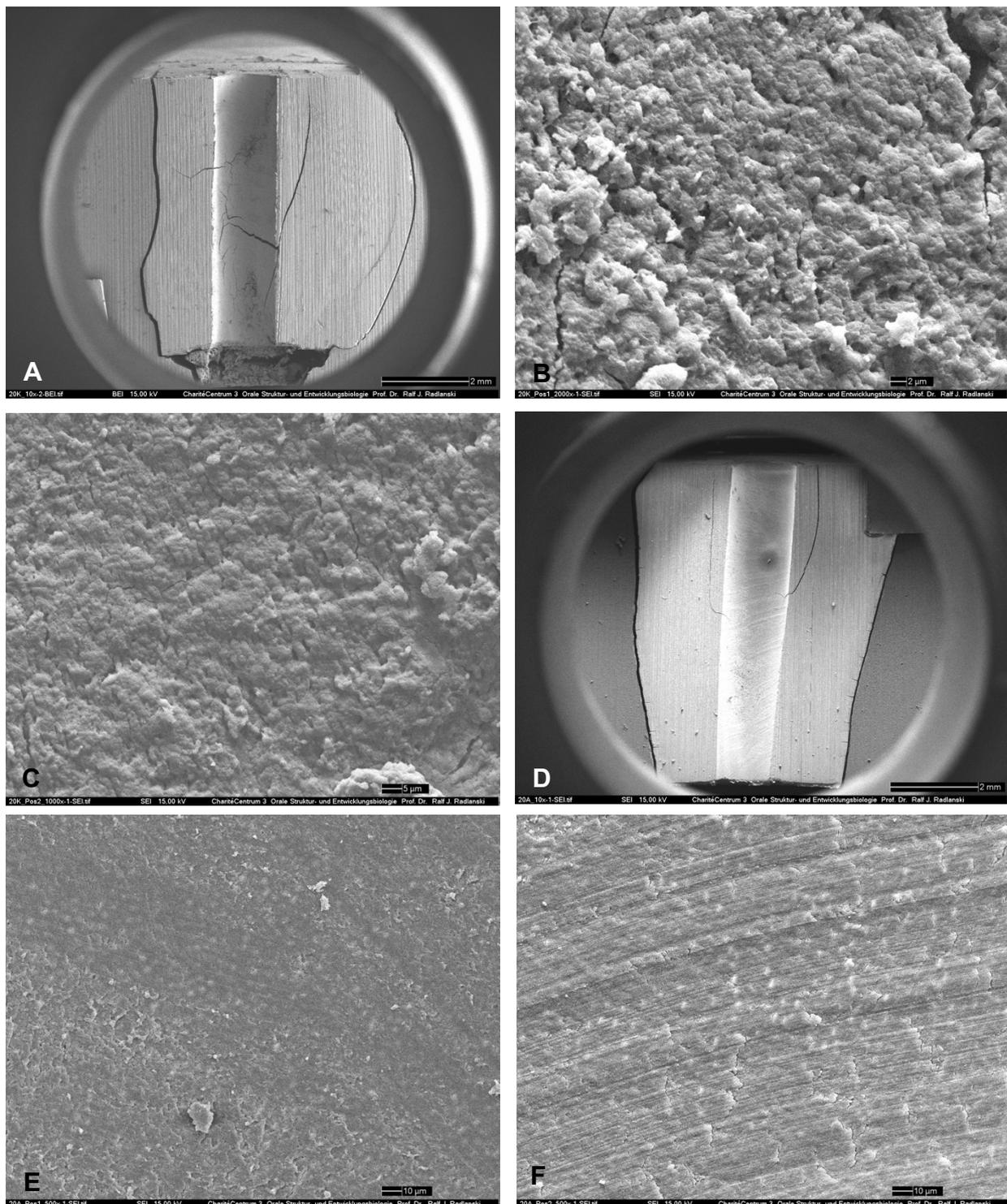


Abbildung 30 Versuchsgruppe NaOCl + PUI, SEI, 15 kV, No. 20, Wurzelkanalkrümmung 27,9°
 A) Koronal 10-fach, B) Koronal 2000-fach, C) Koronal 2. Position 2000-fach modifiziert
 nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim,
 D) Apikal 10-fach E) Apikal 500-fach, F) Apikal 2. Position 500-fach

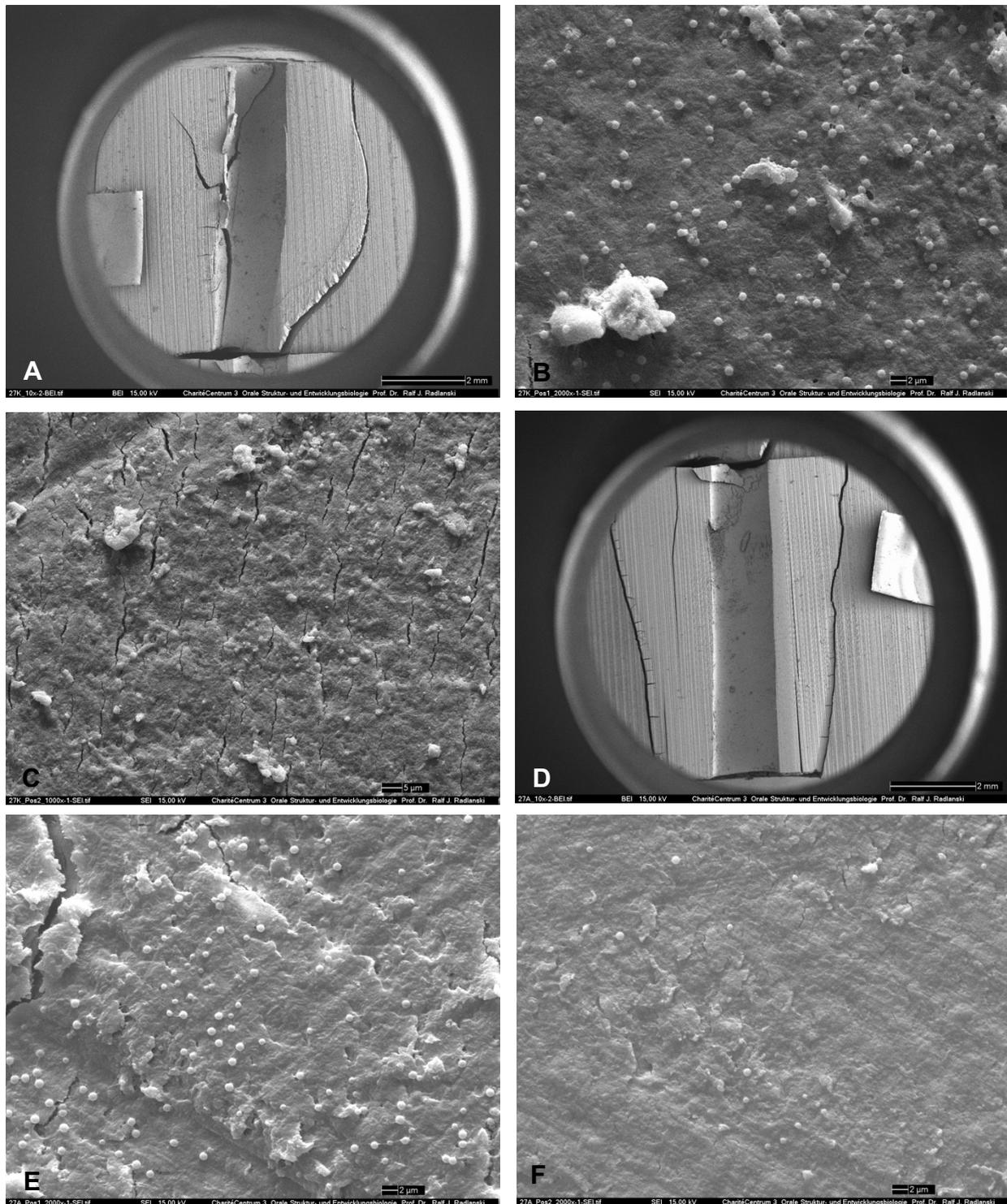


Abbildung 31 Versuchsgruppe PDT, SEI, 15 kV, No. 27, Wurzelkanalkrümmung 24,4°
 A) Koronal 10-fach, B) Koronal 2000-fach, C) Koronal 2. Position 1000-fach modifiziert
 nach [106] © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim,
 D) Apikal 10-fach, E) Apikal 2000-fach, F) Apikal 2. Position 2000-fach

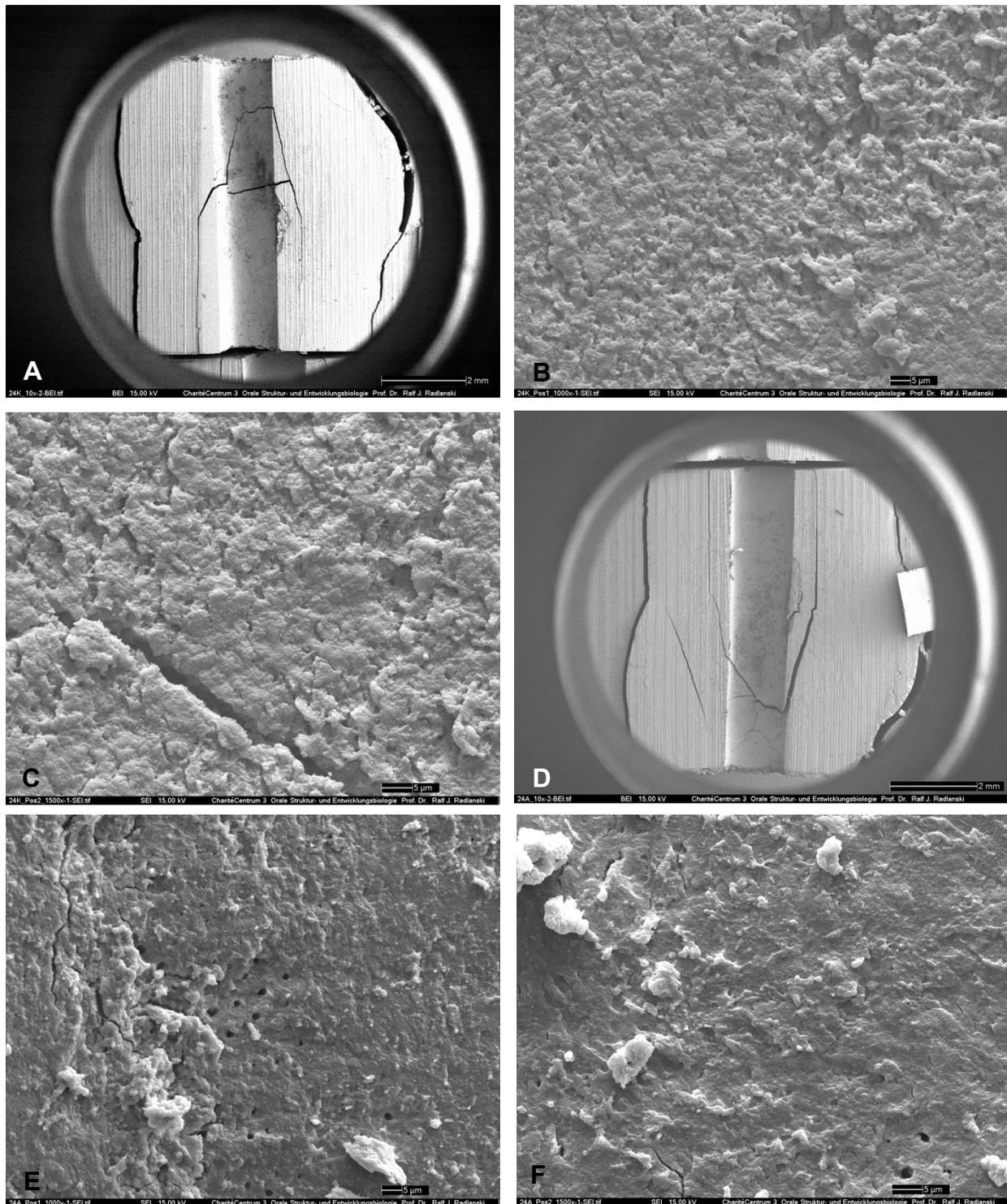


Abbildung 32 Versuchsgruppe CP I, SEI, 15 kV, No. 24, Wurzelkanalkrümmung 24,4°
 A) Koronal 10-fach, B) Koronal 1000-fach, C) Koronal 2. Position 1500-fach,
 D) Apikal 10-fach, E) Apikal 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH
 Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, F) Apikal 1500-fach

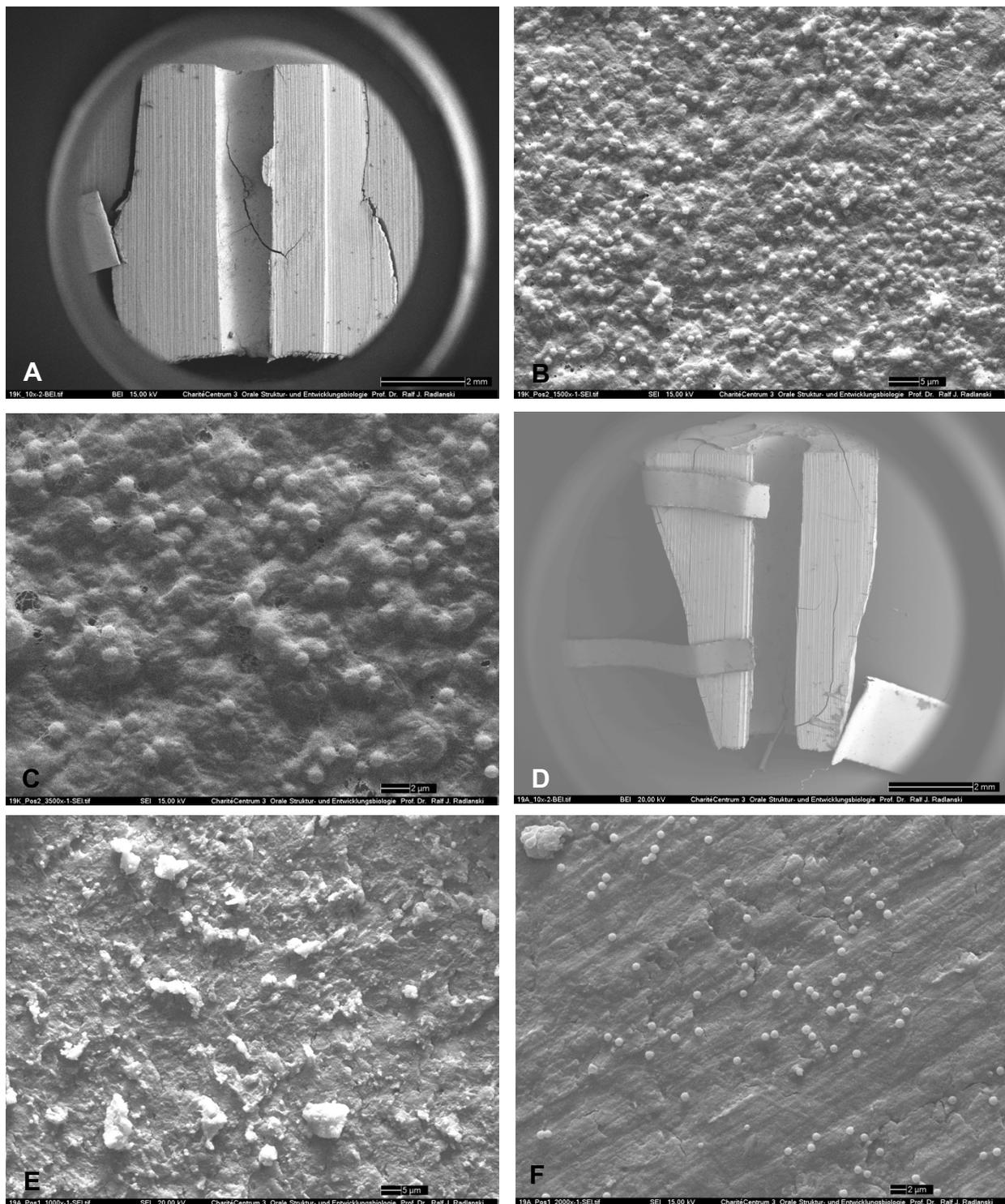


Abbildung 33 Versuchsgruppe CP II, SEI, 15 kV, No. 19, Wurzelkanalkrümmung 20,8°
 A) Koronal 10-fach, B) Koronal 1500-fach, C) Koronal 3500-fach,
 D) Apikal 10-fach, E) Apikal 1000-fach modifiziert nach [106] © 2017 WILEY-VCH
 Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, F) Apikal 2000-fach

5 Diskussion

5.1 Das Wurzelkanalmodell

Erstes Ziel der vorliegenden Arbeit war die Herstellung eines Wurzelkanalmodells mit einer standardisierten Krümmung für die weiteren Versuche. Mittlerer Krümmungswinkel und Median der Wurzelkanalkrümmung weisen eine Differenz von lediglich $0,32^\circ$ auf und liegen mit $22,87^\circ$ und $22,55^\circ$ geringfügig über dem angestrebten Krümmungswinkel von 20° . Dies belegt die Eignung des Verfahrens, mittels Gehrungsschnitt eine artifizielle Wurzelkanalkrümmung herzustellen. Die Spannweite der Wurzelkanalkrümmungen ergibt einen Betrag von $13,4^\circ$. Diese Abweichungen können einerseits herstellungsbedingt sein, da jeder einzelne Probenblock zugeschliffen wurde. Zudem diente zur Zerteilung der Probenblöcke ein geteilter Probenblock als Sägemuster. Dieser wurde nicht im Voraus auf Exaktheit überprüft. Somit können sich beim Zersägen Abweichungen übertragen haben. Andererseits sind die Abweichungen mit der digitalen Messmethode zu erklären. Wie Abb. 34 zeigt, ergeben sich je nach Ansatzpunkt unterschiedliche Krümmungswinkel von teilweise

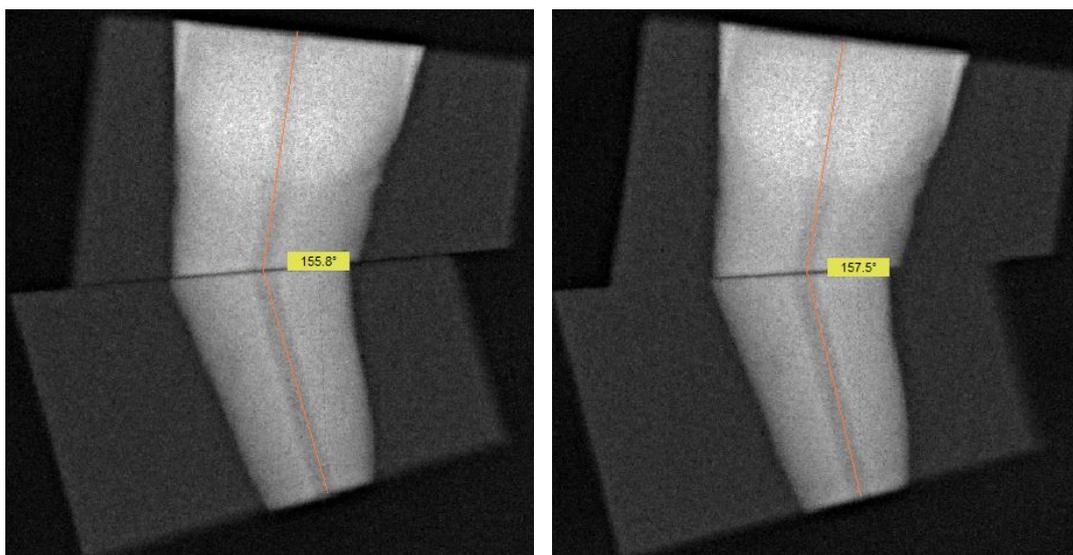


Abbildung 34 Digital vermessener Probenblock - links $24,2^\circ$, rechts $22,5^\circ$, Differenz $1,7^\circ$

mehreren Grad. Ein Referenzobjekt zur Vermessung würde diese Fehlerquelle minimieren. Für die Wurzelkanalkrümmungen ergaben sich durch den erprobten Versuchsaufbau normalverteilte Daten mit einer Standardabweichung von $2,92^\circ$.

Bei der kritischen Betrachtung des zugrundeliegenden Wurzelkanalmodells ergeben sich weitere mögliche Fehlerquellen, die die Ergebnisse beeinflussen konnten.

Zunächst handelt es sich bei den verwendeten Proben um humanes Material, welches aufgrund interindividueller Abweichungen nicht gänzlich kongruent ist. Trotz der Aufbereitung des Wurzelkanals auf einen standardisierten Durchmesser weisen das Pulpenkavum und der Wurzelkanalverlauf unterschiedliche Formen auf (vgl. Abb. 35). Zudem bestehen Unterschiede in der Stärke der Dentinschicht und den Lumina der Dentintubuli. Diese Varianz kann dazu führen, dass die Bakterienbesiedlung und der entstandene Biofilm in den verschiedenen Probenblöcken unterschiedlich stark ausgeprägt sind.

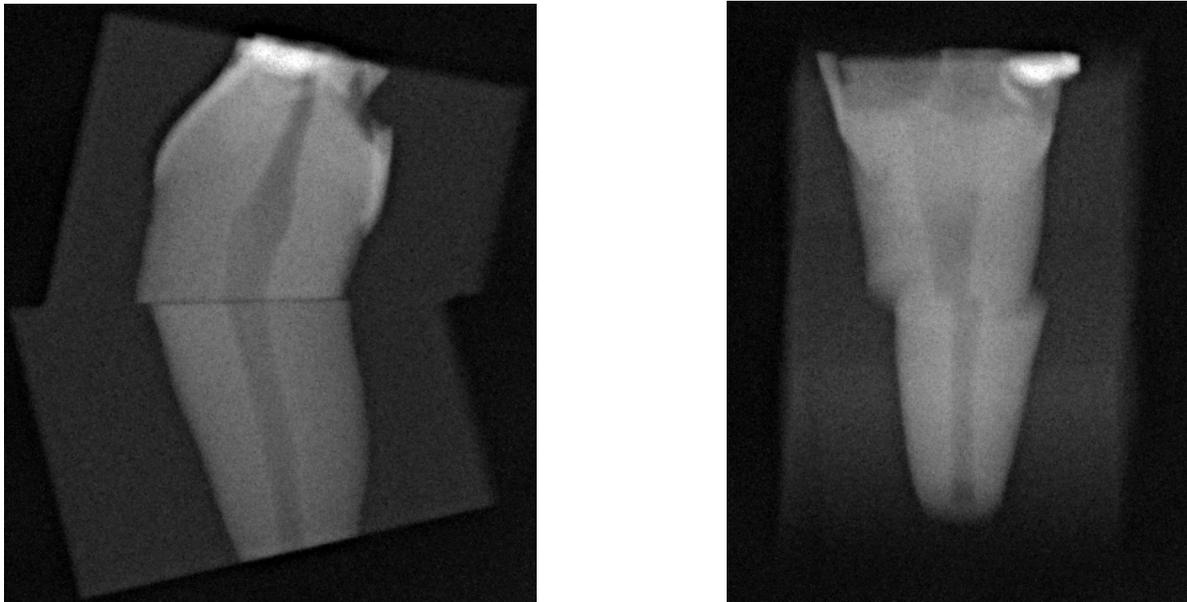


Abbildung 35 Probenblock in mesio-distaler und bucco-oraler Projektion; sowohl koronal als auch apikal deutlich ausgeprägtes Lumen des Wurzelkanals und großes Pulpenkavum

Da die Probenblöcke in Gänze manuell hergestellt wurden, können bei jedem Arbeitsschritt, von der Aufbereitung bis hin zur adhäsiven Befestigung zwischen koronalem und apikalem Abschnitt, Abweichungen auftreten. Um diese zu erfassen, erfolgte eine kontinuierliche Kontrolle. Wie oben beschrieben, weisen die Werte eine gewisse Spannweite auf. Denkbar wäre, den Herstellungsprozess mithilfe einer Gussform aus einem starren Material zur Einbettung und einer standardisierten Vorrichtung zur Zerteilung der Probenblöcke zu optimieren.

Die erwähnte adhäsive Fügefläche zwischen dem koronalen und dem apikalen Kanalabschnitt bietet ungewollter bakterieller Besiedlung einen Ansatzpunkt



Abbildung 36 Fügespalt als sichtbare schwarze Linie zwischen koronalem und apikalem Abschnitt

(vgl. Abb. 36). Diese kann sich in mikroskopischen Spalten vollziehen und die CFU-Messergebnisse verfälschen. Zudem könnte eine mögliche Stufenbildung zwischen koronalem und apikalem Abschnitt des Probenblocks die Reduktion der Keimlast je nach erfolgter Desinfektionsmethode unterschiedlich stark beeinflussen. Durch die

randomisierte Einteilung erfolgte jedoch keine gleichmäßige Verteilung solcher möglicherweise beeinflussenden Faktoren auf jede einzelne Versuchsgruppe.

Auch eine Verteilung der unterschiedlich stark gekrümmten Kanäle auf die Versuchsgruppen wurde aufgrund der randomisierten Zuteilung nicht berücksichtigt. In der Versuchsgruppe NaOCl + PUI liegt der Median der Wurzelkanalkrümmungen deutlich über dem der anderen Versuchsgruppen (vgl. Abb. 26). Auch die Spannweite der Wurzelkanalkrümmungen ist in dieser Versuchsgruppe am größten. Trotz der großen Differenz zwischen minimalem und maximalem Krümmungswinkel konnte eine gleich gute Reduktion der Keimlast im koronalen und im apikalen Abschnitt erzielt werden. Bis auf PDT fallen in allen Versuchsgruppen links- und rechtsschiefe Werte der Wurzelkanalkrümmungen auf. Auch wenn in der Gesamtheit keine großen Ausreißer im Krümmungswinkel zu verzeichnen sind (vgl. Abb. 20), ist ein Einfluss auf die antibakterielle Wirksamkeit der jeweiligen Methode denkbar. Die Beantwortung der Frage, ob ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung des Krümmungswinkels und der angewendeten Desinfektionsmethode besteht, war nicht Gegenstand der vorliegenden Versuche. Hierzu bedarf es weiterführender Untersuchungen, bei denen bspw. jeder Versuchsgruppe Probenblöcke mit geringer und starker Krümmung nach *Schneider et al.* [12] zugeordnet werden könnten.

Mit lediglich 16 mm Länge sind die Wurzelkanäle deutlich kürzer als unter physiologischen Verhältnissen [107]. Eine im Unterschied zur klinischen Situation a priori reduzierte Anzahl intrakanalärer Bakterien ist die Folge. Nicht gänzlich reale Bedingungen entstehen zudem durch die Aufbereitung des Wurzelkanals auf einen Durchmesser von 0,7 mm. Dies war zur Herstellung der Probenblöcke unabdingbar. Ein Wurzelkanal *in situ* besitzt im Verlauf von koronal nach apikal einen abnehmenden Durchmesser. Ein gleichmäßig geformter Wurzelkanal könnte jedoch die gleichwertige koronale und apikale Wirkung der Desinfizientia erklären. Ein signifikanter Unterschied

der CFU zwischen koronalem und apikalem Abschnitt wurde in keiner der Versuchsgruppen erzielt. Durch den konstanten Wurzelkanalquerschnitt können flüssige Desinfizientia ungehindert abfließen. *In situ* baut sich bei der Spülung aufgrund der apikalen Verjüngung Druck auf, der eine zusätzliche Entfernung von Debris und somit eine höhere Reinigungswirkung besonders im apikalen Abschnitt erzielen kann.

5.2 Versuchsaufbau

Die Wurzelkanalblöcke lagerten für 6 Tage in der Bakterienbouillon. In dieser Periode bildet sich allenfalls ein dünner bakterieller Biofilm aus. Dies entspricht nicht den Bedingungen, die sich in einem infizierten Wurzelkanal finden. Der hier vorzufindende Biofilm ist stärker ausgeprägt und mit verschiedenen mikrobiellen Spezies durchsetzt. Dies ist eine zusätzliche Herausforderung bei der endodontischen Therapie, da von Alter und Dicke des Biofilms auch die Reduktion der Keimlast bei der Therapie abhängt [108]. Daher dürfte der im vorliegenden Versuch vergleichsweise dünne Biofilm entsprechend sensibel auf die Desinfektion reagieren.

Die Probenblöcke wurden bereits vor der Infektion intensiv gereinigt. Durch die Anwendung eines Chelators bei der prätherapeutischen Reinigung sollte der herstellungsbedingte Smear Layer entfernt werden. Dadurch kommt es zur Öffnung der Dentintubuli und die Reinigungswirkung wird verstärkt. Vor allem in der Versuchsgruppe NaOCl + PUI unterstützt dies die Reinigungswirkung [109], da durch die Anwendung der PUI die Dentintubuli regelrecht freigespült werden und NaOCl in die Tubuli strömt [110].

Um vergleichbare Voraussetzungen für den Versuch zu schaffen, wurden bei der Anwendung in jeder Versuchsgruppe die gleichen Flüssigkeitsvolumina verwendet. So kamen auch bei CP I und CP II je 5 ml NaCl zur Spülung des Kanals zum Einsatz. Dies kann eine zusätzliche Reinigung und damit Reduktion der CFU bewirkt haben. Auch die Menge des abgetragenen Dentins variiert aufgrund interindividueller Unterschiede der humanen Proben. So ist die Menge des Dentins, welches nach der Anwendung der Desinfektionsmethoden abgetragen wurde, bei Zähnen mit großem Pulpenkavum geringer.

Insbesondere bei CP I und CP II ergeben sich allein durch die Handhabung Limitationen. So wurde CP II während der Anwendung wenige Millimeter über den Kanaleingang gehalten. Klinisch wäre dies nicht möglich, da die Zugangskavität eine direkte Applikation verhindert. Ein Nachteil könnte auch für CP I entstehen. Zwar tritt der Plasmastrahl ca. 12 mm weit aus der Gerätespitze aus, doch eine intraorale Anwendung ist im Vergleich zu NaOCl + PUI und auch PDT eingeschränkt. Hier ist durch formbare Aufsätze (Endokanüle bzw. Lichtleiteraufsatz) eine direkte Applikation unkompliziert möglich. Auch Isthmen und Seitenkanälchen werden so erreicht [111]. Zwar zeigten *in-vitro*-Versuche, dass sich der Plasmastrahl entlang eines 17 mm langen, gekrümmten Wurzelkanals ausbreitet [102], dies könnte aber mit der Kanalkonfiguration zusammenhängen. Die im vorliegenden Versuchsaufbau verwendeten Modellblöcke haben einen konstanten Wurzelkanaldurchmesser und knicken vergleichsweise abrupt ab. Für die Strömungseigenschaften des Gases könnte dies einen erheblichen Nachteil bedeuten. Mithilfe entsprechender Applikatoren, die das Eindringen des Plasmastrahls in den Wurzelkanal und das Vordringen bis zum Apex vereinfachen, könnte die antibakterielle Wirkung verbessert werden. Das vergleichsweise schwache Abschneiden von CP I könnte darüber hinaus mit der kurzen Applikationszeit von lediglich 60 Sekunden zusammenhängen. In Versuchen konnte bereits eine vollständige Entfernung von *E. faecalis* bei einer Applikationszeit von 10 Minuten nachgewiesen werden [112]. Hierbei muss jedoch eine potenziell gewebeschädigende Wirkung beachtet werden [113]. Da auch bei verlängerter Anwendung von Spülflüssigkeiten eine stärkere bakterizide Wirkung beobachtet wird [50], ist der zeitliche Aspekt kein Argument für die klinische Verwendung des CP.

5.3 Koloniebildende Einheiten und statistische Auswertung

Eine weitere mögliche Fehlerquelle liegt in der analogen Erfassung der CFU. Mögliche Messfehler können die weitere Auswertung beeinträchtigen.

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die CFU, die teils große Spannweiten umfassten, zur weiteren Verarbeitung mathematisch umgewandelt. Potenzielle Fehlerquellen bzw. Ungenauigkeiten ergeben sich deshalb bei den mathematischen Umrechnungen durch softwarebedingtes Runden der Zahlen. Größere Versuchsgruppen zur Minimierung der Streuung, Beurteilung von Extremwerten und Validierung der Testergebnisse wären hilfreich.

5.4 Rasterelektronenmikroskopie

Die mittels REM aufgenommenen Bilder der Wurzelkanaloberfläche decken sich weitgehend mit den statistisch ermittelten Werten. Lediglich bei NaOCl + PUI besteht hier eine Diskrepanz: Zwar konnten bei der CFU keinerlei Bakterienvorkommen nachgewiesen werden. Jedoch sind bei 1000-facher Vergrößerung vereinzelt Bakterien erkennbar. Dies könnte damit zu erklären sein, dass die Bakterien in den kanalnahen Dentinschichten des Wurzelkanals durch die zusätzliche PUI konsequent beseitigt wurden, eine entsprechende Spülwirkung hingegen in tieferen Dentinschichten nicht gegeben war.

5.5 Fazit

Die vorliegende Arbeit dient dem Vergleich der antibakteriellen Wirksamkeit verschiedener Methoden auf den endodontischen Problemkeim *E. faecalis* in einem eigens dafür entwickelten Wurzelkanalmodell mit standardisierter Wurzelkanalkrümmung.

Auch wenn das Herstellungsverfahren noch in einigen Punkten optimiert werden kann, lieferte das entwickelte Verfahren zur Herstellung der Modellblöcke Wurzelkanalmodelle mit lediglich geringen Abweichungen in Bezug auf die angestrebte Wurzelkanalkrümmung. Somit könnte es für weitere *in-vitro*-Untersuchungen an gekrümmten Wurzelkanälen nutzbar sein. Ein großer Vorteil sind die weitestgehend realen Bedingungen des humanen Zahnmaterials.

Die durchgeführten Versuche bestätigen einmal mehr den Status von NaOCl als Goldstandard der Desinfizientia in der endodontischen Therapie. Insbesondere in Kombination mit der PUI konnte eine ausgeprägte Reduktion der Keimlast erreicht werden. Vielversprechende Ansätze finden sich auch in der PDT und dem APPJ. Denn neben der antibakteriellen Wirkung bieten diese Anwendungen zusätzliche geweberegenerative Mechanismen. Darum bergen diese Verfahren als adjuvante Therapiemaßnahmen in der endodontischen Therapie ein enormes Potenzial.

Literaturverzeichnis

1. Benenati FW, Khajotia SS. A radiographic recall evaluation of 894 endodontic cases treated in a dental school setting. *J Endod.* 2002;28(5):391-5.
2. Azim AA, Griggs JA, Huang GT. The Tennessee study: factors affecting treatment outcome and healing time following nonsurgical root canal treatment. *Int Endod J.* 2016;49(1):6-16.
3. Wu MK, Wesselink PR. Efficacy of three techniques in cleaning the apical portion of curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(4):492-6.
4. Portenier I, Waltimo TM, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*—the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endodontic topics.* 2003;6(1):135-59.
5. Herbst SR, Hertel M, Ballout H, Pierdzioch P, Weltmann KD, Wirtz HC, Abu-Sirhan S, Kostka E, Paris S, Preissner S. Bactericidal Efficacy of Cold Plasma at Different Depths of Infected Root Canals In Vitro. *Open Dent J.* 2015;9:486-91.
6. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340-9.
7. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 1990;16(10):498-504.
8. Weine FS, Healey HJ, Gerstein H, Evanson L. Canal configuration in the mesiobuccal root of the maxillary first molar and its endodontic significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1969;28(3):419-25.

9. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984;58(5):589-99.
10. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endodontic topics.* 2005;10(1):3-29.
11. Kartal N, Cimilli HK. The degrees and configurations of mesial canal curvatures of mandibular first molars. *J Endod.* 1997;23(6):358-62.
12. Schneider SW. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971;32(2):271-5.
13. Nagy CD, Szabo J, Szabo J. A mathematically based classification of root canal curvatures on natural human teeth. *J Endod.* 1995;21(11):557-60.
14. Pruett JP, Clement DJ, Carnes DL, Jr. Cyclic fatigue testing of nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod.* 1997;23(2):77-85.
15. Cunningham CJ, Senia ES. A three-dimensional study of canal curvatures in the mesial roots of mandibular molars. *J Endod.* 1992;18(6):294-300.
16. Estrela C, Bueno MR, Sousa-Neto MD, Pécora JD. Method for determination of root curvature radius using cone-beam computed tomography images. *Brazilian Dental Journal.* 2008;19(2):114-8.
17. Ahmed H, Versiani M, De-Deus G, Dummer P. A new system for classifying root and root canal morphology. *Int Endod J.* 2017;50(8):761-70.
18. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Alves FR, Santos KR. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod.* 2004;30(9):638-43.
19. Klimm W. *Endodontologie: Deutscher Ärzteverlag; 2011.*

20. Rocas IN, Siqueira JF, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endodont.* 2004;30(5):315-20.
21. Furumura MT, Figueiredo PMS, Carbonell GV, Darini ALD, Yano T. Virulence-associated characteristics of *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical sources. *Braz J Microbiol.* 2006;37(3):230-6.
22. Elsner HA, Sobottka I, Mack D, Claussen M, Laufs R, Wirth R. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000;19(1):39-42.
23. Jones RN, Marshall SA, Pfaller MA, Wilke WW, Hollis RJ, Erwin ME, Edmond MB, Wenzel RP. Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE Program: antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results, and laboratory testing accuracy. SCOPE Hospital Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1997;29(2):95-102.
24. Sedgley C, Nagel A, Dahlen G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod.* 2006;32(3):173-7.
25. Delboni MG, Gomes BPFA, Francisco PA, Teixeira FB, Drake D. Diversity of *Enterococcus faecalis* Genotypes from Multiple Oral Sites Associated with Endodontic Failure Using Repetitive Sequence-based Polymerase Chain Reaction and Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction. *J Endodont.* 2017;43(3):377-82.
26. Love RM. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001;34(5):399-405.
27. Kranz S. Photodynamische Suppression von *Enterococcus faecalis* mit dem Photosensitizer mTHPC 2013.

28. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2001;34(6):424-8.
29. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010;36(3):520-3.
30. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981;89(4):321-8.
31. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Brit Dent J*. 2014;216(6):299-303.
32. Bukhary S, Balto H. Antibacterial Efficacy of Octenisept, Alexidine, Chlorhexidine, and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *J Endod*. 2017;43(4):643-7.
33. Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*. 1978;4(2):60-4.
34. Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J*. 1977;143(11):359-67.
35. Ahmad M, Ford TRP. Ultrasonic Debridement of Root Canals - an Insight into the Mechanisms Involved. *J Endodont*. 1987;13(3):93-101.
36. van der Sluis L. Die passive Ultraschallspülung des Wurzelkanalsystems. *Endodontie*. 2006;2.

37. Barrette Jr WC, Hannum DM, Wheeler WD, Hurst JK. General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Biochemistry*. 1989;28(23):9172-8.
38. McKenna SM, Davies K. The inhibition of bacterial growth by hypochlorous acid. Possible role in the bactericidal activity of phagocytes. *Biochemical Journal*. 1988;254(3):685-92.
39. 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;31(9):669-71.
40. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;97(1):79-84.
41. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389-98.
42. Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D. Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *J Endod*. 2001;27(4):278-80.
43. 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;36(6):856-71.
44. Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod*. 2001;27(12):753-7.
45. 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;33(2):126-31.

46. Darouiche RO, Wall MJ, Itani KMF, Otterson MF, Webb AL, Carrick MM, Miller HJ, Awad SS, Crosby CT, Mosier MC, AlSharif A, Berger DH. Chlorhexidine-Alcohol versus Povidone-Iodine for Surgical-Site Antisepsis. *New Engl J Med.* 2010;362(1):18-26.
47. Yildirim V. Chlorhexidindigluconat–Historie, Wirkmechanismus und Risiken.
48. Hugo W, Longworth A. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 1964;16(10):655-62.
49. Hennessey TD. Some Antibacterial Properties of Chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1973:61-7.
50. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endodont.* 2006;32(5):389-98.
51. Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J.* 2013;24(2):89-102.
52. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod.* 2000;26(6):315-7.
53. Schäfer E, Bößmann K. Antimikrobielle Wirksamkeit von Chlorxylenol und Chlorhexidin zur Behandlung von infizierten Wurzelkanälen. *Dtsch Zahnärztl.* 2000(55):671-9.
54. 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 Endodont.* 2004;30(9):653-7.
55. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res.* 2007;86(1):90-4.

56. Erdemir A, Ari H, Gungunes H, Belli S. Effect of medications for root canal treatment on bonding to root canal dentin. *J Endodont.* 2004;30(2):113-6.
57. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endodont.* 2004;30(11):785-7.
58. 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;34(3):184-8.
59. Nygaard OB. Chelation in root canal therapy. *Odon Tidskrift.* 1957;65:3-11.
60. Perez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, Gonzalez-Rodriguez MP, Martin-Peinado FJ, Gonzalez-Lopez S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J.* 2008;41(5):418-23.
61. Herrera DR, Santos ZT, Tay LY, Silva EJ, Loguercio AD, Gomes BP. Efficacy of different final irrigant activation protocols on smear layer removal by EDTA and citric acid. *Microsc Res Tech.* 2013;76(4):364-9.
62. O'Connell MS, Morgan LA, Beeler WJ, Baumgartner JC. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endodont.* 2000;26(12):739-43.
63. Baumgartner JC, Ibay AC. The Chemical-Reactions of Irrigants Used for Root-Canal Debridement. *J Endodont.* 1987;13(2):47-51.
64. Frithjof R, Östby BN. Effect of edtac and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* 1963;16(2):199-205.
65. Hottel TL, El-Refai NY, Jones JJ. A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. *J Endodont.* 1999;25(11):716-7.

66. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MHP. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J*. 2006;39(5):401-7.
67. Rizvi A, Zafar MS, Farid WM, Gazal G. Assessment of antimicrobial efficacy of MTAD, sodium hypochlorite, EDTA and chlorhexidine for endodontic applications: An in vitro study. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2014;21(2):353-7.
68. Barroso LD, Habitante SM, Jorge AOC, Faria ID. Microorganisms growth in endodontic citric-acid solutions with and without microbiological stabilizer. *J Endodont*. 2004;30(1):42-4.
69. Murray PE, Farber RM, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. Evaluation of *Morinda citrifolia* as an endodontic irrigant. *J Endodont*. 2008;34(1):66-70.
70. Ohara P, Torabinejad M, Kettering JD. Antibacterial Effects of Various Endodontic Irrigants on Selected Anaerobic-Bacteria. *Endod Dent Traumatol*. 1993;9(3):95-100.
71. Thomas SJ, Eleazer PD. Aerotolerance of an endodontic pathogen. *J Endodont*. 2003;29(10):644-5.
72. Ari H, Erdemir A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. *J Endod*. 2005;31(3):187-9.
73. Safavi KE, Spngberg LS, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endodont*. 1990;16(5):207-10.
74. Law A, Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. *J Endodont*. 2004;30(10):689-94.
75. Hulsmann M, Rodig T. Probleme der Desinfektion des Wurzelkanalsystems. Berlin, Quintessenz Publ. 2007.

76. Barthel C, Flachsenberg S, Georgi M, Hülsmann M, Kockapan C, Neuber C, Petschelt A, Schäfer E, Weiger R. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK: Wurzelkanalspülungen. Dtsch Zahnärztl. 2006(61):510-7.
77. Soukos NS, Chen PSY, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. J Endodont. 2006;32(10):979-84.
78. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ. Antibacterial action of photoactivated disinfection {PAD} used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. Journal of Dentistry. 2006;34(6):363-71.
79. Garcez AS, Nunez SC, Lage-Marques JL, Jorge AOC, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of Enterococcus faecalis in vitro. Oral Surg Oral Med O. 2006;102(4):E93-E8.
80. Kashef N, Ravaei Sharif Abadi G, Djavid GE. Photodynamic inactivation of primary human fibroblasts by methylene blue and toluidine blue O. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2012;9(4):355-8.
81. Busch M, Haak R, Jentsch H. Antibakterielle photodynamische Therapie im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung. ZWR-Das Deutsche Zahnärzteblatt. 2011;120(10):508-13.
82. Neugebauer J, Karapetian V, Kübler A, Zöller J. Die antimikrobielle photodynamische Periimplantitistherapie. Implantologie Journal. 2004;6:16-20.
83. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. J Dent Res. 2007;86(8):694-707.

84. Turhani D, Scheriau M, Kapral D, Benesch T, Jonke E, Bantleon HP. Pain relief by single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance therapy. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2006;130(3):371-7.
85. Chiniforush N, Pourhajibagher M, Shahabi S, Kosarieh E, Bahador A. Can antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) enhance the endodontic treatment? *Journal of lasers in medical sciences*. 2016;7(2):76.
86. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*. 2002;93(2):155-60.
87. der DGZMK WS. der DGZ: Good clinical practice. Die Wurzelkanalbehandlung *Dtsch Zahnärztl*. 2005(60):8.
88. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, Pagonis TC, Kent R, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Laser Surg Med*. 2007;39(10):782-7.
89. Langmuir I. Oscillations in ionized gases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1928;14(8):627.
90. Gurnett DA, Bhattacharjee A. *Introduction to plasma physics: with space, laboratory and astrophysical applications*: Cambridge University Press; 2017.
91. Cravens TE. *Physics of solar system plasmas*: Cambridge University Press; 2004.
92. Hoffmann C, Berganza C, Zhang J. *Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology*. *Med Gas Res*. 2013;3(1):21.

93. Haertel B, von Woedtke T, Weltmann KD, Lindequist U. Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma Possible Application in Wound Healing. *Biomol Ther.* 2014;22(6):477-90.
94. Kelly-Wintenberg K, Hodge A, Montie TC, Deleanu L, Sherman D, Roth JR, Tsai P, Wadsworth L. Use of a one atmosphere uniform glow discharge plasma to kill a broad spectrum of microorganisms. *J Vac Sci Technol A.* 1999;17(4):1539-44.
95. Kisch T, Helmke A, Schleusser S, Song J, Liadaki E, Stang FH, Mailaender P, Kraemer R. Improvement of cutaneous microcirculation by cold atmospheric plasma (CAP): Results of a controlled, prospective cohort study. *Microvasc Res.* 2016;104:55-62.
96. Emmert S, Brehmer F, Hänßle H, Helmke A, Mertens N, Ahmed R, Simon D, Wandke D, Maus-Friedrichs W, Däschlein G. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clinical Plasma Medicine.* 2013;1(1):24-9.
97. Lee JH, Om JY, Kim YH, Kim KM, Choi EH, Kim KN. Selective Killing Effects of Cold Atmospheric Pressure Plasma with NO Induced Dysfunction of Epidermal Growth Factor Receptor in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Plos One.* 2016;11(2).
98. Hasse S, Seebauer C, von Woedtke T, Metelmann H-R. Kaltes Plasma in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie.
99. Cha S, Park YS. Plasma in dentistry. *Clin Plasma Med.* 2014;2(1):4-10.
100. Abramzon N, Joaquin JC, Bray J, Brelles-Marino G. Biofilm destruction by RF high-pressure cold plasma jet. *IEEE T Plasma Sci.* 2006;34(4):1304-9.

101. Jiang C, Schaudinn C, Jaramillo DE, Webster P, Costerton JW. In Vitro Antimicrobial Effect of a Cold Plasma Jet against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *ISRN Dent.* 2012;2012:295736.
102. Jablonowski L, Koban I, Berg MH, Kindel E, Duske K, Schroder K, Weltmann KD, Kocher T. Elimination of *E. Faecalis* by a New Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Handheld Device for Endodontic Treatment. A Preliminary Investigation. *Plasma Process Polym.* 2013;10(6):499-505.
103. Mohammadzade Akhlaghi N, Khalilak Z, Baradaran Mohajeri L, Sheikholeslami M, Saedi S. Comparison of Canal Preparation Pattern of K3 and ProTaper Rotary Files in Curved Resin Blocks. *Iran Endod J.* 2008;3(2):11-6.
104. van der Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J.* 2005;38(9):593-6.
105. Brown G, Bridgewater A. *Praxisbuch Holz: Techniken, Werkzeuge, Projekte:* Dorling Kindersley; 2010.
106. Ballout H, Hertel M, Doehring J, Kostka E, Hartwig S, Paris S, Preissner S. Effects of plasma jet, dielectric barrier discharge, photodynamic therapy and sodium hypochlorite on infected curved root canals. *J Biophotonics.* 2018;11(3).
107. Bjorndal AM, Henderson WG, Skidmore AE, Kellner FH. Anatomic measurements of human teeth extracted from males between the ages of 17 and 21 years. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974;38(5):791-803.
108. Shen Y, Stojcic S, Haapasalo M. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine against Bacteria in Biofilms at Different Stages of Development. *J Endodont.* 2011;37(5):657-61.

109. de Castro FP, Pinheiro SL, Duarte MA, Duque JA, Fernandes SL, Anchieta RB, da Silveira Bueno CE. Effect of time and ultrasonic activation on ethylenediaminetetraacetic acid on smear layer removal of the root canal. *Microsc Res Tech.* 2016;79(11):1062-8.
110. Jiang LM, Verhaagen B, Versluis M, van der Sluis LW. Evaluation of a sonic device designed to activate irrigant in the root canal. *J Endod.* 2010;36(1):143-6.
111. de Gregorio C, Estevez R, Cisneros R, Paranjpe A, Cohenca N. Efficacy of Different Irrigation and Activation Systems on the Penetration of Sodium Hypochlorite into Simulated Lateral Canals and up to Working Length: An In Vitro Study. *J Endodont.* 2010;36(7):1216-21.
112. Pan J, Sun K, Liang Y, Sun P, Yang X, Wang J, Zhang J, Zhu W, Fang J, Becker KH. Cold plasma therapy of a tooth root canal infected with enterococcus faecalis biofilms in vitro. *J Endod.* 2013;39(1):105-10.
113. Lehmann A, Pietag F, Arnold T. Human health risk evaluation of a microwave-driven atmospheric plasma jet as medical device. *Clinical Plasma Medicine.* 2017;7-8:16-23.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Jonas Doehring, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Untersuchung zur Effektivität unterschiedlicher Plasmaquellen im Wurzelkanalmodell mit standardisierter Krümmung / Antimicrobial efficacy of different plasma sources in standardized curved root canals selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Jonas Doehring hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Ballout, H., M. Hertel, J. Doehring, E. Kostka, S. Hartwig, S. Paris and S. Preissner (2018). "Effects of plasma jet, dielectric barrier discharge, photodynamic therapy and sodium hypochlorite on infected curved root canals." J Biophotonics **11**(3).

Beitrag im Einzelnen: Planung und Durchführung der Laborversuche samt Herstellung eines Wurzelkanalmodells mit standardisierter Krümmung, Infektion und Desinfektion der Wurzelkanäle, Beschreibung der zugrundeliegenden Methodik korrespondierend zu Abschnitt 2 „Materials and Methods“

Assistenz bei der statistischen Auswertung, aus der „Figure 1“ hervorgeht

Assistenz bei der Erstellung der REM-Aufnahmen sowie der Bildauswahl korrespondierend zu „Figure 2“

Lebenslauf Jonas Doehring

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

Publikationsliste

Der Autor ist an folgenden Publikationen beteiligt:

Ballout, H., M. Hertel, J. Doehring, E. Kostka, S. Hartwig, S. Paris and S. Preissner (2018). "Effects of plasma jet, dielectric barrier discharge, photodynamic therapy and sodium hypochlorite on infected curved root canals." J Biophotonics **11**(3).

Danksagung

Ich danke:

Frau PD Dr. Saskia Preißner für die Überlassung des Themas für diese Promotionsarbeit sowie Herrn PD Dr. Moritz Hertel für die Übernahme der Betreuung.

Frau Julia Schwill-Engelhardt, Herrn Husam Ballout und Herrn Wei-Long Chen für die gute Zusammenarbeit und gegenseitige Motivation.

Frau Carola Schweynoch und Herrn Rainer Toll für die interessante und lehrreiche Zeit im Labor.

Herrn Dipl.-Biol. Dr. Herbert Renz für die Unterstützung bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Aarhus Tandlægeskole. Dr. Oliver Allemann. Johannes Ihbe. Sarah Klaes. Liane Lehmann. Daniel Martens. Familie Mattern. Lennert Pasberg. Daniel Richter. Simon Schröter. Robert Tetschke.

Herrn Malte Wulf für seine wertvollen, unerreichbaren Kenntnisse der deutschen Sprache.

Frau Sophia Strack, die mich bei der Arbeit an diesem Forschungsprojekt, von den ersten Ideen bis hin zur Fertigstellung, begleitet hat.

Meinen Eltern Gabriele und Hans-Christian Doehring sowie meinen Schwestern Rahel und Caroline und insbesondere meinem Bruder Dr. med. Claudius Doehring für alle Unterstützung.

Gott.