

Aus dem Institut für Hygiene der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
(Direktorin: Prof. Dr. med. habil. Marianne Borneff-Lipp)

**Entwicklung eines Prüfsystems zur Bakteriendurchlässigkeit von
Wurzelkanalfüllmaterialien**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Rita Pollak

geboren am 02.06.1980 in Halle (Saale)

Gutachter:

1. Prof. Dr. Marianne Borneff-Lipp
2. Prof. Dr. H.-G. Schaller
3. Prof. Dr. Andrej Michael Kielbassa

Eröffnungsdatum: 02.11.2010

Verteidigungsdatum: 27.04.2011

Referat

Die bakterielle Reinfektion und Penetration nach Wurzelkanalfüllungen ist ein großes Problem der Endodontie. Bisher stehen keine adäquaten *in vitro*-Testsysteme zur Qualitätsbeurteilung der Wurzelkanalfüllung und dafür benötigte Materialien zur Verfügung. Das Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines Testsystems zur Bestimmung der Bakterienpermeabilität von Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden.

Das Testsystem besteht aus zwei voneinander getrennten Kammern. Beide Kammern wurden mit Trypticase Soja Bouillon als Nährmedium gefüllt. Zur Kontamination wurde das fakultativ anaerobe Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* (PA O1) mit einer Anfangskonzentration von 1×10^7 KBE/ml in die obere Kammer gegeben. Um die Funktionsfähigkeit des Testsystems zu prüfen, wurden 38 kariesfreie, unrestaurierte Frontzähne gereinigt, trepaniert, maschinell wurzelkanalbehandelt und autoklaviert. Die Wurzelkanäle wurden mit Guttapercha, Guttapercha und AH Plus™, sowie Guttapercha und EndoREZ® gefüllt. Die beiden Kammern wurden durch Impregum™ miteinander verbunden. Zwischen den Kammern wurde der Zahn ebenfalls mit Impregum™ fixiert. Die Zahnkrone befand sich dabei in der oberen Kammer, die Wurzelspitze in der unteren Kammer. Die Durchlässigkeitskontrollen wurden mit trepanierten und wurzelbehandelten, aber ungefüllten Zähnen durchgeführt. Für die Dichtigkeitskontrollen wurden unbehandelte Zähne verwendet. Zur Überprüfung auf Fremdkontamination wurden Versuchskörper mit trepanierten Zähnen ohne Zugabe von *P. aeruginosa* verwendet. Die Testkörper wurden für 48 Tage bei 37°C inkubiert. Die Bakterienbestimmung wurde quantitativ und qualitativ durchgeführt.

Bei allen 38 Testkörpern blieben nach 48 Tagen die obere und untere Testkammer hermetisch voneinander abgeschlossen. Alle Versuchskörper der Durchlässigkeitskontrollen waren für *P. aeruginosa* durchlässig. Für alle Versuchskörper der Dichtigkeitskontrollen konnte kein Bakterienwachstum in der unteren Kammer festgestellt werden. 83% der Guttapercha-Gruppe waren bereits nach einem Tag durchlässig für *P. aeruginosa*. 67% der Guttapercha-AH Plus™-Gruppe und 50% der Guttapercha-EndoREZ®-Gruppe waren erst nach 48 Tagen bakteriendurchlässig.

Das im Rahmen einer Pilotstudie entwickelte Testsystem erfüllt die Anforderungen zur Bestimmung der Bakterienpermeabilität von Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden in mikrobiologischer, hygienischer und zahnmedizinischer Hinsicht. Es eignet sich zur Simulation der Verhältnisse in der Mundhöhle und damit zur Durchführung von Langzeitversuchen zu Wurzelkanalfüllmaterialien, -methoden und prothetischen Versorgung.

Bibliographische Angaben: Pollak, Rita: Entwicklung eines Prüfsystems zur Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien. Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss. , 67 Seiten, 2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Endodontie als Teilbereich der Zahnmedizin	1
1.2	Problematik in der Endodontie unter dem Aspekt der chronischen apikalen Parodontitis	1
1.3	Erfolgsquoten der endodontischen Therapie	3
1.4	Endodontische Therapie	4
1.4.1	Mechanische Wurzelkanalaufbereitung	6
1.4.2	Wurzelkanalspülungen und medikamentöse Einlagen	7
1.5	Wurzelkanalfüllung	7
1.5.1	Wurzelkanalfüllmaterialien	8
1.5.2	Möglichkeiten der Wurzelkanalfüllung	8
1.6	Testsysteme zur Überprüfung von Wurzelkanalfüllmaterialien und Wurzelkanalfüllmethoden	9
1.6.1	Testsystem zur Langzeitüberprüfung der Bakteriendurchlässigkeit von temporären und adhäsiven Füllmaterialien nach Wurzelfüllung	10
1.6.2	Testsystem zur Überprüfung der Durchlässigkeit für Pilze und Bakterien von AH Plus und AH 26	11
1.6.3	Testsystem zur Überprüfung der Bakterienpenetration durch Kanäle endodontisch behandelter Zähne in Anwesenheit und Abwesenheit des Smear Layers	12
1.6.4	Testsystem zur Überprüfung der Dichtigkeit verschiedener Obturationstechniken bei ovalen Wurzelkanälen	13
2	Zielsetzung	14
3	Material und Methoden	15
3.1	Zähne als Bestandteil der Versuchskörper	15
3.1.1	Reinigung und Trepanation der Zähne	15
3.1.2	Maschinelle Wurzelkanalaufbereitung der Zähne mit dem FlexMaster®-System	16
3.1.3	Spülung und Sterilisation der Zähne	17

3.2	Versuchsgruppen	18
3.3	Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der verwendeten Materialien	19
3.4.	Wurzelkanalfüllung der Zähne	19
3.4.1	Trocknung der Zähne	20
3.4.2	Wurzelkanalfüllung mit Guttapercha	21
3.4.3	Sealer als Versiegler der Wurzelkanalfüllung	22
3.4.4	Ablauf der Wurzelkanalfüllung	24
3.5	Herstellung des Testsystems zur Prüfung der bakteriellen Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien	25
3.5.1	Versuchsgläser als Komponenten des Testsystems	25
3.5.2	Impregum™ Penta™ H DuoSoft™ Quick zur Fixierung der Zähne im Testsystem	27
3.5.3	Pattern Resin LS zur Stabilisierung des Testsystems	27
3.5.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> als parodontitisrelevantes Testbakterium	28
3.6	Versuchskörper und Vorversuche	30
3.7	Inkubation der Testsysteme	31
3.8	Mikrobiologische Nachweisverfahren	32
3.8.1	Qualitatives Nachweisverfahren	32
3.8.2	Quantitatives Nachweisverfahren	32
3.9	Statistische Auswertung	33
4	Ergebnisse	34
4.1	Der entwickelte Prüfkörper zur Bestimmung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien <i>in vitro</i>	34
4.2	Stabilisierung des Testsystems	35
4.3	Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der Testmaterialien	35
4.4	Anwendbarkeit des Testsystems	36
4.5	Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit einem qualitativen Nachweisverfahren	37
4.5.1	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha in Kombination mit lateraler Kondensation	38

4.5.2	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer AH Plus™ in Kombination mit lateraler Kondensation	39
4.5.3	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer EndoREZ® in Kombination mit lateraler Kondensation	40
4.6	Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit einem quantitativen Nachweisverfahren	41
4.6.1	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha in Kombination mit lateraler Kondensation	41
4.6.2	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer AH Plus™ in Kombination mit lateraler Kondensation	41
4.6.3	Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer EndoREZ® in Kombination mit lateraler Kondensation	41
5	Diskussion	43
5.1	Bisherige Testsysteme	43
5.2	Vergleich des in dieser Pilotstudie entwickelten Testsystems mit vorhandenen Systemen	43
5.3	Aufbau des Testsystems	45
5.3.1	Vereinheitlichung und Stabilisierung	45
5.3.2	Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der verwendeten Testmaterialien	46
5.4	Anforderungen und Anwendbarkeit des Testsystems	46
5.4.1	Hygienische Anforderungen	46
5.4.2	Mikrobiologische Anforderungen	47
5.4.3	Zahnmedizinische Anforderungen	47
5.5	Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit unterschiedlichen Wurzelkanalfüllmaterialien	48
5.5.1	Auswahl der Wurzelkanalfüllmaterialien	48
5.5.2	Bakteriendurchlässigkeit der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien	49
5.6	Vergleich qualitativer und quantitativer Nachweisverfahren	50
5.7	Anwendungsmöglichkeiten	51
6	Schlussfolgerungen	52

7	Zusammenfassung	53
8	Literatur	56
9	Eigene Veröffentlichungen	64
9.1	Publikationen	64
9.2	Wissenschaftliche Preise	64
9.3	Zitierfähige Abstracts	64
9.4	Poster	64
10	Thesen	65

Lebenslauf

Selbständigkeitserklärung

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Danksagung

Abkürzungsverzeichnis

&	Et-Zeichen
±	plusminus
%	Prozent
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
AG	Aktiengesellschaft
α	Alpha
Art.	Artikel
β	Beta
BHI	Brain Heart Infusion broth
Ca(OH) ₂	Kalziumhydroxid
°C	Grad Celsius
CHX	Chlorhexidingluconat
Co.	Compagnie
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
et al.	et alii (Maskulinum), et aliae (Femininum), et alia (Neutrum)
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
HBSS	Hanks balanced salt solution
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
ISO	Internationale Organisation für Normung
KBE	Koloniebildende Einheiten
KG	Kommanditgesellschaft
kHz	Kilohertz
KZBV	Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung
ml	Milliliter
mm	Millimeter
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalz
NaOCl	Natriumhypochlorid
NiTi	Nickel-Titan-Legierung
nm	Nanometer
Nr.	Nummer
OD	optische Dichte
<i>P.</i>	<i>Pseudomonas</i>

pH	potentia Hydrogenii
PTFE	Polytetrafluorethylen
®	Registered-Trademark-Zeichen
<i>spp.</i>	<i>species pluralis</i>
Tab.	Tabelle
™	Registered-Trademark-Zeichen im angloamerikanischen Sprachraum
TSB	Tryptone soy broth (Trypticase Soja Bouillon)
UDMA	Urethan-Dimethylacrylat
U/min	Umdrehung pro Minute
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Endodontie als Teilbereich der Zahnmedizin

Die Endodontie ist ein eigenständiger Teilbereich der Zahnheilkunde, der sich schwerpunktmäßig mit Erkrankungen der Pulpa-Dentin-Einheit und des periapikalen Gewebes beschäftigt [Friedmann und Mor, 2004]. Dazu gehören akute oder chronische Entzündungen des Zahnmarks (Blut- und Lymphgefäße, Nerven und Bindegewebe) oder des Zahnhalteapparates (Parodontium) als Folge einer endodontischen Erkrankung [European Society of Endodontology, 2006].

In den letzten Jahrzehnten hat dieser Bereich der Zahnmedizin eine merkliche Weiterentwicklung erfahren. Hierfür kann das gesteigerte Gesundheits- und Ästhetikempfinden in der heutigen Gesellschaft, die Zunahme der Bedeutung der Prophylaxetätigkeit in der Zahnarztpraxis und die Fortschritte der Behandlungskonzepte verantwortlich gemacht werden [Hugoson et al., 1986; Klimek et al., 1995].

Endodontische Therapiemaßnahmen spielen eine zentrale Rolle beim Erhalt extraktionsgefährdeter Zähne [Friedmann et al., 1995]. Vergleicht man die Zahl der wurzelkanalbehandelten Zähne und der Extraktionsrate von 1970 (alte Bundesländer) mit den Werten von 2001, wird diese Bedeutung der Endodontie verdeutlicht. So lässt sich ein Rückgang der Extraktionen von 17,186 Millionen auf 11,659 Millionen um mehr als ein Drittel verzeichnen. Dahingegen ist die Zahl der Wurzelkanalfüllungen von 3,165 Millionen auf 6,833 Millionen gestiegen und hat sich somit mehr als verdoppelt [KZBV-Jahrbuch, 2002]. Mit dem wachsenden Gesundheitsempfinden und dem Wunsch nach Erhalt der eigenen Zahnschubstanz steigen die Anforderungen an die Materialien und Methoden der Wurzelkanalbehandlung [American Dental Association, 1994]. Zudem spielen auch finanzielle Aspekte eine Rolle, da der Zahnerhalt günstiger ist als ein Zahnersatz [Iqbal und Kim; 2008].

1.2 Problematik in der Endodontie unter dem Aspekt der chronischen apikalen Parodontitis

Trotz aller Bemühungen kann eine absolute Freiheit von Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem nicht erreicht werden [Siqueira, 2001]. Eine insuffiziente Wurzelkanalfüllung oder ein ungenügender definitiver Verschluss der Zugangskavität kann zu einer Reinfektion des Wurzelkanalsystems sowie des apikalen Parodonts führen [Sjögren et al., 1997]. Durch die dadurch mögliche Substratzufuhr (Mikroleakage) können die im Kanalsystem verbliebenen Bakterien überleben und sich vermehren. Es kommt zu einer Parodontitis apicalis [Bystrom und Sundqvist, 1981]. Die Parodontitis apicalis ist eine

Entzündung des Gewebes im apikalen Bereich eines Zahns. Diese kann zu einer Resorption des apikalen Knochens (Abb. 1) sowie zur reaktiven Bildung eines Granuloms oder zu einer Zyste führen [Hellwig et al., 2003]. Meist geht einer Parodontitis apicalis eine unbehandelte entzündliche Erkrankung der Pulpa voraus. Weitere Ursachen können Traumen, Parodontopathien oder endodontische Behandlungsmaßnahmen sein. Somit stellt die Parodontitis apicalis eine Folge einer Pulpitis beziehungsweise einer bakteriellen Besiedlung des Wurzelkanals dar. Da im Bereich der Wurzelspitze sauerstoffarme Verhältnisse vorliegen, sind bei der Parodontitis apicalis fakultativ anaerob metabolisierende Mikroorganismen zu finden [Hellwig et al., 2003].

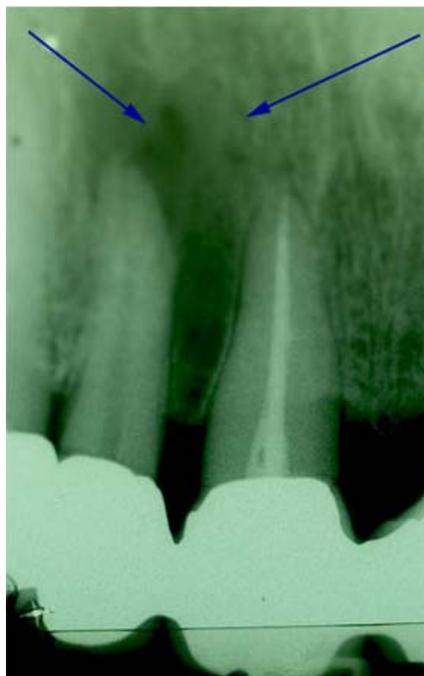


Abbildung 1: Röntgenaufnahme einer Parodontitis apicalis

Als Erreger der sekundären und persistierenden Infektionen nach Wurzelkanalbehandlungen kommen *Enterococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, Propionibakterien, *Candida spp.* und *Pseudomonas aeruginosa* in Frage [Siqueira, 2002].

Apikale Parodontitiden treten in unterschiedlichen Formen auf, z.B. als Parodontitis apicalis acuta, Parodontitis apicalis chronica mit Granulom- oder Zystenbildung sowie als chronischer oder akuter apikaler Abszess [Hellwig et al., 2003].

1.3 Erfolgsquoten der endodontischen Therapie

Eine Wurzelkanalbehandlung ist erfolgreich, wenn vier Jahre nach Therapieabschluss keine klinischen Symptome oder radiologischen Veränderungen festzustellen sind [Werner et al., 2001]. Es lassen sich drei Kategorien als Basis für die Zuordnung Erfolg/ Misserfolg definieren.

Die erste Kategorie beschreibt die vollständige Heilung. Es wird von einer vollständigen Heilung gesprochen, wenn klinische Symptommfreiheit und ein radiologisch durchgehend verfolgbare Parodontalspalt in normaler Breite vorliegt.

In der zweiten Kategorie wird die unvollständige Heilung definiert. Es besteht klinische Symptommfreiheit mit einer radiologisch messbaren Verkleinerung der endodontisch bedingten Läsion.

Die dritte Kategorie beschreibt das Ausbleiben einer Heilung. Es bestehen klinische Symptome einer endodontisch bedingten Parodontitis sowie keine radiologisch nachweisbare Verkleinerung der endodontisch bedingten Läsion und radiologisch erfassbare, externe progressive Resorptionen [European Society of Endodontology, 2006].

Die Erfolgsraten weisen eine enorme Spanne von 7% bis 97% auf [Allen, 1989]. Die Hauptursachen für endodontische Misserfolge liegen in der unvollständigen Aufbereitung der Wurzelkanäle und in insuffizienten Wurzelkanalfüllungen. Dabei konnte eine Misserfolgsrate bei insuffizienten Wurzelkanalfüllungen von 61,5% in den Untersuchungen von Ingle und Bakland (1994) festgestellt werden. Umso wichtiger ist es, Materialien zu entwickeln, die möglichst umfassend die Anforderungen für eine erfolgreiche Wurzelkanalbehandlung erfüllen und einen dauerhaften und dichten Verschluss der Wurzelkanäle gewährleisten. Dadurch kann die Gefahr einer Reinfektion des Parodonts und somit das Extraktionsrisiko minimiert werden [Weiger et al., 2001].

Obwohl die Vorgehensweise während einer Wurzelkanalbehandlung standardisiert ist und eine lange Behandlungserfahrung der Methoden und Materialien vorliegt, variieren die Erfolgsquoten [Sjögren et al., 1990; Friedmann et al., 1995; Weiger et al., 1997; Ridell et al., 2006]. Über 50% der in Studien untersuchten Wurzelkanalfüllungen werden als insuffizient hinsichtlich Homogenität, Blasenfreiheit, überpresstes Füllmaterial und Vollständigkeit der Füllung auf die gesamte Arbeitslänge eingestuft [Hülsmann, 1991].

Voraussetzung einer erfolgreichen Wurzelkanalbehandlung ist ein dichter Verschluss der Wurzelkanalsysteme über die gesamte Wurzelkanallänge und die Beseitigung von Bakterien und bakteriell infizierter Zahnschichten [Peters, 2004]. Grundlage einer dichten

Wurzelkanalfüllung ist eine optimale Adaptation an die Kanalwand, sowie blasenfreies Applizieren des Füllmaterials, dadurch wird Raum für erneutes Bakterienwachstum verhindert [Kersten und Moorer, 1989]. Zur Vermeidung einer Bakterieninvasion und folgender Reinfektion ist ein dichter apikaler Verschluss zum periapikalen Gewebe wichtig [European Society of Endodontology, 2006].

1.4 Endodontische Therapie

Um erkranktes Pulpagewebe zu entfernen, müssen die Wurzelkanäle aufbereitet werden. Durch die mechanische Erweiterung der Wurzelkanäle wird ein großer Anteil der Bakterien reduziert. Voraussetzung ist die Beseitigung der Ursache, wie z.B. eine vorliegende Karies. Erst dann kann der Zahn trepaniert werden. Dieser Vorgang soll unter absoluter Trockenlegung durchgeführt werden. Dafür wird vor der Trepanation ein Gummituch (Kofferdam) angelegt, um den Zahn von der Mundhöhle abzugrenzen und eine Infektion durch die orale Bakterienflora zu verhindern [Ahlberg et al., 1994; Ahmad, 2009; Städtler, 1994] (Abb.2).



Abbildung 2: Kofferdam an Zahn 45 bis 47

Nach der Trepanation und Entfernung des Pulpagewebes muss die Arbeitslänge zur Wurzelkanalaufbereitung bestimmt werden, um Verletzungen oder Infektionen des periapikalen Gewebes durch Überinstrumentieren zu verhindern. Die Arbeitslänge wird entweder nur durch die Röntgenmessmethode oder in Kombination mit der elektronischen Endometrie ermittelt. Eine Messaufnahme gibt Aufschluss über die inneren Strukturen des

Zahnes und zeigt eventuell versteckte Wurzelkanäle oder untypische Hohlräume auf. Für die Röntgenmessaufnahme wird ein entsprechendes Aufbereitungsinstrument in den Wurzelkanal geführt und damit geröntgt [Rodig et al., 2002] (Abb.3).

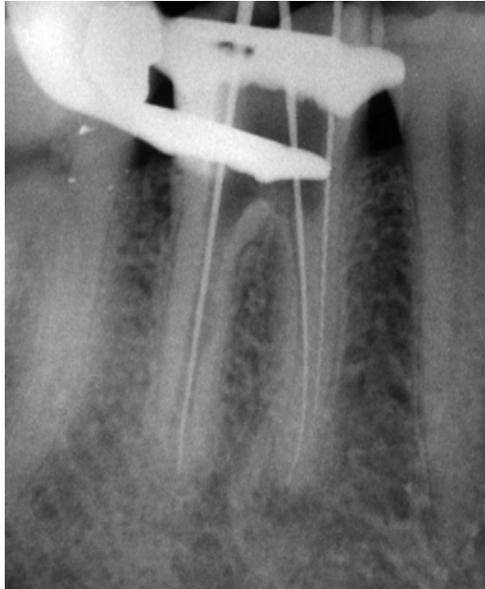


Abbildung 3: Röntgenmessaufnahme

Der physiologische Apex und die apikale Konstriktion können röntgenologisch nicht dargestellt werden, deshalb wird die Aufbereitungslänge so gewählt, dass sie ca. 0,5 bis 1 mm vor dem röntgenologischen Apex endet [Abb. 4].

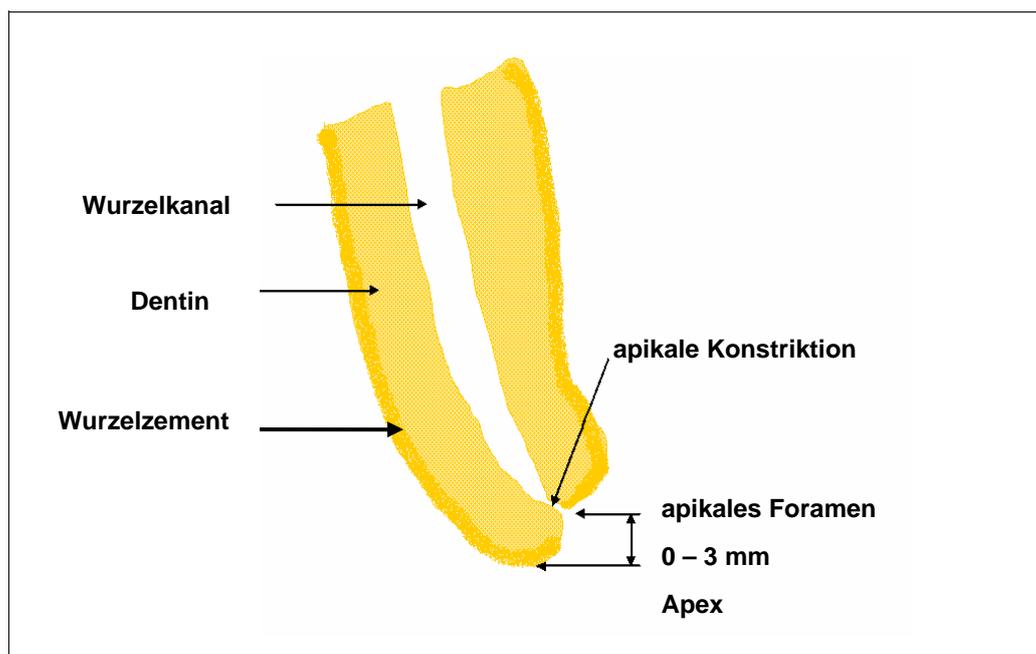


Abbildung 4: Foramen apikale und röntgenologischer Apex

1.4.1 Mechanische Wurzelkanalaufbereitung

Die mechanische Aufbereitung erfolgt nach der Arbeitslängenbestimmung. Dabei werden die manuelle und die maschinelle Aufbereitungsmethode unterschieden. Zusätzlich werden unterschiedliche Aufbereitungstechniken hinsichtlich des Vorgehens differenziert. Somit wird die Präparation entweder im apikalen oder im koronalen Drittel begonnen. Während der Wurzelkanalaufbereitung muss darauf geachtet werden, dass der Verlauf der natürlichen Wurzelanatomie folgt, da sonst eine Seite des Kanals zu stark geschwächt werden kann. Ziel ist es, eine dreidimensionale Form des Kanals zu erhalten [Schilder, 1974; Hülsmann et al., 2001].

Manuelle Aufbereitungsmethoden werden anhand verwendeter Instrumente, nach der Vorgehensart oder nach der angestrebten Wurzelkanalform unterschieden. Von den Instrumenten ausgehend, wird die Räummethode, unter Verwendung von Reamern (Erweiterer), und die Feilmethode unterschieden. Nach Art des Vorgehens werden die Methoden in zwei Gruppen unterteilt. Bei der apikal-koronalen Methode wird der Wurzelkanal nach der Ermittlung der Arbeitslänge mit zunehmenden Instrumentengrößen von apikal nach koronal konisch aufbereitet. Dazu zählen die konventionelle Technik und die „step-back“-Technik. Bei der koronal-apikalen Methode wird zuerst der koronale Anteil des Wurzelkanals erweitert, dann die Arbeitslänge bestimmt und nach apikal konisch aufbereitet.

Bei der maschinellen Wurzelkanalaufbereitung werden Nickel-Titan-Instrumente mit unterschiedlichen ISO- und Taper-Größen verwendet. Dabei stehen Konizitäten von 2% (Taper: 02), 4% (Taper: 04) und 6% (Taper: 06) zur Verfügung. Positive physikalische Eigenschaften der Nickel-Titan-Legierung liegen im pseudoelastischen Verhalten. Dadurch können diese Instrumente zur maschinellen Wurzelkanalaufbereitung mit vollrotierenden Antriebshilfen verwendet werden. Zur zusätzlichen Minderung der Bruchgefahr werden drehmomentgesteuerte Winkelstücke empfohlen [Tepel, 1995; Camps und Petrot, 1994; Coleman et al. 1996].

Bei der maschinellen Aufbereitung mit unterschiedlichen Tapern wird die „crown-down-Technik“ eingesetzt. Dabei wird der Kanaleingang zu Beginn mit Instrumenten starker Konizität erweitert. Anschließend erfolgt die Aufbereitung der Arbeitslänge mit Instrumenten absteigender ISO-Größen bis zur Arbeitslänge. Ist die Arbeitslänge erreicht, erfolgt die Erweiterung des apikalen Abschnittes [Hülsmann et al., 2001].

1.4.2 Wurzelkanalspülungen und medikamentöse Einlagen

Um Verblockungen durch Debris und Dentinspäne im Wurzelkanal zu vermeiden sowie zur Reduktion der Mikroorganismen muss bei jeder Wurzelkanalaufbereitungsmethode mit desinfizierenden Lösungen gespült werden [European Society of Endodontology, 2006]. Besteht eine mikrobielle Besiedelung der Wurzelkanäle vor der Wurzelkanalfüllung, liegt für diese Zähne eine signifikant schlechtere Prognose vor, als für Zähne ohne Kontamination [Sjögren, 1997]. Aus diesem Grund muss neben der mechanischen Reinigung auch eine chemische Reinigung erfolgen. Die Spüllösungen werden abwechselnd und mehrmals zwischen den einzelnen Aufbereitungsschritten eingesetzt. Eine effiziente Spüllösung muss antimikrobiell, biologisch verträglich, gewebeauflösend und leicht zu applizieren sein. Zudem bildet eine geeignete Spüllösung eine Schmierschicht zur besseren Gleitfähigkeit der Aufbereitungsinstrumente. Im Wurzelkanal verbliebener Debris soll herausgespült werden [European Society of Endodontology, 2006]. Diese Anforderungen erfüllen unter anderem Natriumhypochlorid (NaOCl) [Bystrom und Sundqvist, 1985b] und Chlorhexidindigluconat (CHX) [Bystrom et al., 1985a; Grawehr et al., 2003].

Zur unterstützenden Behandlung der bakteriellen Besiedelung der Wurzelkanäle empfiehlt sich eine medikamentöse Einlage. Eine Einlagefüllung bietet eine zusätzliche Reduktion der Mikroorganismen des Wurzelkanals und des apikalen Parodonts [Tronstad et al., 1980, 1988]. Kalziumhydroxid (Ca(OH)_2) gilt bereits seit 1936 auf Grund der bakteriziden Wirkung als Mittel der Wahl [Hermann, 1920, 1936]. Ca(OH)_2 hat einen pH-Wert von 12,5. Es ist in der Lage, nekrotisches Gewebe aufzulösen [Hasselgren et al., 1988; Andersen et al., 1992; Türkün und Cengiz, 1997].

1.5 Wurzelkanalfüllung

Um eine Wurzelkanalbehandlung erfolgreich abzuschließen, müssen die Wurzelkanäle bakteriendicht gefüllt werden [European Society of Endodontology, 2006]. Ein Verschluss der Wurzelkanäle soll erst erfolgen, wenn eine Infektion auszuschließen ist, die Kanäle getrocknet werden können und der Zahn klinisch symptomfrei ist. Sind noch Bakterien im Kanalsystem oder im Bereich des apikalen Parodonts vorhanden, gehen sie durch einen dichten Verschluss zu Grunde, da die Nährstoffzufuhr gestoppt wird [Kersten und Moorer, 1989; Wu et al., 1993].

1.5.1 Wurzelkanalfüllmaterialien

Ein Wurzelkanalfüllmaterial soll biokompatibel, dimensionsstabil, undurchlässig und unlöslich sein. Zudem muss es hemmend auf das Bakterienwachstum wirken, einen dichten Verschluss des Kanalsystems bewirken, eine gute Haftung an der Zahnhartsubstanz aufweisen sowie revidierbar und röntgenopak sein [European Society of Endodontology, 2006].

Guttapercha ist das am weitesten verbreitete Mittel der Wahl. Es wird bei vielen Untersuchungen als Vergleichsmaterial eingesetzt, da es das bis heute am besten untersuchte Material für Wurzelkanalfüllungen ist [Baumgartner et al., 2007; Tay et al., 2005; Schäfer et al., 2007; Verissimo et al., 2007; Monticelli et al., 2007]. Die alleinige Anwendung von Guttapercha ist nicht ausreichend für eine erfolgreiche dichte Wurzelkanalfüllung, da kein Verbund mit der Wurzelkanalwand erreicht wird [Skinner und Van Himmel, 1987]. Es wird eine Kombination aus Guttapercha und einem Sealer empfohlen [Hata et al., 1995; Page et al., 1995; European Society of Endodontology, 2006]. Sealer sind Versiegler. Sie basieren auf Zinkoxid-Eugenol, Epoxidharz, Calciumhydroxid oder Glasionomermzement [Hellwig et al., 2003]. Der Sealer hat die Aufgabe, kleine Lücken zwischen Kanalwand und Guttapercha auszugleichen sowie akzessorische Wurzelkanäle und Dentintubuli zu verschließen [Tronstad et al., 1988; Weiger et al., 1995; De Deus et al., 2006a]. Die meisten Sealer unterliegen einer Resorption. Aus diesem Grund sollte die Sealerschicht zwischen Guttapercha und Kanalwand so dünn wie möglich gehalten werden, um Hohlräume nach Resorption zu vermeiden [Mutal und Gani, 2005]. Zusätzlich sind einige Sealer während ihrer Abbindephase nicht dimensionsstabil genug. Es kann zu einer Schrumpfung von mehr als 1% kommen. Das reicht aus, um einen Raum für Bakterien zu schaffen [Orstavik et al., 2001].

1.5.2 Laterale Kondensation

Die kalte laterale Kondensation von Guttapercha beschreibt die Standardtechnik der Wurzelkanalfüllung [Dummer et al., 1994; Gilhooly et al., 2000; Schäfer et al., 2007]. Dabei sollen möglichst viele Guttaperchastifte mit möglichst wenig Sealer den Wurzelkanal dicht füllen [Weine, 1996; Grossmann et al., 1988]. Der Masterpoint (Abb. 5) wird mit Sealer beschickt, in den Wurzelkanal auf Arbeitslänge eingeführt und mit einem Finger-Spreader seitlich an die Kanalwand gepresst. Anschließend werden weitere Guttaperchastifte eingeführt und kondensiert, bis der Wurzelkanal dicht gefüllt ist [Hellwig et al., 2003] (Abb. 5). Diese Methode gilt als die gegenwärtig am meisten akzeptierte und bekannteste Technik [Schäfer, 2000].

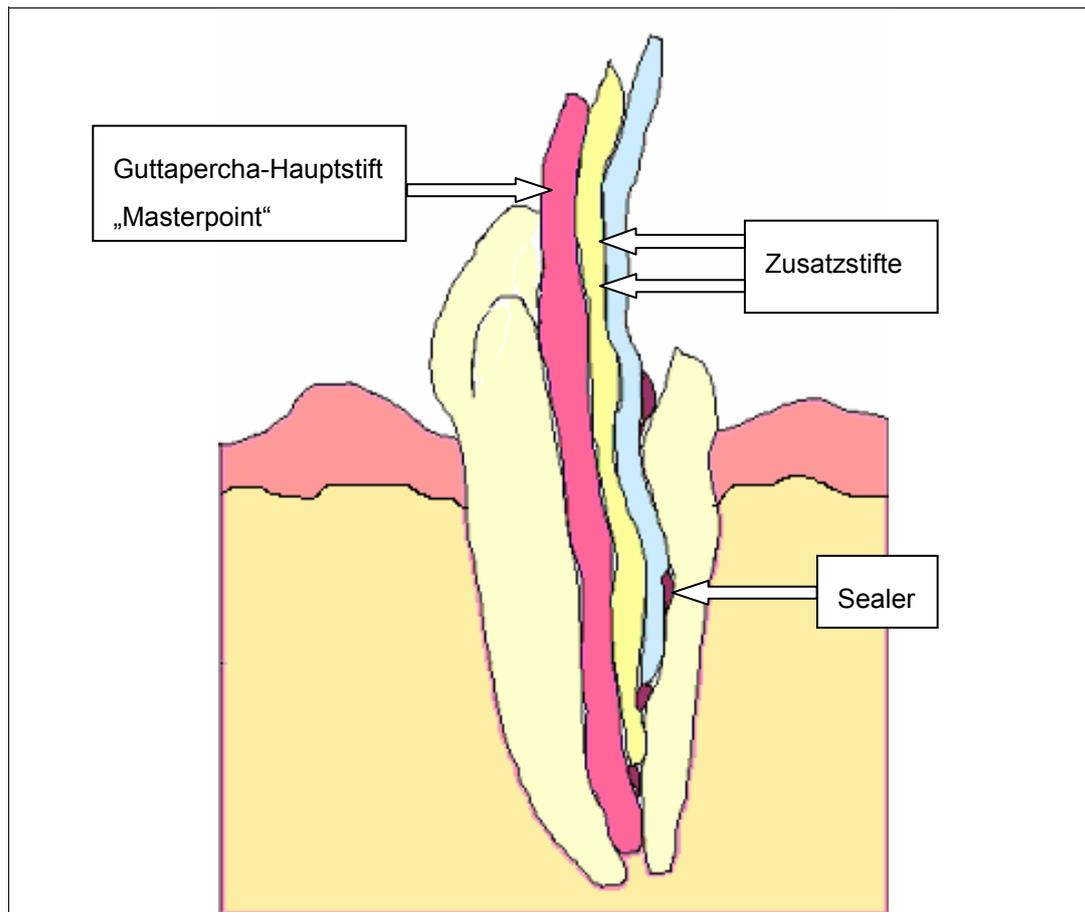


Abbildung 5: Laterale Kondensation (nach [Hellwig et al., 2003])

1.6 Testsysteme zur Überprüfung von Wurzelkanalfüllmaterialien und Wurzelkanalfüllmethoden

Um das Risiko der sekundären Reinfektion und damit die Parodontitis apicalis durch den Wiedereintritt von Bakterien in den Wurzelkanal zu vermeiden, müssen Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden die Anforderungen an eine erfolgreiche Wurzelkanalbehandlung, der Biokompatibilität und der Dimensionsstabilität erfüllen [European Society of Endodontology, 2006; Sjögren et al., 1997]. Um diese Materialien und Methoden unter *in vivo*-ähnlichen *in vitro*-Bedingungen zu überprüfen, wird ein Testsystem benötigt, mit dem zahnmedizinische, mikrobiologische und hygienische Fragestellungen überprüft und Langzeituntersuchungen durchgeführt werden können. Es besteht eine Vielzahl unterschiedlicher Testsysteme, wie z.B. Farbpenetrationstests [Kersten und Moor, 1989] oder die Fluid Filtration Method [Wu et al., 2003]. Dennoch soll in der vorliegenden Studie ein bakterielles Testsystem entwickelt werden, da die Verhältnisse der Mundhöhle simuliert werden sollen. Im Folgenden werden derzeit in der Literatur bekannte bakterielle Testsysteme beschrieben und kritisch beleuchtet.

1.6.1 Testsystem zur Langzeitüberprüfung der Bakteriendurchlässigkeit von temporären und adhäsiven Füllmaterialien nach Wurzelfüllung

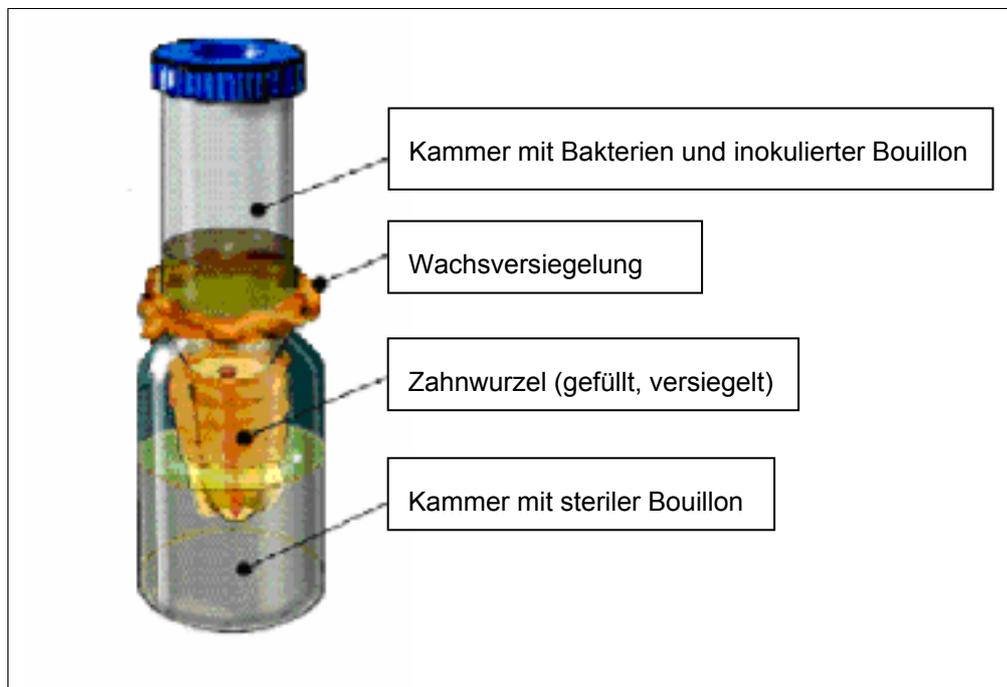


Abbildung 6: Testsystem zur Langzeitüberprüfung der Bakteriendurchlässigkeit von temporären und adhäsiven Füllmaterialien (nach [Barthel et al., 2001])

Um eine Langzeitüberprüfung der Bakteriendurchlässigkeit von temporären und adhäsiven Füllmaterialien zur Versorgung der Zugangskavität nach einer Wurzelkanalfüllung durchzuführen, wurden für dieses System (Abb. 6) Zahnwurzeln standardisiert wurzelkanalbehandelt. Die gefüllte Wurzel wurde mit Klebewachs in einem Polyethylen-Teströhrchen (15 ml) befestigt. Die Wurzelspitze ragt aus einer Perforation an der Spitze des Röhrchens. Anschließend wurde der Versuchskörper mittels Ethylenoxid sterilisiert. Während des Sterilisiervorgangs wurden feuchte Tupfer in die Teströhrchen eingelegt, um die Zahnschubstanz vor Austrocknung und Sprungbildung zu schützen. Danach wurden die Aufbauten mit Klebewachs auf Rollrandgläsern befestigt. Die Rollrandgläser (= untere Kammer) wurden vorher mit 10 ml steriler Trypticase Soja Bouillon (TSB) gefüllt. Die obere Kammer wurde mit 3 ml TSB und *Staphylococcus epidermidis* inokuliert [Barthel et al., 2001]. Eine Probenentnahme zur Überprüfung einer Kontamination ist nur in der oberen Kammer durch den Schraubverschluss möglich. Um eine bakterielle Kultur anzulegen, musste das gesamte System aufgebrochen werden. Daraus lässt sich schließen, dass der Zeitpunkt einer bakteriellen Besiedelung lediglich durch eine Trübung der Bouillon nachgewiesen wurde.

1.6.2 Testsystem zur Überprüfung der Durchlässigkeit für Pilze und Bakterien von AH Plus und AH 26

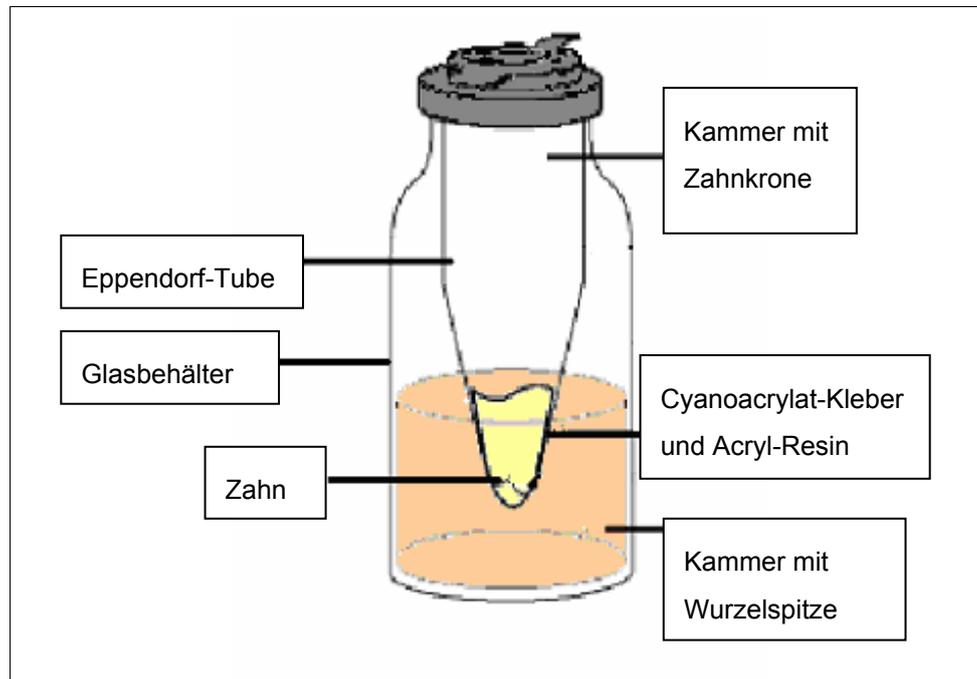


Abbildung 7: Testsystem zur Überprüfung von AH Plus & AH 26
(nach [Miletić et al., 2002])

Mit diesem Testsystem (Abb. 7) wurde die Durchlässigkeit für Bakterien und Pilze von zwei unterschiedlichen Sealern getestet, AH Plus und AH 26. Die wurzelbehandelten Zähne wurden nach der Wurzelfüllung für 3 Wochen bei 37°C in NaOCl gelagert. Danach wurden sie in einem Thermocycler behandelt. Die Zähne wurden in ein Eppendorf-Tube eingebracht. Die Wurzelspitze reicht über das Ende des Tubes hinaus. Der koronale und mittlere Bereich der Testkörper wurde mit Cyanoacrylat-Kleber und Acryl-Resin abgedeckt. Die Gassterilisation erfolgte mit Ethylenoxid. Anschließend wurde das Eppendorf-Tube in einen 5ml-Glasbehälter gebracht. Das untere Glasgefäß wurde mit 3 ml steriler Schaedler anaerobe broth befüllt. Der Eingang der Flasche wurde mit einer Lage Cyanoacrylat-Kleber und Acryl-Resin verschlossen [Miletić et al., 2002]. Bei diesem System ist es schwierig, eine Probe aus beiden Kammern zur Kontrolle der bakteriellen Besiedelung zu entnehmen. Es liegt keine Aussage über die Kontaminationsfreiheit des Cyanoacrylat-Klebers am Eingang der Flasche vor. Die Sterilisierung mittels Ethylenoxid ist auf Grund der hohen Toxizität, komplizierten Handhabung und der Explosionsgefahr nicht mehr zeitgemäß und im klinischen Routinebetrieb nur noch in geringem Umfang vorzufinden. Eine Aussage über den Verbleib toxischer Restsubstanzen in den Wurzelkanälen wurde bislang nicht getroffen [Amaechi et al., 1998].

1.6.3 Testsystem zur Überprüfung der Bakterienpenetration durch Kanäle endodontisch behandelter Zähne in Anwesenheit oder Abwesenheit des Smear Layers

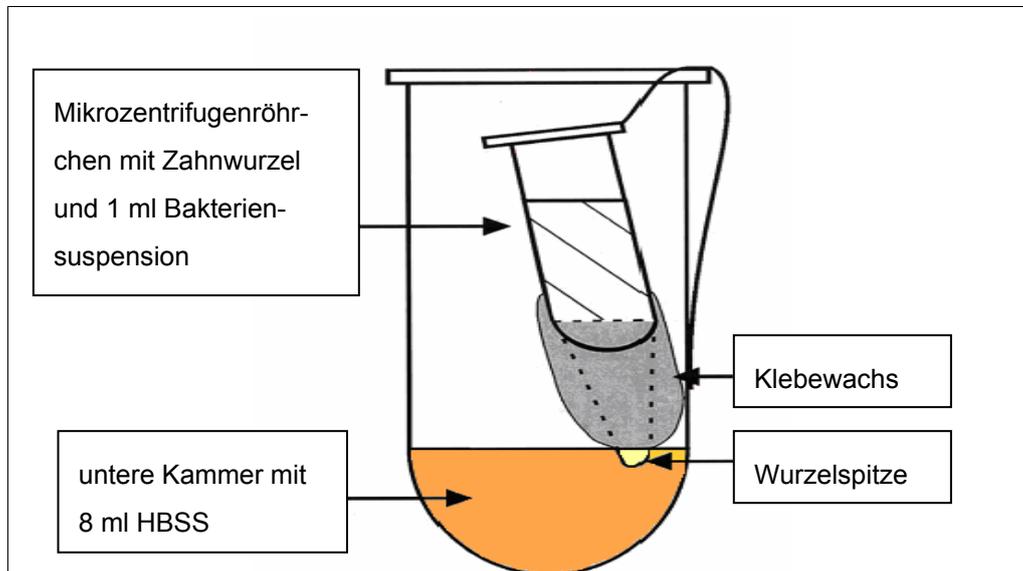


Abbildung 8: Testsystem zur Überprüfung der Bakterienpenetration durch Kanäle endodontisch behandelter Zähne in Anwesenheit und Abwesenheit des Smear Layers (nach [Clark-Holke, 2003])

Um die Bakterienpenetration wurzelkanalbehandelter Zähne in Anwesenheit oder Abhängigkeit des Smear Layers zu überprüfen, wurde das in Abbildung 8 dargestellte System verwendet. Dafür wurden die Zähne mit einer Kürette gereinigt, anschließend mit Natriumhypochlorid gespült und in sterilem destilliertem Wasser gewaschen. Die Lagerung der Zähne erfolgte in Thymol. Nach der Wurzelkanalaufbereitung wurden die Zähne in unterschiedlichen Gruppen behandelt. Die Zahnwurzel wurde in einem Mikrozentrifugenröhrchen (1,8 ml) platziert und mit Wachs fixiert. Das gesamte Testsystem wurde mittels Gammabestrahlung sterilisiert. Mit Cyanoacrylat wurde der Versuchskörper versiegelt. Die obere Kammer wurde mit 1 ml einer Bakteriensuspension befüllt. Ein Teströhrchen mit einem Fassungsvermögen von 15 ml bildete die untere Kammer. In die untere Kammer wurden 8 ml sterile Hanks balanced salt solution (HBSS) gefüllt [Clark-Holke et al., 2003]. Da sich die obere Kammer direkt in der unteren Kammer befindet, ist eine Kontamination der unteren Kammer während einer Probenentnahme nicht auszuschließen.

1.6.4 Testsystem zur Überprüfung der Dichtigkeit verschiedener Obturationstechniken bei ovalen Wurzelkanälen

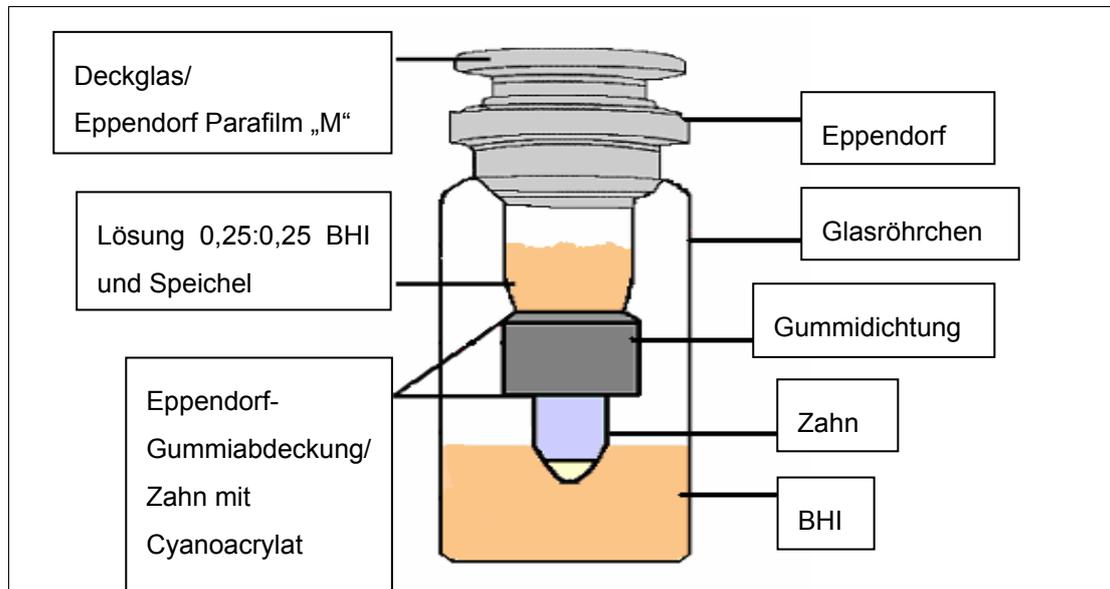


Abbildung 9: Testsystem zur Überprüfung verschiedener Obturationstechniken bei ovalen Wurzelkanälen (nach [De Deus et al., 2006b])

Für dieses System (Abb. 9) wurden Wurzeln extrahierter Zähne gefüllt und die Oberflächen der Zähne mit zwei Lagen Nagellack bestrichen. Anschließend wurden die Zähne in Eppendorf-Röhrchen eingefügt. Das Zahn-Eppendorf-System wurde unter Druck in einen Gummideckel einer Penicillinflasche gebracht und somit miteinander verbunden. Die Übergänge von Gummi, Zahn und Eppendorf-Röhrchen wurden mit Cyanoacrylat abgedichtet. Dieses System wurde mit Ethylenoxid gassterilisiert und anschließend in ein steriles 9 ml-Glasgefäß mit 4 ml Brain Heart Infusion broth (BHI) eingebracht [De Deus et al., 2006b]. Auch bei diesem System ist es schwierig, eine Probe unter sterilen Bedingungen zur Untersuchung der bakteriellen Besiedelung aus der unteren Kammer zu entnehmen, da zuerst die obere Kammer aus der unteren Kammer entfernt werden muss und somit die Gefahr einer Fremdkontamination der Zahnwurzel besteht.

Die Vielzahl der Systeme zeigt, dass ein umfassendes und dabei einheitliches Testsystem zur Untersuchung von Wurzelkanalfüllmaterialien auf Bakteriendurchlässigkeit noch nicht entwickelt wurde. Dabei müssen mikrobiologische und hygienische Anforderungen erfüllt werden. Zudem müssen zahnärztliche Werkstoffe zur Anfertigung eines Versuchskörpers zur Verfügung stehen, die biokompatibel, nicht toxisch, dimensionsstabil und sterilisierbar sind.

2 Zielsetzung

Das Ziel dieser Studie war die Entwicklung eines Testsystems zur Bestimmung der Bakterienpermeabilität von Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden und folgenden Bedingungen:

- Das System sollte aus zwei unabhängig voneinander gestalteten Kammern bestehen.
- Beide Kammern sollten getrennt voneinander geöffnet werden können, um Langzeituntersuchungen durchführen zu können und ein gegebenenfalls erneutes Befüllen zu ermöglichen.
- Zur Anfertigung des Testsystems sollten etablierte zahnärztliche Materialien verwendet werden, um die Versuchsanordnung problemlos reproduzieren zu können.
- Es sollte ein parodontitisrelevantes Testbakterium eingesetzt werden, das mit Hilfe üblicher Anzüchtungsmethoden zum Wachstum gebracht werden kann.
- Eine mögliche Fremdkontamination sollte anhand einer geeigneten Methode überprüft und letztlich über den gesamten Versuchszeitraum vermieden werden.

3 Material und Methoden

3.1 Zähne als Bestandteil der Versuchskörper

Für die exemplarische Untersuchung der Funktionalität des Systems sowie der Dichtigkeits- und Durchlässigkeitskontrollen wurden 38 und für die Durchführung der Farbversuche wurden 20 extrahierte, kariesfreie, unrestaurierte Frontzähne des Ober- und Unterkiefers ohne endodontische Vorbehandlung verwendet. Die Zähne wurden im Department für Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde der Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Halle nach notwendiger Extraktion nicht verworfen, sondern in 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung (Art.-Nr. 3570410, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gelagert. Dadurch konnte eine Austrocknung der Zahnhartsubstanzen Schmelz, Dentin und Wurzelzement vermieden werden.

3.1.1 Reinigung und Trepanation der Zähne

Zu Beginn der Experimente wurden Zahnstein, Konkremente und Weichgewebsreste an den Zähnen mit dem Ultraschallscaler Piezon Master 400[®] mit einer Frequenz im Bereich von 32,0 kHz (Art.-Nr. 14009865, EMS - Electro Medical Systems SA, Nyon, Schweiz,) entfernt (Abb. 10). Dieser Vorgang erfolgte unter Kühlung mit 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung, um die Zahnhartsubstanzen vor thermischen Einflüssen zu schützen.



Abbildung 10: Piezon Master 400[®] (EMS - Electro Medical Systems SA, Nyon, Schweiz)

Um den Nervenkanal des Zahnes darstellen zu können, wurde eine endodontische Zugangskavität mit einem kugelförmigen Diamantschleifer roter Körnung (Art.-Nr. 801314018, Komet/ Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG, Lemgo, Deutschland) am INTRACompact 25 LHC LUX-Schnelllaufwinkelstück rot (Art.-Nr. 40598, KaVo Dental GmbH, Biberach/Riß, Deutschland) mit einer Frequenz von 200.000 U/min an der Dentaleinheit KaVo 1060 (Fabriknummer 41463, KaVo Dental GmbH, Biberach/ Riß, Deutschland) gelegt (Abb. 11).



Abbildung 11: Trepanation der Zähne

3.1.2 Maschinelle Wurzelkanalaufbereitung der Zähne mit dem FlexMaster[®]-System

Nach der Trepanation und der Entfernung des Pulpengewebes wurden die Kanaleingänge dargestellt und mit dem maschinellen Wurzelkanalaufbereitungssystem FlexMaster[®] (Art.-Nr. NT8318, VDW GmbH, München, Deutschland) aufbereitet (Abb. 12). Bei der maschinellen Wurzelkanalaufbereitung wurden Nickel-Titan-Instrumente des FlexMaster[®]-Systems mit unterschiedlichen ISO- und Taper-Größen verwendet. Die Konizitäten betragen 2% (02), 4% (04) und 6% (06). Durch das pseudo-elastische Verhalten der Nickel-Titan-Legierung (NiTi) können die Instrumente zur maschinellen Wurzelkanalaufbereitung mit vollrotierenden Antriebshilfen verwendet werden [Schäfer und Lohmann, 2002].

Es wurde die maschinelle Aufbereitung mit unterschiedlichen Tapern mittels der „crown-down-Technik“ eingesetzt. Dabei wurden die Kanaleingänge der Zähne mit den NiTi-Feilen starker Konizität des FlexMaster[®]-Systems erweitert. Anschließend erfolgte die Aufbereitung

der Arbeitslänge mit Instrumenten absteigender ISO-Größen bis zur Arbeitslänge. Nach Erreichen der Arbeitslänge erfolgte die Erweiterung des apikalen Abschnittes mit festgelegten ISO-Größen. Um Verblockungen durch Debris und Dentinspäne im Wurzelkanal zu vermeiden, wurde zwischen den einzelnen Aufbereitungsschritten häufig gespült. Die Erweiterung der Wurzelkanäle erfolgte zuerst durch die koronale Aufbereitung mit der Sequenz „blau“ für weite Kanäle von der Isogröße 06/30 bis zur Isogröße 04/30. Die apikale Aufbereitung erfolgte nach Arbeitslängenbestimmung (Wurzellänge minus 1 mm) mit den Isogrößen 02/20 bis 02/35.



Abbildung 12: FlexMaster®-System (VDW GmbH, München, Deutschland)

3.1.3 Spülung und Sterilisation der Zähne

Um alle Gewebereste im Wurzelkanal zu entfernen, wurden die Zähne abwechselnd mit 0,2%iger Chlorhexidinlösung (CHX) (Art.-Nr. 2157527, GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, München, Deutschland) und 1%iger Natriumhypochlorid (NaOCl) (Art.-Nr. 47927, Speiko - Dr. Speier GmbH, Münster, Deutschland) gespült. Anschließend wurden alle Zähne einzeln in mit NaCl gefüllten SCHOTT-Duran-Flaschen mit Weithals und einem Fassungsvermögen von 100 ml (Art.-Nr. 21801245, DURAN Group GmbH, Wertheim/ Main, Deutschland) (Abb. 13) bei 121°C und 1 bar für 20 Minuten im Dampfsterilisateur Vakulab HP 666 (Art.-Nr. 209, MMM Münchener Medizin Mechanik GmbH, Planegg bei München, Deutschland) autoklaviert.



Abbildung 13: Zähne in markierten Glasbehältern (DURAN Group GmbH, Wertheim/Main, Deutschland) nach dem Autoklavierenverfahren

3.2 Versuchsgruppen

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit des Systems und zur exemplarischen Prüfung von Wurzelkanalfüllmaterialien wurden die Zähne in Versuchsgruppen eingeteilt (Tab. 1). Für die Durchlässigkeitskontrollen wurden 6 trepanierte und maschinell aufbereitete Zähne verwendet. In dieser Versuchsgruppe wurde überprüft, ob das Testbakterium von der oberen Kammer in die untere Kammer des Versuchskörpers diffundiert. Für die Dichtigkeitskontrollen wurden 6 untrepanierte Zähne verwendet. In dieser Gruppe wurde die Dichtigkeit des Systems für das Testbakterium geprüft. Zur Überprüfung einer Fremdkontamination wurden 6 trepanierte und 2 untrepanierte Zähne im Versuchskörper fixiert. Zur exemplarischen Untersuchung des Testsystems für die Nutzung von endodontischen Materialien und zur exemplarischen Überprüfung von Wurzelkanalfüllmethoden wurde Guttapercha allein und mit zwei unterschiedlichen Sealern getestet. Die Zähne wurden mittels lateraler Kondensation gefüllt.

Tab. 1: Einteilung der Zähne in Versuchsgruppen

A: Durchlässigkeitskontrolle	6 Zähne, trepaniert und aufbereitet
B: Dichtigkeitskontrolle	6 Zähne, untrepaniert
C: Fremdkontaminationskontrolle	6 Zähne trepaniert, 2 Zähne untrepaniert
D: Guttapercha	6 Zähne, gefüllt
E: Guttapercha/ AH Plus™	6 Zähne, gefüllt
F: Guttapercha/ EndoREZ®	6 Zähne, gefüllt

3.3 Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der verwendeten Materialien

Zur Überprüfung der bakteriostatischen und bakteriotoxischen Eigenschaften der verwendeten Materialien wurden Hemmhoftests [Neumeister et al., 2009] durchgeführt. Dafür wurde eine *Pseudomonas aeruginosa*-Suspension (Stamm PAO1 (ATCC 15692) [Stover et al., 2000]) auf Columbia-Agar (Art.-Nr. PB5008A, Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland) ausgestrichen. Anschließend wurden die zu testenden Materialien jeweils auf eine mit *P. aeruginosa* bestrichene Platte appliziert und für 48 Stunden bei 37°C im Brutschrank (Art.-Nr. 40308377, Heraeus Typ B6420, Kendro Laboratory Products, Hanau, Deutschland) inkubiert.

3.4 Wurzelkanalfüllung der Zähne

Um eine Fremdkontamination während der Wurzelkanalfüllung der Zähne sowie während der Herstellung der Versuchskörper zu vermeiden, erfolgten alle Arbeitsschritte unter keimarmen Bedingungen unter der Clean Bench Hera Safe HSP 18 (Art.-Nr. 98114781, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland) im KH 1-Labor des Instituts für Hygiene (Abb. 14).



Abbildung 14: Clean Bench Hera Safe HSP 18 (Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland) (Standort: Institut für Hygiene, Universitätsklinikum Halle)

3.4.1 Trocknung der Zähne

Die Zähne wurden mit einer sterilen Pinzette (Art.-Nr. DP19, Hu-Friedy Mfg. BV, Rotterdam, Niederlande) den sterilen Glasbehältern entnommen und auf einem sterilen OP-Tuch (Art.-Nr. 700330, Roeko, Langenau, Deutschland) gelagert. Die Trocknung erfolgte von außen mit einer sterilen Kompresse (Art.-Nr. 4643172, TEMEDIA GmbH, Schönbach, Deutschland). Die Wurzelkanäle wurden mit Papierspitzen (Art.-Nr. 45208, Roeko, Langenau, Deutschland) der ISO-Größe 25 getrocknet (Abb. 15). Um eine Fremdkontamination der Wurzelkanäle durch die Anwendung der Papierspitzen auszuschließen, wurden diese sterilisiert. Die Papierspitzen wurden dafür in 20er Gruppen mit dem Foliendurchlaufsigelgerät hm 850 DC (Art.-Nr. 401M, hawo GmbH, Obrigheim, Deutschland) eingeschweißt und anschließend autoklaviert. Der Erfolg des Autoklavierverfahrens der Papierspitzen wurde stichprobenartig überprüft. Es wurden jeweils 5 Papierspitzen einer Charge auf Columbia-Agar und in Caseinpepton-Sojamehlpepton Lösung USP (TSB) (Art.-Nr. TV 5002 E, Tryptone Soy Broth, TSB, Oxoid Basingstoke, Großbritannien) für 48 Stunden bei 37°C im Brutschrank (Art.-Nr. 40308377, Heraeus Typ B6420, Kendro Laboratory Products, Hanau, Deutschland) inkubiert. Es konnte keine Kontamination festgestellt werden.

Die Wurzelkanäle der Gruppe F (Guttapercha/EndoREZ®) wurden nicht vollständig getrocknet, da für EndoREZ® ein leichter Feuchtigkeitsfilm für den Verbund von Sealer und Kanalwand nötig ist.



Abbildung 15: Papierspitzen (Roeko, Langenau, Deutschland) zur Trocknung der Wurzelkanäle vor der Wurzelkanalfüllung

Nach der internen und externen Trocknung der Zähne wurden diese für die folgende Wurzelkanalfüllung vorbereitet.

3.4.2 Wurzelkanalfüllung mit Guttapercha

Zur Füllung der Wurzelkanäle für dieses Testsystem wurden Guttaperchastifte (Art.-Nr. 39558, Roeko, Langenau, Deutschland) in der Isogröße 25 verwendet (Abb. 16). Die Wurzelkanalfüllung wurde bei Raumtemperatur (22°C) durchgeführt. Hierbei liegen konventionelle Guttaperchastifte in der β -Phase vor. Guttapercha kann in 2 kristallinen Phasen (α - und β -Phase) und in einer amorphen Phase vorliegen. Für die kalte laterale Kondensationstechnik ist die β -Phase erforderlich.

Um die Kontaminationsfreiheit der verwendeten, frisch geöffneten Guttaperchastifte zu testen, wurden 10 Guttaperchastifte mit einer sterilen Pinzette entnommen. Jeweils 5 Guttaperchaspitzen wurden einzeln auf Columbia-Agar und in TSB gegeben und anschließend für 48 Stunden bei 37°C im Brutschrank B 6420 inkubiert. Es konnte kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden.



Abbildung 16: Guttapercha (Roeko, Langenau, Deutschland) als Wurzelkanalfüllmaterial

3.4.3 Sealer als Versiegler der Wurzelkanalfüllung

Als Sealer zur exemplarischen Überprüfung des entwickelten Testsystems wurden AH Plus™ (Art.-Nr. 48126, Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland) als geläufigster Sealer und EndoREZ® (Art.-Nr. 88189, Ultradent Products, Inc., South Jordan, UT, U.S.A.) als neuere Entwicklung verwendet. AH Plus™ ist ein Zweikomponenten-Wurzelkanalfüllmaterial auf Epoxid-Amin-Polymer-Basis (Abb. 17) (Tab. 2).



Abbildung 17: AH Plus™ (Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland)

Tab. 2: Inhaltsstoffe von AH Plus™

Paste A	Paste B
<ul style="list-style-type: none"> - Epoxidharze - Calciumwolframat - Zirkoniumoxid - Aerosil - Eisenoxid 	<ul style="list-style-type: none"> - Amine - Calciumwolframat - Zirkoniumoxid - Aerosol - Silikonöl

EndoREZ[®] ist ein fließfähiger Kompositsealer auf Urethan-Dimethylacrylat-Basis (UDMA) mit hydrophilen Eigenschaften bedingt durch den Zusatz von Phosphatestern (Abb. 18) (Tab. 3).



Abbildung 18: EndoREZ[®]-Sealer (Ultradent Products, Inc., South Jordan, UT, U.S.A.)

Tab. 3: Inhaltsstoffe von EndoREZ[®]

Matrix:	Füllstoffe:
30% Urethandimethacrylat (UDMA)	Zinkoxid Bariumsulfat Pigmente

AH Plus[™] wurde auf einer sterilen Glasplatte mit einem sterilisierten Spatel unter der Clean Bench 1:1 angemischt. EndoREZ[®] wurde mit zuvor sterilisierten Mischkanülen ebenfalls auf eine sterile Glasplatte unter der Clean Bench appliziert. Die beiden Sealer wurden vor ihrer Anwendung auf Kontaminationsfreiheit untersucht. Dafür wurden jeweils 3 Proben auf Columbia-Agar ausgestrichen sowie in TSB gegeben und anschließend für 48 Stunden bei 37°C inkubiert. Es konnte kein Bakterienwachstum für diese angewandten Nährmedien nachgewiesen werden.

3.4.4 Ablauf der Wurzelkanalfüllung

Die Wurzelkanalfüllung der verwendeten Zähne wurde mittels lateraler Kondensation durchgeführt. Dafür wurde ein Masterpoint, der erste Guttapercha-Stift, auf die ermittelte Arbeitslänge in den Wurzelkanal eingeführt und mit einem nadelähnlichen Instrument, dem Finger-Spreader (Art.-Nr. H08130, Roeko, Langenau, Deutschland), in der Isogröße 25, an die Zahnwand gepresst und somit lateral kondensiert. Der so entstandene Platz wurde durch einen weiteren Guttaperchastift gefüllt und anschließend ebenfalls mit dem Spreader kondensiert. Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis der Spreader kaum noch zwischen die eingeführten Guttaperchastifte geschoben werden konnte (Abb. 19). Zur Untersuchung der beiden Sealer wurde der Masterpoint mit dem jeweiligen Sealer beschickt und wie oben beschrieben in den Wurzelkanal gebracht und kondensiert.

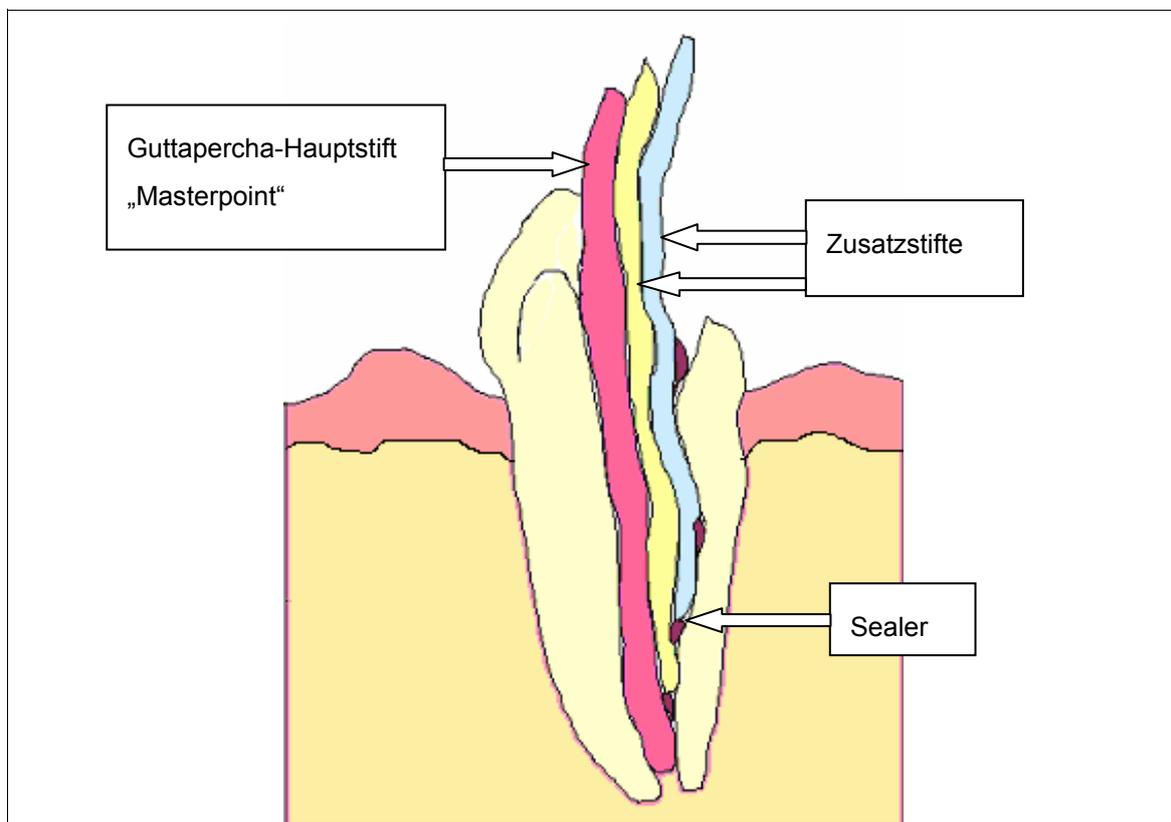


Abbildung 19: Schematische Darstellung der lateralen Kondensation
(nach [Hellwig et al., 2003])

Nach der Wurzelkanalfüllung der Zähne mit der lateralen Kondensationstechnik wurden die überstehenden Guttaperchaspitzen mit dem PKT 2 Modellierinstrument nach Thomas (Art.-Nr. 81981, JAKOBI Dental Instruments, Leimen, Deutschland) entfernt. Dafür wurde das Instrument am Sicherheitsbrenner schütt flammy S 3 351 102 (Art.-Nr. 9800435, Schütt

Labortechnik GmbH, Göttingen, Deutschland) erhitzt. Nach der Wurzelkanalfüllung mit Guttapercha, Guttapercha/ AH Plus™ und Guttapercha/ EndoREZ® wurden die Zähne für 48 Stunden in sterilen Kompressen gelagert, um die Aushärtezeit der Sealer und der Guttaperchastifte zu gewährleisten. Die Kompressen wurden mit 0,9%iger steriler physiologischer Kochsalzlösung (NaCl) durchfeuchtet, um eine Austrocknung der Zähne zu vermeiden. Die Lagerung erfolgte im sterilen, geschlossenen IMS Sterilisationscontainer (300 x 190 x 065 mm) (Art.-Nr. 183190, Hu-Friedy Europe, Leimen, Deutschland). Die Gruppe Guttapercha/ EndoREZ® wurde vor der Lagerung 40 Sekunden mit der Coltolux LED-Polymerisationslampe (Art.-Nr. 14000610, Coltène/Whaledent AG, Altstetten, Schweiz) lichtgehärtet.

3.5 Herstellung des Testsystems zur Prüfung der bakteriellen Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien

3.5.1 Versuchsgläser als Komponenten des Testsystems

Um eine *in vivo*-ähnliche Situation zu schaffen, musste ein 2-Kammer-System entwickelt werden, um die Zahnkrone einem anderen Milieu auszusetzen als die Wurzelspitze. Mit der sich in der oberen Kammer des Testsystems befindlichen Zahnkrone wurde die Situation dahingehend simuliert, dass sich die Zahnkrone in der Mundhöhle in einer feuchten, sauerstoffreichen Umgebung mit einer ubiquitär vorkommenden Bakterienflora befand. Mit der unteren Kammer des Testsystems mit der Wurzelspitze wurde die simuliert, dass sich die Zahnwurzel im gesunden und gegen die Mundhöhle abgeschlossenen Kieferknochen befindet.

Es wurden 15x45 mm Screw top vials mit einem Volumen von 4,0 ml (Clear glass) und sterilisierbare Caps aus Polytetrafluorethylen (PTFE) mit einem Silikonseptum (Dicke 1,5 mm) (Art.-Nr. EX146608-1, Geschäftsbereich SUPELCO, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) verwendet. Um den Zahn zwischen zwei Gläsern positionieren zu können, wurde der Boden der Gläser in einem zahntechnischen Labor (Dental-Keramik-Studio Gessner GmbH, Halle (Saale), Deutschland) an einem Gipstrimmer (Art.-Nr. 13007380, Wassermann Dental-Maschinen GmbH, Hamburg, Deutschland) entfernt (Abb. 20) und die entstandenen Schliffkanten mit einer Fräse (Art.-Nr. 30310, Komet/ Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG, Lemgo, Deutschland) abgerundet. Anschließend wurden je zwei Gläser plus Verschlussdeckel eingeschweißt und autoklaviert (Abb. 21).



Abbildung 20: Entfernung der Glasböden am Gipstrimmer (Wassermann Dental-Maschinen GmbH, Hamburg, Deutschland)



Abbildung 21: Autoklavierte Versuchsgläser in Sterilverpackung (Geschäftsbereich SUPELCO, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland)

3.5.2 Impregum™ Penta™ H DuoSoft™ Quick zur Fixierung der Zähne im Testsystem

Um die wurzelkanalgefüllten Zähne in einem 2-Kammer-System dicht zu fixieren, wurde Impregum™ Penta™ H DuoSoft™ Quick (Art.-Nr. 77793, 3M ESPE AG, Seefeld, Deutschland) um die Zahnwurzel gelegt. Die beiden bodenlosen Gläser wurden durch das noch weiche Impregum™ aneinander gedrückt. Impregum™ ist ein schnell abbindendes, zahnärztliches Abformmaterial auf Polyether-Basis. Mit Drehbewegungen des Versuchskörpers wurde die gleichmäßige Verteilung des Impregums um den Zahn und an den Wänden der beiden Gläser bis zur Aushärtung des Materials erreicht. Um eine Kontamination des Impregums auszuschließen, wurde eine Probe einer werksfrischen Kartusche auf Columbia-Agar ausgestrichen und in TSB appliziert und anschließend für 48 Stunden bei 37°C inkubiert. Es konnte kein Bakterienwachstum für diese Nährmedien nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden die Mischkanülen (Art.-Nr. 71225, 3M ESPE AG, Seefeld, Deutschland) einzeln verschweißt und sterilisiert (Abb. 22).



Abbildung 22: Autoklavierte Mischkanülen (3M ESPE AG, Seefeld, Deutschland) in Sterilverpackung zur kontaminationsfreien Applikation von Impregum™

3.5.3 Pattern Resin LS zur Stabilisierung des Testsystems

Zur Stabilisierung des Systems von extern, wurde der zahnärztliche Kunststoff, Pattern Resin LS (Art.-Nr. 698918, GC GERMANY GmbH, Bad Homburg, Deutschland) (Abb. 23), aus der Flüssigkeit und dem Pulver des Systems angemischt und mit einem Spatel an die Naht der beiden Gläser gebracht und ausgehärtet. Bei Pattern Resin handelt es sich um

einen schnellhärtenden, roten Modellierkunststoff. Der Kunststoff konnte durch die anwendbare Pinseltechnik leicht appliziert werden. Bei einer Nachschichtung wurde auf einen fugenlosen Übergang geachtet.



Abbildung 23: Pattern Resin (GC GERMANY GmbH, Bad Homburg, Deutschland) zur Stabilisierung des Testsystems [Quelle: gceurope]

3.5.4 *Pseudomonas aeruginosa* als parodontitis-relevantes Testbakterium

P. aeruginosa (Abb. 24) zählt zu den stäbchenförmigen, gramnegativen Bakterien. Da dieser Erreger sowohl aerob als auch anaerob metabolisieren kann, zählt *P. aeruginosa* zu den fakultativ anaeroben Mikroorganismen. Es werden keine Sporen gebildet. *P. aeruginosa* besitzt polare Geißeln (Abb. 25) und ist somit aktiv zur Bewegung fähig. Da *P. aeruginosa* bei sekundären oder persistierenden Infektionen nach Wurzelkanalfüllungen vorkommt [Siqueira et al., 2002; Bodrumlu und Alaçam, 2007], wurde das Bakterium für diese Studie verwendet. Als Nährmedium für das Testbakterium wurden in die obere und in die untere Kammer je 3 ml Caseinpepton-Sojamehlpepton Lösung USP (TSB) (Art.-Nr.: TV 5002 E, Tryptone Soy Broth, TSB, Oxoid Basingstoke, Großbritannien) gegeben.



Abbildung 24: Auf Nährmedien zeigt sich *P. aeruginosa* als flache, graue, häufig schleimig wachsende Kolonien mit metallischem Oberflächenglanz

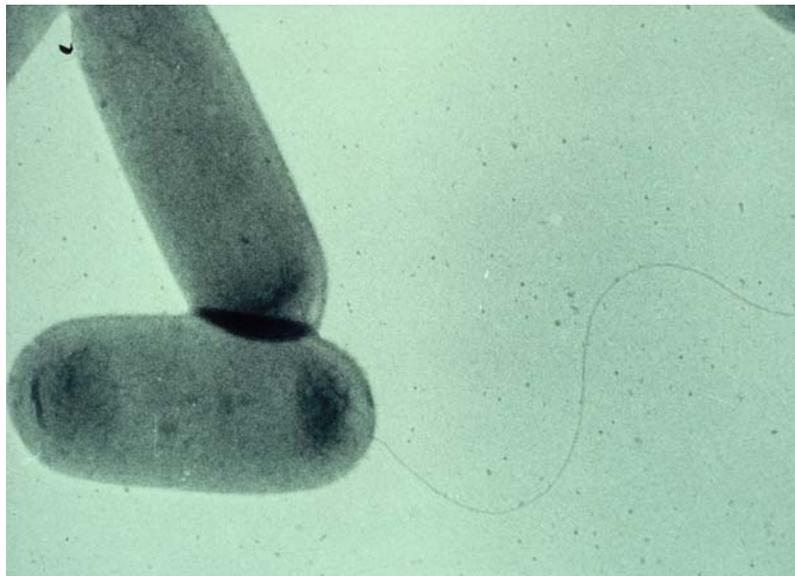


Abbildung 25: *P. aeruginosa* mit Geißel

Für diese Versuche wurde der *P. aeruginosa*-Stamm PAO1 (ATCC 15692) [Stover et al., 2000] verwendet. Der Erreger wurde erst auf Columbia-Agar (Art.-Nr. PB5008A, Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland) überimpft und als Übernachtskultur bei 37°C bebrütet.

Es wurde eine Startkonzentration der Versuchslösung für die obere (koronale) Kammer von 1×10^7 KBE/ml hergestellt. Die optische Dichte (OD) der Bakteriensuspension für die obere Kammer wurde bei 600 nm mittels UV-Vis-Spektralphotometer (Art.-Nr. 76221, Ultrospec III, Pharmacia, Amersham LKB, Freiburg, Deutschland) gemessen. Die Startkonzentration OD_{600} wurde auf 0,05 eingestellt.

3.6 Versuchskörper und Vorversuche

Der fertige Versuchskörper wurde als ein stabiles System konzipiert. Um die Versuchslösungen in beiden Kammern unabhängig voneinander erreichen zu können, wurde jede Kammer mit einem Öffnungs- und Schließmechanismus versehen. Die obere Kammer wurde von der unteren Kammer hermetisch abgeschlossen. Der Zahn wurde so zwischen beiden Glaskörpern fixiert, dass sich die Zahnkrone in der oberen Kammer und die Wurzelspitze in der unteren Kammer befanden (Abb. 26).

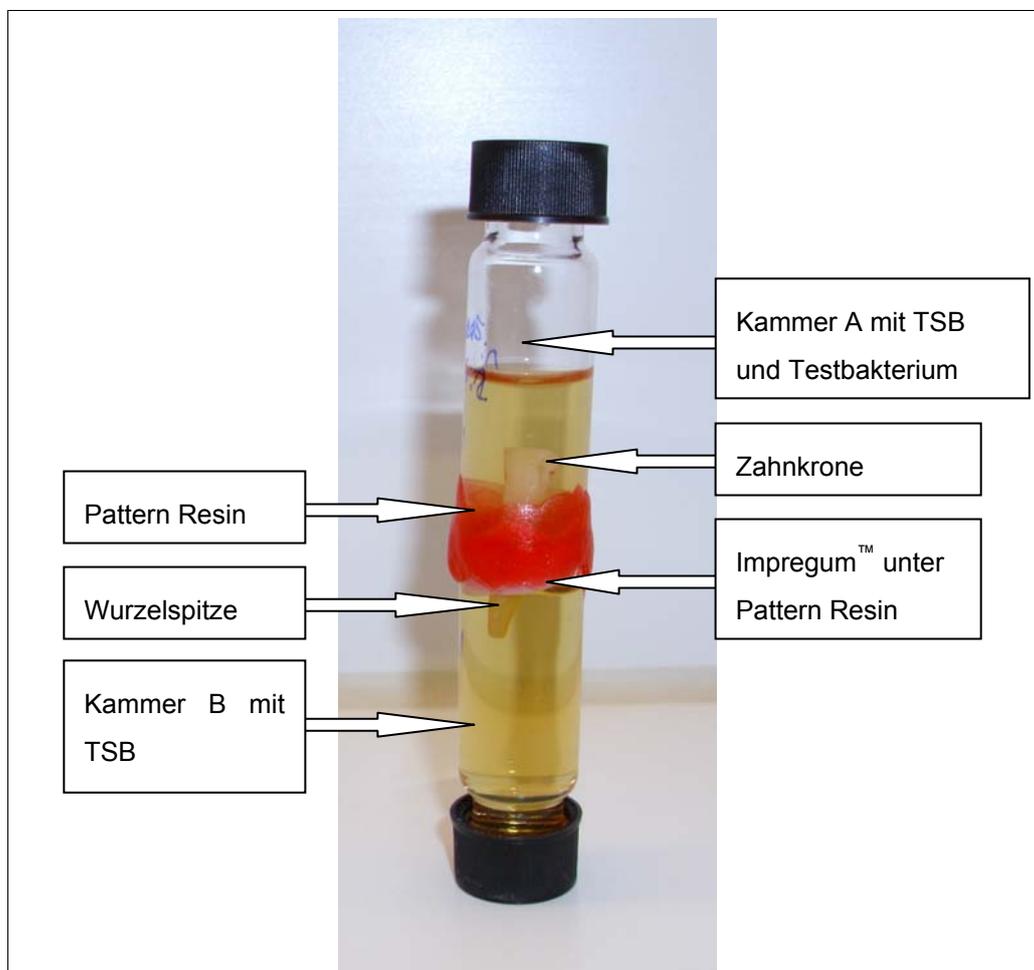


Abbildung 26: Vollständiger und befüllter Versuchskörper

Um den Versuchsaufbau auf seine Dichtigkeit zu prüfen, wurden Vorversuche mit Carbol-Fuchsin-Lösung (Art.-Bezeichnung Carbol-fuchsin-Lösung, Dr. K. Hollborn & Söhne GmbH & Co KG, Leipzig, Deutschland) durchgeführt. Dafür wurden insgesamt 20 Versuchskörper wie oben beschrieben angefertigt. Die obere Kammer wurde mit physiologischer Kochsalzlösung und Carbol-Fuchsin-Lösung befüllt und die untere Kammer lediglich mit physiologischer Kochsalzlösung (Abb. 27). Insgesamt wurden 10 Versuchskörper für den Farbversuch angefertigt und geprüft. Es erfolgte über einen Zeitraum von 4 Wochen eine tägliche makroskopische Kontrolle auf eine Farbveränderung in der unteren Kammer. Bei allen Versuchskörpern blieb ein Farbumschlag aus. Die Wurzelspitze verfärbte sich ebenfalls nicht.



Abbildung 27: Vorversuche mit Carbol-Fuchsin-Lösung (Dr. K. Hollborn & Söhne GmbH & Co KG, Leipzig, Deutschland)

3.7 Inkubation der Testsysteme

Alle Versuchskörper wurden für 48 Tage bei 37°C im Heidolph Inkubator 1000 (Art.-Nr. 080109348, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 400 U/min inkubiert (Abb. 28), um eine permanente Bewegung der Flüssigkeiten und somit des Testbakteriums zu gewährleisten und ein Absetzen am Boden der Gläschen zu vermeiden.



Abbildung 28: Inkubation der Testkörper im Heidolph-Inkubator 1000 bei 400 U/min (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland)

3.8 Mikrobiologische Nachweisverfahren

3.8.1 Qualitatives Nachweisverfahren

Um zu überprüfen, ob *P. aeruginosa* durch die gefüllte Wurzel in die untere Kammer diffundiert, wurde ein qualitativer Nachweis des Testbakteriums durchgeführt. Dafür wurde eine Probe der zu untersuchenden Kammer des Prüfkörpers mittels Dreiösenausstrich mit einer Einwegimpfschlinge (Art.-Nr. 731101, Greiner Bio-One International AG, Kremsmünster, Österreich) auf Nährböden überführt. Als Nährböden wurde Columbia-Agar mit 10% Schafblut benutzt. Die bestrichenen Nährböden wurden für 24 h bei 37°C im Brutschrank inkubiert und nach 24 Stunden auf Bakterienwachstum untersucht. Für die Durchlässigkeits-, Dichtigkeits- und Fremdkontaminationskontrollen wurden ebenfalls über einen Zeitraum von 48 Tagen regelmäßig Dreiösenausstriche durchgeführt. Zur Erregeridentifikation und zum Ausschluss einer Fremdkontamination wurde das Vitek[®] Senior-System (Senior Modell 120, bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen Deutschland) als standardisiertes Enzymnachweissystem zur Identifizierung des Testbakteriums genutzt.

3.8.2 Quantitatives Nachweisverfahren

Um die Menge der diffundierten Testbakterien bei der exemplarischen Überprüfung und bei den Durchlässigkeits-, Dichtigkeits- und Fremdkontaminationskontrollen zu bestimmen, wurde ein quantitativer Nachweis des Testbakteriums durchgeführt. Dafür wurden Verdünnungsreihen [10^0 - 10^{-9} KBE/ml] hergestellt, aus denen jeweils 10 μ l auf die Nährböden aufgetragen wurden. Die Nährböden wurden anschließend ebenfalls für 24 h bei 37° C im Brutschrank inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Testbakterien ausgezählt (Abb. 29).

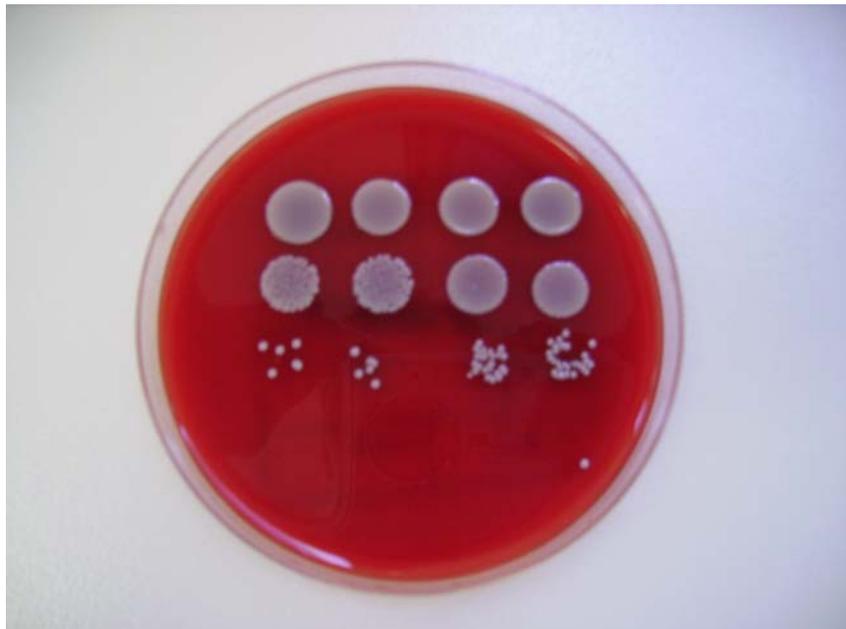


Abbildung 29: Bakterienzahlbestimmung mittels Verdünnungsreihe auf einer Columbia-Blut-Agar-Platte

3.9 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben (Microsoft Excel 2002, Redmond, WA, U.S.A.). Alle Bestimmungen wurden dreifach und in unabhängigen Experimenten durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Design der Prüfkörper zur Bestimmung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien *in vitro*

Als Ergebnis der Entwicklungsarbeit wurde folgendes Testsystem hergestellt (Abb. 30). Der entwickelte Versuchskörper zur Bestimmung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien besteht aus 15x45 mm großen Gläschen, so genannte Screw top vials mit Caps aus PTFE und einem Silikonseptum (1,5 mm dick). Sowohl die Gläser, als auch die Verschlusskappen sind sterilisierbar. Das Volumen der Gläser wird mit 4,0 ml angegeben. Der Versuchskörper ist aus handelsüblichen zahnärztlichen Materialien aufgebaut. Der wurzelkanalgefüllte Zahn ist mit dem Polyetherabformmaterial Impregum™ zwischen den beiden Versuchsgläsern fixiert. Der Prüfkörper besteht aus einem 2-Kammer-System. Durch die Drehverschlüsse beider Kammern sind beliebige Veränderungen des Nährmediums und eine Probenentnahme unter sterilen Bedingungen gewährleistet.

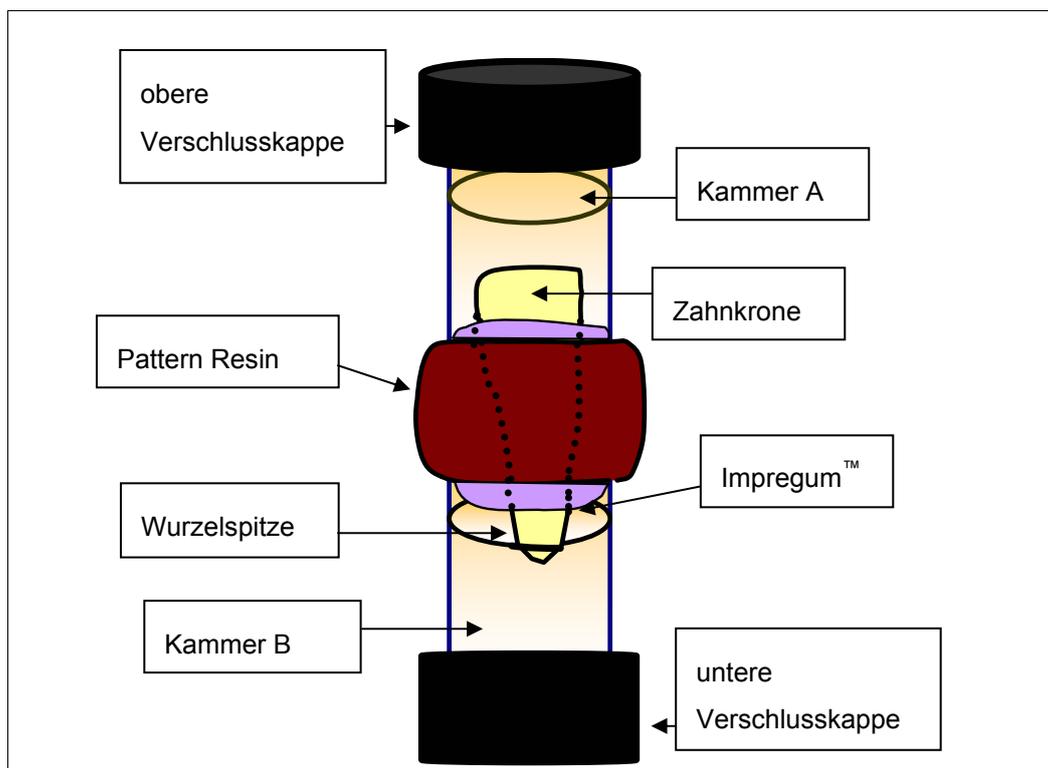


Abbildung 30: Schematische Darstellung des entwickelten Testsystems

Dadurch können sowohl die Testorganismen als auch deren Menge in Kammer A beziehungsweise in Kammer B je nach Fragestellung und Anwendungsbereich variiert werden.

Für die Entwicklung des Testsystems wurden zur Herstellung der Prüfkörper handelsübliche zahnärztliche Materialien verwendet. Die Zähne wurden alle auf die gleiche ISO-Größe einer Sequenz mit Hilfe des maschinellen Wurzelkanalaufbereitungssystems FlexMaster® aufbereitet. Das Polyethermaterial Impregum™ für zahnärztliche Abdrücke fixiert den Zahn zwischen den Gläsern. Durch identische Methoden und Materialien zur Herstellung der Testsysteme konnten unterschiedliche Wurzelkanalfüllmaterialien unter gleichen Bedingungen getestet und miteinander verglichen werden.

4.2 Stabilisierung des Testsystems

Durch die Verwendung des dentalen Kunststoffes Pattern Resin konnten die Prüfkörper stabilisiert werden. Alle Prüfkörper wurden über den gesamten exemplarischen Versuchsablauf von 48 Tagen auf dem Heidolph Inkubator bei 400 U/min ohne Insuffizienzen der Impregumfixierung zwischen den beiden Kammern bei 37°C inkubiert. Durch die Inkubation auf dem Heidolph-Schüttelrührer wurde die Bewegung des suspendierten Testbakteriums gewährleistet. Zusätzlich konnte das Befüllen der Kammern sowie die Probenentnahme sicher durchgeführt werden, ohne den Verbund der Kammern mit dem Zahn zu gefährden. Das Testsystem hielt über einen langen Versuchszeitraum einer thermischen und mechanischen Belastung stand.

4.3 Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der Testmaterialien

Die Überprüfung der biostatischen und bakteriotoxische Eigenschaften der Testmaterialien (Tab. 4) mittels Hemmhoftest ergab für die verwendeten Papierspitzen keinen hemmenden Einfluss auf das Wachstum von *P. aeruginosa*. Bezüglich der verwendeten Guttaperchaspitzen und des zahnärztlichen Abformmaterials Impregum™ konnte ebenfalls keine Beeinflussung des Bakterienwachstums festgestellt werden.

Bei den Sealern AH Plus™ und EndoREZ® wurde ein Einfluss auf das Wachstum von *P. aeruginosa* durch einen Hemmhof beobachtet. Der Hemmhof mit einem Durchmesser von 4 mm um den Sealer EndoREZ® stellte sich als ausgeprägter heraus, als der Hemmhof um den Sealer AH Plus™ mit einem Durchmesser von 2 mm.

Tabelle 4: Durchmesser der Hemmhöfe der untersuchten Materialien

Material	Durchmesser des Hemmhofs
Guttapercha	0 mm
Impregum	0 mm
AH Plus™	2 mm
EndoREZ®	4 mm

4.4 Anwendbarkeit des Testsystems

Um zu überprüfen, ob das Testbakterium *P. aeruginosa* von der oberen Kammer in die untere Kammer diffundiert, wurden die Durchlässigkeitskontrollen durchgeführt. Dabei waren 100% der unteren Kammern der Versuchskörper ab dem Tag 0 mit *P. aeruginosa* kontaminiert. Damit wurde die Aktivität des Testbakteriums aus der oberen in die untere Kammer durch den ungefüllten Wurzelkanal nachgewiesen.

Um auszuschließen, dass Bakterien zwischen Impregum™ und Zahn sowie zwischen Impregum™ und Versuchsglas in die untere Kammer gelangen, wurden die Durchlässigkeitskontrollen durchgeführt. Da alle unteren Kammern der Versuchskörper auch nach 48 Tagen frei von Mikroorganismen waren, konnte die Dichtigkeit des Testsystems über einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden. Zum Ausschluss einer Fremdkontamination während der Probenentnahme, beziehungsweise schon bei der Herstellung der Versuchskörper oder durch ungenügend sterilisierte Materialien, wurde die Fremdkontaminationskontrolle durchgeführt. Bei der Kontrolle der oberen und unteren Kammer wurde in einem Zeitraum von 48 Tagen kein Bakterienwachstum nachgewiesen. Somit konnte eine Fremdkontamination während der Herstellung der Versuchskörper und während der Probenentnahme ausgeschlossen werden. Es konnte gezeigt werden, dass das Autoklavierverfahren der Zähne auch im Wurzelkanal erfolgreich war.

Für die Durchlässigkeits-, Dichtigkeits- und Fremdkontaminationskontrollen zur Anwendbarkeit des entwickelten Testsystems wurde sowohl ein qualitatives Nachweisverfahren mit Dreiösenausstrichen, als auch ein quantitatives Nachweisverfahren mit Verdünnungsreihen in Dreifachbestimmung (Tab. 5) durchgeführt. Die Ergebnisse beider Nachweisverfahren über den Zeitpunkt der Kontamination der unteren Kammer mit dem Testbakterium stimmen miteinander überein.

Tabelle 5: Ergebnisse der Verdünnungsreihen der Versuche zur Anwendbarkeit des Testsystems in Mittelwert \pm Standardabweichung (Einheit: KBE/ml)

Kontrollgruppen	Entnahmetag	Kammer A [KBE/ml]	Kammer B [KBE/ml]
Durchlässigkeitskontrolle (n=6)	0	$4,8 \times 10^8 \pm 4,0 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7 \pm 7,7 \times 10^7$
Dichtigkeitskontrolle (n=6)	0	$5,2 \times 10^8 \pm 3,2 \times 10^8$	kein Wachstum
Fremdkontaminationskontrolle (n=8)	0	kein Wachstum	kein Wachstum
Durchlässigkeitskontrolle (n=6)	1	$7,5 \times 10^8 \pm 5,2 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8 \pm 7,1 \times 10^7$
Dichtigkeitskontrolle (n=6)	1	$2,6 \times 10^8 \pm 2,0 \times 10^8$	kein Wachstum
Fremdkontaminationskontrolle (n=8)	1	kein Wachstum	kein Wachstum
Durchlässigkeitskontrolle (n=6)	7	$2,7 \times 10^7 \pm 1,7 \times 10^7$	$2,9 \times 10^6 \pm 5,5 \times 10^6$
Dichtigkeitskontrolle (n=6)	7	$6,2 \times 10^6 \pm 6,0 \times 10^6$	kein Wachstum
Fremdkontaminationskontrolle (n=8)	7	kein Wachstum	kein Wachstum

4.5 Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit einem qualitativen Nachweisverfahren

Zur exemplarischen Überprüfung des Testsystems sollten unterschiedliche Materialien zur Wurzelkanalfüllung getestet werden. Um dies darzustellen, wurde Guttapercha allein und mit zwei unterschiedlichen Sealern in Kombination mit lateraler Kondensation getestet. Zum qualitativen Nachweis auf Bakterien wurde ein Dreiösenausstrich durchgeführt.

4.5.1. Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha in Kombination mit lateraler Kondensation

Die exemplarische Überprüfung von Guttapercha ergab, dass bereits ab Tag 0 83% (5 von 6 Versuchskörpern) der Versuchskörper im Mittelwert bakteriendurchlässig waren. Ab dem 19. Tag waren 6 von 6 Versuchskörpern mit ausschließlich mit Guttapercha gefüllten Zähnen bakteriendurchlässig (Abb. 31). Diese Ergebnisse konnten mittels Dreiosenausstrich als Methode zum qualitativen Bakteriennachweis ermittelt werden.

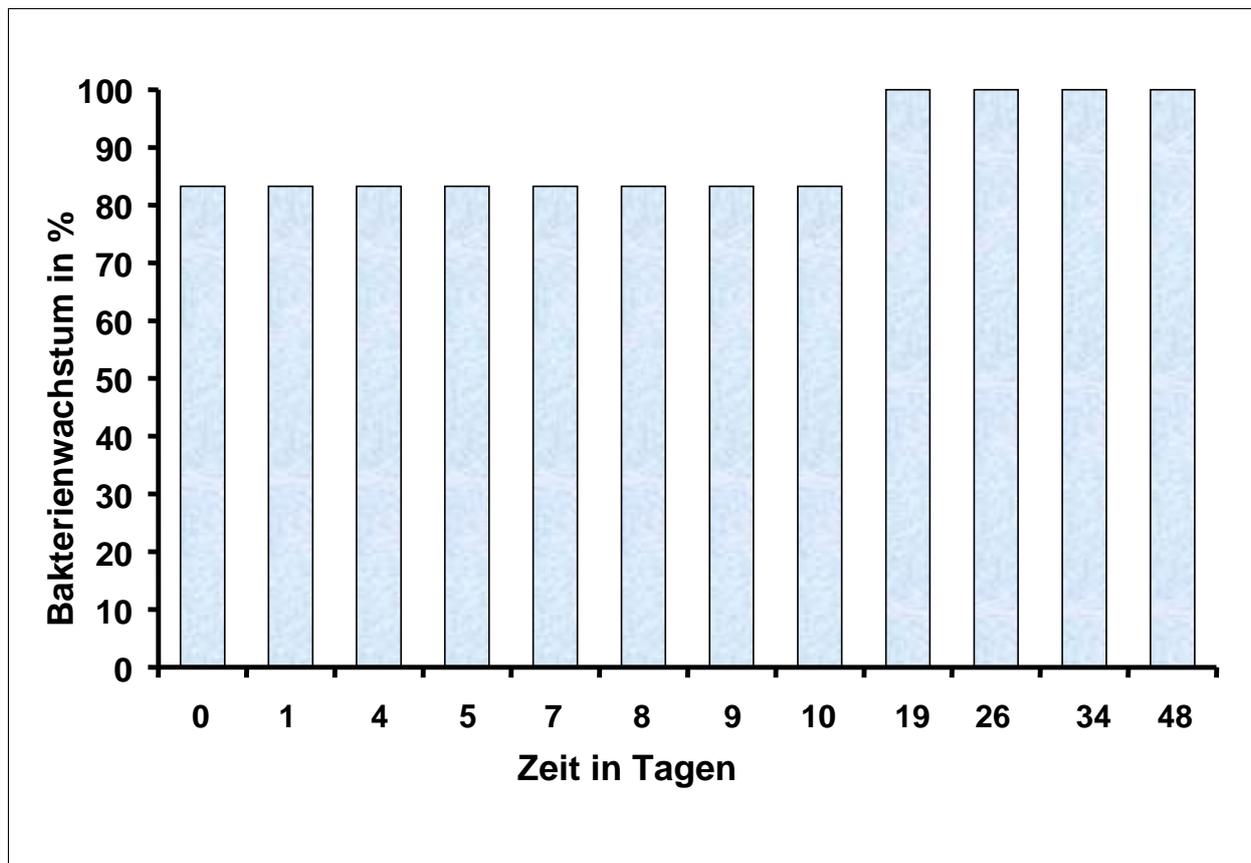


Abbildung 31: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha in Kammer B der Versuchskörper (n=6)

4.5.2 Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer AH Plus™ in Kombination mit lateraler Kondensation

Bei der exemplarischen Überprüfung von Guttapercha und dem Sealer AH Plus™ in lateraler Kondensation waren 17% der Versuchskörper (1 von 6) ab Tag 7 bakteriendurchlässig. Ab Tag 9 lag die Bakteriendurchlässigkeit der wurzelgefüllten Zähne bei 33% (2 von 6) und am Tag 19 bei 50% der Prüfkörper (3 von 6) eine Kontamination der unteren Kammer vor. Ab dem Tag 26 stieg die Anzahl der Prüfkörper mit einer kontaminierten unteren Kammer auf 67% (4 von 6) an und blieb bis zum Tag der letzten Probenentnahme auf diesem Niveau (Abb. 32).

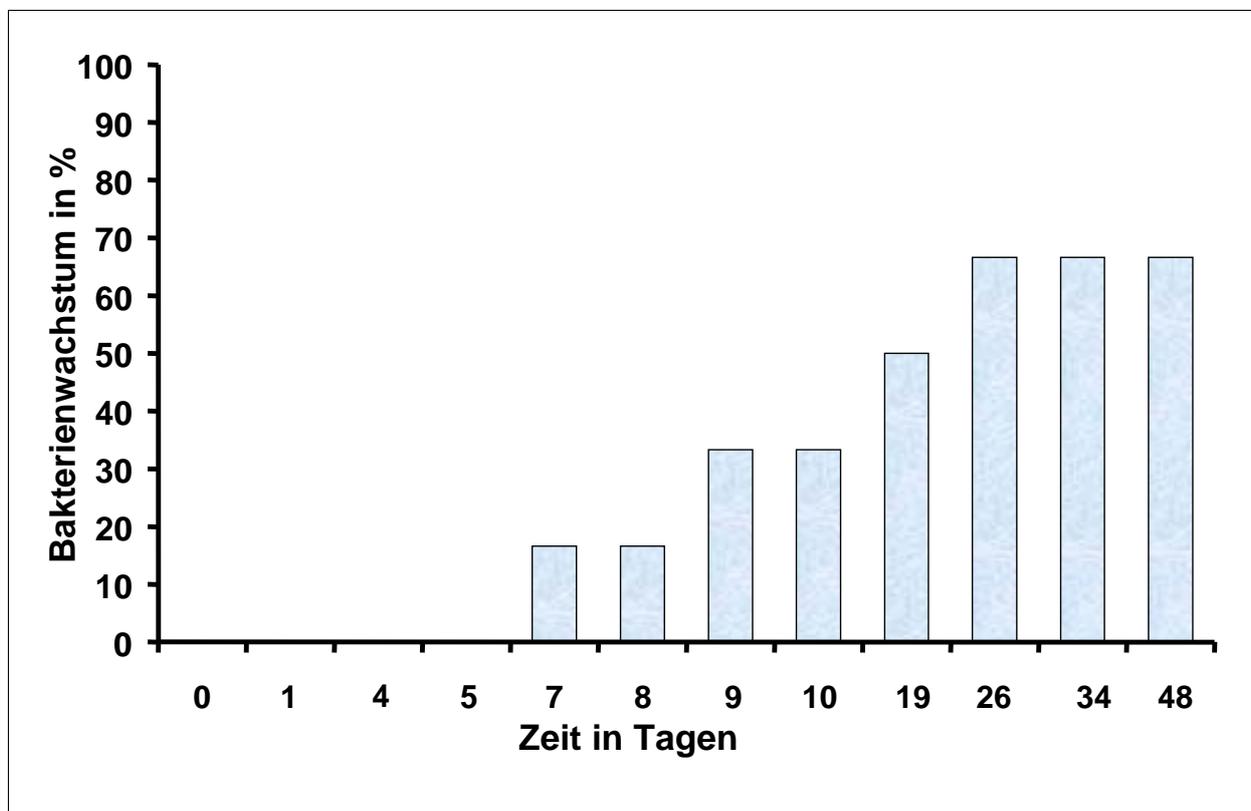


Abbildung 32: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha und AH Plus™ in Kammer B der Versuchskörper (n=6)

4.5.3 Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer EndoREZ® in Kombination mit lateraler Kondensation

Die exemplarische Überprüfung der Versuchskörper mit Guttapercha und dem Sealer EndoREZ® ergab ab Tag 9 eine Bakteriendurchlässigkeit der Wurzelkanalfüllung von 17% der Prüfkörper (1 von 6). Ab dem 10. Tag stieg die Anzahl der Versuchskörper mit kontaminierten unteren Kammern auf 50% (3 von 6) an. Diese Zahl änderte sich nicht bis zum letzten Tag der Probenentnahme (Abb. 33).

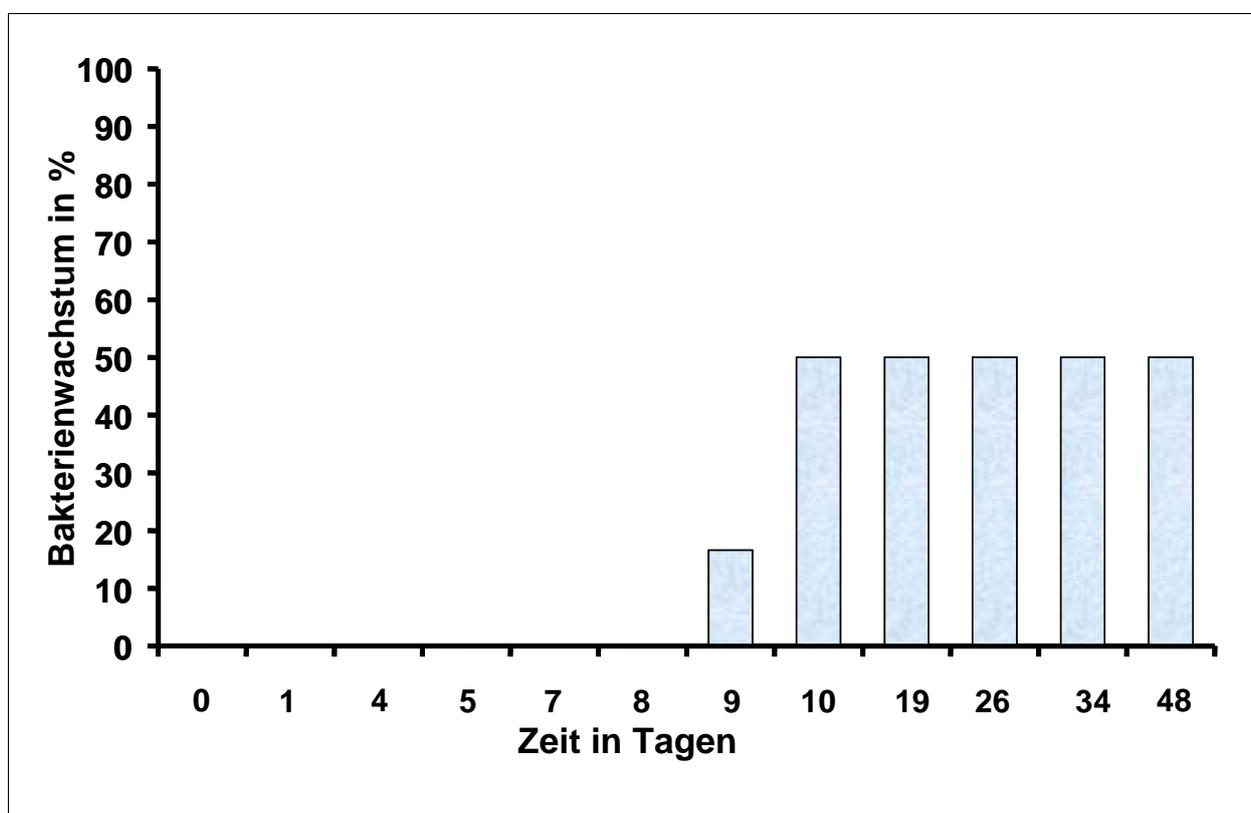


Abbildung 33: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha und EndoREZ® in Kammer B der Versuchskörper (n=6)

4.6 Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit einem quantitativen Nachweisverfahren

Der quantitative Bakteriennachweis konnte mittels Verdünnungsreihen in Dreifachbestimmung am Tag 0, 1 und 7 durchgeführt werden.

4.6.1 Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha in Kombination mit lateraler Kondensation

Dieser ergab für den Tag 0 im Mittelwert eine bakterielle Besiedelung der unteren Kammer von $4,4 \times 10^6 \pm 3,9 \times 10^6$ KBE/ml. Am Tag 1 konnte ein Mittelwert \pm Standardabweichung von $8,8 \times 10^7 \pm 6,7 \times 10^7$ KBE/ml und am Tag 7 $3,0 \times 10^5 \pm 2,2 \times 10^5$ KBE/ml quantifiziert werden (Tab. 6).

4.6.2 Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer AH Plus™ in Kombination mit lateraler Kondensation

Die Auswertung der quantitativen Ergebnisse zur bakteriellen Besiedelung der unteren Kammer mittels Verdünnungsreihe ergab ab Tag 7 eine bakterielle Kontamination der unteren Kammer mit einem Mittelwert \pm Standardabweichung von $5,6 \times 10^7 \pm 4,3 \times 10^7$ KBE/ml. Am Messtag 0 und 1 lag keine Kontamination der unteren Kammer vor (Tab. 6). Auch bei der Überprüfung von Guttapercha und AH Plus™ konnten sowohl das qualitative als auch das quantitative Nachweisverfahren angewendet werden. Die Ergebnisse decken sich zeitlich.

4.6.3 Exemplarische Überprüfung: Bakteriendurchlässigkeit von Guttapercha mit dem Sealer EndoREZ® in Kombination mit lateraler Kondensation

Die Ergebnisse der am Tag 0, 1 und 7 durchgeführten Verdünnungsreihen zur quantitativen Bakteriennachweis lagen bei einem Mittelwert \pm Standardabweichung von 0 ± 0 KBE/ml in den B-Kammern der Versuchskörper (Tab. 6). Das entspricht den Ergebnissen der Dreiösenausstriche.

Tabelle 6: Ergebnisse der Verdünnungsreihen bei der exemplarischen Überprüfung des Testsystems in Mittelwert \pm Standardabweichung (Einheit: KBE/ml)

Material (jeweils n=6)	Entnahmetag	Kammer A [KBE/ml]	Kammer B [KBE/ml]
Guttapercha	0	$1,4 \times 10^8 \pm 8,8 \times 10^7$	$4,4 \times 10^6 \pm 3,9 \times 10^6$
Guttapercha/AH Plus™	0	$2,2 \times 10^8 \pm 2,7 \times 10^8$	kein Wachstum
Guttapercha/EndoREZ®	0	$1,4 \times 10^8 \pm 9,9 \times 10^7$	kein Wachstum
Guttapercha	1	$4,0 \times 10^8 \pm 3,9 \times 10^8$	$8,8 \times 10^7 \pm 6,7 \times 10^7$
Guttapercha/AH Plus™	1	$2,0 \times 10^8 \pm 1,8 \times 10^8$	kein Wachstum
Guttapercha/EndoREZ®	1	$3,3 \times 10^8 \pm 3,8 \times 10^8$	kein Wachstum
Guttapercha	7	$1,9 \times 10^7 \pm 1,4 \times 10^7$	$3,0 \times 10^5 \pm 2,2 \times 10^5$
Guttapercha/AH Plus™	7	$1,4 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^7$	$5,6 \times 10^7 \pm 4,3 \times 10^7$
Guttapercha/EndoREZ®	7	$1,8 \times 10^7 \pm 1,4 \times 10^7$	kein Wachstum

Die Ergebnisse zeigen, dass zwei unterschiedliche Nachweisverfahren zur Überprüfung der Bakteriendurchlässigkeit bei Guttapercha angewendet werden können. Die Ergebnisse des quantitativen und des qualitativen Bakteriennachweises stehen in zeitlicher Übereinstimmung zueinander.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass mit dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Testsystem die Bakteriendurchlässigkeit von unterschiedlichen Wurzelkanalfüllmaterialien untersucht werden kann. Das durch die Wurzelfüllung von der oberen in die untere Kammer gelangte Testbakterium ist sowohl quantitativ als auch qualitativ zu beurteilen. Hierbei erweist sich das qualitative Nachweisverfahren als am besten geeignet, da lediglich die Aussage getroffen werden muss, ob eine Wurzelkanalfüllung für Bakterien durchlässig geworden ist und nicht, wie viele Bakterien durch die Wurzelkanalfüllung diffundieren; zudem ist die qualitative Nachweismethode kostengünstiger und zeitsparender.

5 Diskussion

5.1 Bisherige Testsysteme

Um Wurzelkanalfüllmaterialien zu testen und direkt miteinander vergleichen zu können, ist ein Testsystem notwendig, welches aus verfügbaren, bekannten Materialien besteht und für Langzeituntersuchungen eingesetzt werden kann. Es sollte sich um ein bakterielles Testsystem handeln, um die Gegebenheiten der Mundhöhle simulieren zu können. Die Vorbereitungen der Materialien sollten ebenfalls mit gängigen Verfahren durchzuführen sein. Zudem sollte der Aufbau durch eine Probenentnahme in seiner Stabilität nicht gefährdet werden. Eine Fremdkontamination während der Probenentnahme muss zu vermeiden sein.

Bei den Testsystemen nach Barthel et al. [2001] (Abb. 6), Miletić et al. [2002] (Abb. 7) und De Deus et al. [2006b] (Abb. 9) wurde die Gassterilisation mit Ethylenoxid angewendet. Durch die hohe Toxizität der Gase, die enorme Explosionsgefahr und die komplizierte Handhabung gilt dieser Sterilisationsvorgang als nicht mehr zeitgemäß und ist im klinischen Routinebetrieb nur noch in geringem Umfang vorzufinden [Amaechi et al. 1998].

Die Zähne für das Testsystem nach Clark-Holke [2003] (Abb. 8) wurden in sterilem destilliertem Wasser gewaschen und in Thymol aufbewahrt. Anschließend wurden die Wurzelkanäle aufbereitet und gefüllt. Zur Fixierung der Zähne im Testsystem wurde Klebewachs verwendet, welches nicht sterilisiert werden kann. Eine Fremdkontamination ist nicht auszuschließen.

Bei den Testsystemen nach Barthel et al. [2001] (Abb. 6), Miletić et al. [2002] (Abb. 7) und De Deus et al. [2006b] (Abb. 9) ist eine Mehrfachentnahme nicht möglich, da beide Kammern voneinander getrennt werden müssen, um eine Probe zu entnehmen. Damit ist der Versuchskörper nicht erneut zu verwenden und nicht für Langzeituntersuchungen mit mehrfacher Probenentnahme geeignet.

5.2 Vergleich des in dieser Pilotstudie entwickelten Testsystems mit vorhandenen Systemen

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Testsystem zur Untersuchung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien entwickelt (Abb. 30). Dabei konnte gezeigt werden, dass es möglich ist ein System herzustellen, mit dem ausgewählte hygienische, mikrobiologische und zahnmedizinische Fragestellungen überprüft werden können. Zusätzlich konnte das entwickelte System für eine Inkubation bei 400 U/min und zur

häufigen Probenentnahme stabilisiert werden. Weiterhin konnte in dieser Arbeit exemplarisch gezeigt werden, dass unterschiedliche zahnärztliche Materialien unter gleichen Bedingungen direkt miteinander verglichen werden können.

Gegen den Einsatz von Ethylenoxid in der vorliegenden experimentellen Arbeit spricht, dass keine Aussage über den Verbleib toxischer Substanzen in den Wurzelkanälen getroffen werden kann. Zudem gilt das Autoklavierverfahren als die effizienteste und am weitesten verbreitete Methode zur Sterilisation von Zähnen [Amaechi et al., 1998]. Da jede Komponente für das in dieser Arbeit entwickelte Testsystem entweder autoklaviert oder auf Kontaminationsfreiheit überprüft wurde, lässt sich das Risiko einer Fremdkontamination und damit einhergehende falsch positive Ergebnisse minimieren. Zudem erfolgte die Wurzelkanalfüllung und die Fertigung der Versuchskörper unter sterilen Bedingungen unter der Clean Bench. Die Probenentnahmen erfolgten ebenfalls unter sterilen Bedingungen.

Im Gegensatz zu den Testsystemen nach Barthel et al. [2001], Miletić et al. [2002], Clark-Holke [2003] sowie De Deus et al. [2006b] wurde durch die Verwendung des Kunststoffes Pattern Resin eine Stabilisierung der Versuchskörper erreicht. Jeder Versuchskörper konnte dadurch auf einem Schüttelrührer inkubiert werden und hielt dieser mechanischen und thermischen Belastung stand. Somit konnte die Bakteriensuspension in Bewegung gehalten und ein Absetzen der Bakterien vermieden werden.

Im Vergleich zu den Testsystemen nach Barthel et al. [2001] (Abb. 6), Miletić et al. [2002] (Abb. 7) und De Deus et al. [2006b] (Abb. 9) kann bei dem in dieser Arbeit entwickelten Testsystem eine Probenahme unter sterilen Bedingungen wiederholt erfolgen. Da die obere und die untere Kammer unabhängig voneinander durch den Drehverschluss geöffnet und auch wieder geschlossen werden können, ist eine Fremdkontamination vermeidbar und das System auch weiterhin für Probenentnahmen unter sterilen Bedingungen nutzbar. Somit ist der Prüfkörper für Langzeituntersuchungen mit regelmäßigen Probenentnahmen und eventuell zusätzlich notwendiger Befüllung einsetzbar.

Ein weiterer Vorteil der Probenentnahme aus beiden voneinander getrennten Kammern liegt darin, dass neben einer rein optischen Einschätzung einer bakteriellen Kontamination durch eine vorliegende Trübung der Nährbouillon zusätzlich mehrmalige mikrobiologische Nachweisverfahren durchgeführt werden können. Dies steht im Gegensatz zu den Systemen nach Barthel et al. [2001], Miletić et al. [2002] sowie De Deus et al. [2006b], bei denen eine Kontamination lediglich durch Trübung nachweisbar ist oder nur eine einmalige Probenentnahme erfolgen kann, wobei eine anschließende Wiederverwendung nicht mehr

möglich ist. Bei dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten System ist dem gegenüber frühzeitig eine Aussage über die Durchlässigkeit der Wurzelkanalfüllmaterialien für Bakterien zu treffen, ehe eine Trübung der Bouillon sichtbar wäre. Das macht die Beantwortung der Fragestellung möglich, zu welchem Zeitpunkt eine bakterielle Infektion der regio apicalis auftritt und unbehandelt zu einer apikalen Parodontitis führen kann. Durch mögliche Ergebnisse über das Langzeitverhalten von Wurzelkanalfüllmaterialien unter realitätsnahen Bedingungen könnten Aussagen getroffen werden, die gegebenenfalls entstehende schwere Infektionen des Kieferknochens bis zur Folge des Zahnverlustes verhindern könnten.

5.3 Aufbau des Testsystems

5.3.1 Vereinheitlichung und Stabilisierung

Jeder Zahn wurde nach identischem Vorgehen verarbeitet, d.h. zur Aufbereitung der Wurzelkanäle aller Zähne wurde dieselbe Sequenzart verwendet und jeder Prüfkörper wurde aus den gleichen Materialien erstellt. Da von Seiten der Versuchsanordnung keine Variablen entstanden, konnten unterschiedliche Wurzelfüllmaterialien unter identischen Bedingungen geprüft und miteinander verglichen werden.

Um jeden Prüfkörper über die gesamte Testzeit in einem Inkubator bei 400 U/min ohne Beschädigung bebrüten zu können, war eine ausreichende Stabilisierung des Testsystems notwendig, damit es der mechanischen Belastung standhalten konnte. Die Stabilisierung wurde mit Hilfe des zahnärztlichen Kunststoffes Pattern Resin erreicht. Durch die starre Verbindung der beiden Kammern konnte eine Drehbewegung der Gläser beim Öffnen beziehungsweise während der Probenentnahme vermieden werden. Durch ein unfreiwilliges Verdrehen wäre der Kontakt zwischen Impregum[™] und Zahnwand gefährdet gewesen und Bakterien hätten leicht aus der oberen in die untere Kammer gelangen können. Dass diese Stabilisierung in den 48 Tagen suffizient war, konnte mit den Dichtigkeitskontrollen bewiesen werden (Tab. 5). Dabei wurden untrennierte Zähne verwendet. In die obere Kammer wurde das Testbakterium *P. aeruginosa* gegeben. Aus der unteren Kammer wurden über den gesamten Testzeitraum regelmäßig Proben entnommen und sowohl quantitativ als auch qualitativ auf ein Bakterienwachstum untersucht. Da in den unteren Kammern keine Kontamination mit dem Testbakterium nachzuweisen war, konnte gezeigt werden, dass die angewendeten Maßnahmen zur Vereinheitlichung und Stabilisierung des entwickelten Testsystems ausreichend waren.

5.3.2 Bakteriostatische und bakteriotoxische Eigenschaften der verwendeten Testmaterialien

Die zur Herstellung des Testsystems verwendeten Materialien wurden mit dem Hemmhofstest auf eine mögliche Beeinflussung des Bakterienwachstums überprüft (Tab. 4). Die Papierspitzen, Guttapercha und das ImpregumTM zeigten keinen Hemmhof und konnten somit ohne Bedenken im Prüfkörper angewendet werden. Die Sealer AH PlusTM und EndoREZ[®] hatten beide Einfluss auf das Wachstum von *P. aeruginosa*. Der Hemmhof von EndoREZ[®] war etwas ausgeprägter als der Hemmhof von AH PlusTM. Somit besitzt EndoREZ[®] eine stärkere inhibitorische Wirkung. Sealer wie AH PlusTM und EndoREZ[®] haben in der Endodontie die Aufgabe, einen direkten Verbund zwischen Wurzelkanalfüllmaterialien und Wurzelkanalwand zu schaffen. Dadurch soll mechanisch verhindert werden, dass Bakterien in den Apex vordringen. Zusätzlich sollen die Sealer über eine Bakterientoxizität verfügen, damit die eventuell im Wurzelkanal verbliebenen Bakterien abgetötet werden. Diese Wirkung hat sich in der exemplarischen Überprüfung nicht auf die Ergebnisse ausgewirkt. Es konnte weiterhin *P. aeruginosa* in der Kammer A nachgewiesen werden.

Die mögliche Insuffizienz der gesamten Wurzelkanalfüllung stellt ein Hauptproblem in der Endodontie dar. Dabei ist der Zeitpunkt der Insuffizienzen von großer Bedeutung. Dieser ist mit dem entwickelten Testsystem nachweisbar. Daraus lässt sich schließen, wie lange eine Wurzelkanalfüllung mit unterschiedlichen Sealern und beispielsweise einer provisorischen Füllung der Zugangskavität bakteriendicht ist. Dieses Erkenntnis kann gegebenenfalls praktisch genutzt werden, um abzuschätzen, welches Füllungsmaterial angebracht ist, um die Wurzelkanalfüllung auch von koronal von der Mundhöhle abzuschirmen.

5.4 Anforderungen und Anwendbarkeit des Testsystems

5.4.1 Hygienische Anforderungen

Um den hygienischen Ansprüchen gerecht zu werden und eine Kontamination des Prüfkörpers zu vermeiden, wurden alle Zähne in 0,9%iger Kochsalzlösung bei 121°C und 1 bar für 20 Minuten im Dampfsterilisator nach der maschinellen Wurzelkanalaufbereitung autoklaviert. Dieser Vorgang ist nötig, da Bakterientoxine und infiziertes oder steriles Pulpagewebe nach erfolgter Wurzelkanalbehandlung in unbehandelten Bereichen verbleiben können [Peters, 2004]. Diese sind für den Misserfolg einer endodontischen Therapie mitverantwortlich, da verbliebene Mikroorganismen in der Lage sind, sich in den Seitenkanälen und in den akzessorischen Wurzelkanälen zu vermehren. Bakterien besitzen

die Fähigkeit, über das Foramen apicale das periapikale Gewebe zu besiedeln. Dort kommt es dann häufig durch Endotoxine zu einer Entzündung, der Parodontitis apicalis [Reuver, 2005].

Alle Komponenten des Testsystems, die zu einer Fremdkontamination führen konnten, wurden sterilisiert. Mit der Untersuchung auf eine externe Kontamination mit Proben in TSB und auf Columbia-Agar konnte kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden. Die Prüfkörper zur Fremdkontaminationskontrolle blieben über den gesamten Zeitraum von 48 Tagen ohne einen Nachweis einer bakteriellen Besiedlung (Tab. 5). Dies konnte durch mehrere Probenentnahmen und Nachweisverfahren auf bakterielles Wachstum belegt werden.

5.4.2 Mikrobiologische Anforderungen

Die Wachstumsbedingungen für das Testbakterium konnten durch das Universalnährmedium TSB, die Prüfung der bakteriostatischen und bakteriotoxischen Eigenschaften der zahnärztlichen Materialien sowie durch eine Inkubation bei 37°C und 400 U/min erfüllt werden. Somit konnten die zugeführten Testbakterien unter den erforderlichen Umweltbedingungen metabolisieren und sich vermehren. Durch die Lagerung in einem Inkubator mit Rüttelplatte konnte ein Absetzen der Bakterien verhindert und eine gleichmäßige Bewegung der Nährlösung erreicht werden. Zudem konnten anaerobe Bedingungen für *P. aeruginosa* geschaffen werden, da die Kammern mit einem Schraubverschluss luftdicht geschlossen werden konnten. Da das Bakterium fakultativ anaerob metabolisiert, musste während der Probenentnahme nicht auf die Sauerstoffzufuhr geachtet werden. Es musste ausschließlich das Überleben von *P. aeruginosa* sichergestellt werden. Dass diese Anforderung erfüllt wurde, zeigen die Durchlässigkeitskontrollen (Tab. 5). Über einen Zeitraum von 48 Tagen konnte mittels mikrobiologischer Nachweisverfahren das Überleben und die Vermehrung des Testbakteriums nachgewiesen werden.

5.4.3 Zahnmedizinische Anforderungen

Das Testsystem konnte mit Hilfe von handelsüblichen, bereitstehenden zahnärztlichen Materialien entwickelt werden. Zur Fixierung der beiden Kammern und dem dazwischenliegenden Zahn konnte ein gängiges Abformmaterial (Impregum™) verwendet werden. Das Impregum™ erwies sich über den Versuchszeitraum von 48 Tagen als dicht und dimensionsstabil. Mit Hilfe der Stabilisierung von außen durch den dentalen Kunststoff Pattern Resin blieben beide Kammern voneinander abgeschlossen. Diese Aussage konnte

in den Dichtigkeitsprüfungen (Tab. 5) mit untrepanierten Zähnen bewiesen werden.

Durch die Entwicklung eines 2-Kammer-Systems, die Inkubation bei 37°C, die Verwendung der Nährlösung TSB und dem parodontitisrelevanten Testbakterium *P. aeruginosa* konnte ein Bereich der natürlichen oralen Flora simuliert werden. Da *P. aeruginosa* als fakultativ anaerober Mikroorganismus Sauerstoff verstoffwechselt [Worlitzsch et al., 2002] können im Einzelfall auch in Kammer B anaerobe Verhältnisse vorliegen, ohne dass das Testbakterium zu Grunde geht. Auch *in vivo*, d.h. im Kieferknochen sind in der regio apicalis ebenfalls sauerstoffarme Verhältnisse vorzufinden [Assed et al., 1996].

Somit wurde ein *in vitro*-Prüfkörper unter Einbeziehung der *in vivo*-Bedingungen entwickelt, d.h. ein Testsystem, das in der Lage ist, die jeweilige Fragestellung realitätsnah beantworten zu können.

5.5 Exemplarische Überprüfung des Testsystems mit unterschiedlichen Wurzelkanalfüllmaterialien

5.5.1 Auswahl der Wurzelkanalfüllmaterialien

Da die alleinige Anwendung von Guttapercha für eine erfolgreiche dichte Wurzelkanalfüllung nicht ausreichend ist, wurde bei der exemplarischen Überprüfung des Testsystems zusätzlich eine Kombination aus Guttapercha und Sealer verwendet [Hata et al., 1995; Pommel und Camps, 2001]. Einige Sealer sind während ihrer Abbindephase nicht dimensionsstabil genug. Es kann zu einer Schrumpfung von mehr als 1% kommen. Dies reicht aus, um einen Raum für Bakterien zu schaffen [Orstavik et al., 2001].

Auf Grund der geringen Expansion von 1% während des Abbindeprozesses ist AH Plus™ das Mittel der Wahl und am meisten verbreitet [Orstavik et al., 2001]. AH Plus™ basiert auf Epoxid-Amin-Polymer und ist ein röntgenopakes Zweikomponenten-Wurzelkanalfüllmaterial. AH Plus™ härtet erst nach 24 Stunden aus. Durch die lange Aushärtungsphase lässt sich AH Plus™ im Falle einer Revision wieder leicht entfernen.

In der Endodontie gewinnen mittlerweile adhäsive Sealer gegenüber den konventionellen Sealern an Popularität [Thonemann et al., 2007]. Dazu zählt unter anderem der EndoREZ®-Sealer. Es handelt sich hierbei um einen dualhärtenden Sealer. EndoREZ® ist der einzige hydrophile Sealer, der keinen Primer benötigt. Er hat hervorragende Fließ- und Benetzungseigenschaften und lässt sich optimal blasenfrei applizieren. Es kommt zu einer Abbindephase mit vollständiger Aushärtung. Dennoch ist der Sealer für Stiftpräparationen und Revisionen leicht entfernbar. Durch seine hydrophilen Eigenschaften ist auch bei leicht

feuchten Kanälen ein randdichter Verschluss möglich. EndoREZ[®] ist ein UDMA-basiertes Komposit. Dank der Dualhärtung kann nach Aushärtung der obersten Schicht mit Licht sofort eine Deckfüllung gelegt werden. Der Sealer ist biokompatibel und weist eine ähnliche Röntgenopazität wie Guttapercha auf [Herbert et al., 2008].

Zur exemplarischen Überprüfung des Testsystems wurden der AH Plus[™]-Sealer als der am weitesten verbreitete konventionelle Sealer und der EndoREZ[®]-Sealer als neuer und weiterentwickelter Sealer aus der Gruppe der adhäsiven Versiegler verwendet. Durch diese Auswahl der Sealer wurden ein konventionelles Produkt und ein hochinnovatives Produkt für die exemplarische Überprüfung der Anwendbarkeit des Testsystems verwendet. Damit konnte gezeigt werden, dass das System in der Lage ist, sowohl etablierte Materialien, als auch Materialien, die entweder neuentwickelt oder noch in der Erprobung sind, zu überprüfen.

5.5.2 Bakteriendurchlässigkeit der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien

In den Untersuchungen konnte exemplarisch gezeigt werden, dass Guttapercha allein ohne einen Verschluss durch eine Aufbaufüllung bereits ab dem ersten Tag durchlässig für Bakterien ist. Das liegt daran, dass bei der alleinigen Anwendung von Guttapercha kein Verbund mit der Wurzelkanalwand erreicht wird und akzessorische Wurzelkanäle nicht gefüllt werden können [Skinner und Van Himmel, 1987]. Deshalb wird eine Kombination aus Guttapercha und einem Sealer empfohlen [Hata und Kawazoe, 1995; Page et al., 1995; European Society of Endodontology, 2006]. Sealer erfüllen die Aufgabe, kleine Lücken zwischen Kanalwand und Guttapercha auszugleichen sowie akzessorische Wurzelkanäle und Dentintubuli zu verschließen [Tronstad et al., 1988; Weiger et al., 1995; De Deus et al. 2006b].

Guttapercha mit dem AH Plus[™]-Sealer ist ohne eine Versorgung der Zugangskavität der Zähne in dieser Pilotstudie erst später durchlässig für Bakterien als Guttapercha allein, wobei im Vergleich zum EndoREZ[®]-Sealer eine kürzere Zeitspanne bis zur Insuffizienz der Wurzelkanalfüllung vorliegt. Dieses Ergebnis lässt sich auf die Materialeigenschaften von EndoREZ[®] zurückführen. Die meisten Sealer unterliegen einer Resorption. Aus diesem Grund sollte die Sealerschicht zwischen Guttapercha und Kanalwand so dünn wie möglich gehalten werden, um Hohlräume nach Resorption zu vermeiden [Mutal und Gani, 2005]. EndoREZ[®] ist durch den UDMA-basierten Kompositanteil resistenter gegenüber Resorptionsvorgängen. Außerdem ist EndoREZ[®] dualhärtend, somit schneller dicht, und hydrophil, was eine Randständigkeit an die Kanalwand ermöglicht.

Für alle drei untersuchten Varianten der Wurzelkanalfüllung war es möglich, qualitative und quantitative Nachweisverfahren anzuwenden. Obwohl beide Sealer einen hemmenden Einfluss auf das Wachstum von Bakterien haben, wie im Hemmhoftest gezeigt werden konnte, kam es nicht zu einem Absterben oder zu einer Beeinträchtigung des Stoffwechsels und der Vermehrung der zugeführten Bakterien. Somit ist anzunehmen, dass zwar eine leicht bakterizide Wirkung der Sealer vorliegt, diese aber nicht vor dem erneuten Eindringen von Mikroorganismen und einer daraus resultierenden Parodontitis apicalis schützt, sondern eher auf eventuell noch im Wurzelkanal verbliebene Bakterien wirkt.

Mit dem entwickelten Testsystem sind Langzeituntersuchungen unterschiedlicher Wurzelkanalfüllmaterialien denkbar, da durch die beiden voneinander getrennten und wiederverschließbaren Kammern ein erneutes Befüllen mit einem Nährmedium oder einer frischen Bakteriensuspension möglich ist. Dadurch können Aussagen über die Qualität und Anwendungsmöglichkeiten von Wurzelkanalfüllmaterialien auch über einen längeren Zeitraum getroffen werden.

5.6 Vergleich qualitativer und quantitativer Nachweisverfahren

Die Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien konnte durch zwei unterschiedliche Nachweisverfahren festgestellt werden. Die quantitative Bestimmung einer Kontamination der unteren Kammern erfolgte durch die mikrobiologische Verdünnungsreihe, die qualitative Bewertung mit dem Dreiösenausstrich. Hierbei zeigte sich, dass die Quantifikation des Testbakteriums (Verdünnungsreihe) zur Überprüfung der bakteriellen Durchlässigkeit nicht notwendig ist, da die Information ausreicht, wann die Wurzelkanalfüllung insuffizient wird, und nicht, in welcher Anzahl die Mikroorganismen durch die Wurzelfüllung diffundieren. Sobald die Füllung für Bakterien insuffizient wird, muss die Substratzufuhr und der Nachstrom weiterer Mikroorganismen gestoppt werden. Daher reicht es unserer Ansicht nach aus, ein rein qualitatives Vorgehen zu wählen. Außerdem ist die Anfertigung von Verdünnungsreihen sehr zeit- und materialaufwendig und daher mit hohen Kosten verbunden. Die Quantifikation des Testbakteriums ist zur Prüfung der bakteriellen Dichtigkeit nicht zwingend erforderlich. Um die Fragen zu klären, ob und wann Bakterien durch Wurzelkanalfüllungen gelangen, bietet der Dreiösenausstrich ausreichend zuverlässige Ergebnisse. Die Methode ist als kostengünstige Routinemethode der Bakterienquantifikation vorzuziehen.

Das in dieser Studie entwickelte System eignet sich, um Fragestellungen in der Zahnmedizin unter *in vivo*-ähnlichen *in vitro*-Bedingungen zu untersuchen.

Um statistisch belegbare Aussagen über die Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien treffen zu können, muss jedoch über diese Pilotstudie hinaus ein erhöhter Probenumfang geprüft werden.

5.7 Anwendungsmöglichkeiten

Das entwickelte Testsystem kann für eine Vielzahl von Fragestellungen in der Zahnmedizin eingesetzt werden. Es sind Langzeituntersuchungen unterschiedlichster Materialien und Methoden zur Aufbereitung und Füllung von Wurzelkanälen sowie von konservierenden und prothetischen Verschlüssen der endodontischen Zugangskavitäten denkbar.

Zusätzlich ist es mit diesem System möglich, kariostatische Substanzen wie Fluoride oder CHX-Lacke auf ihre Wirksamkeit bei bestrahlten Zähnen im Vergleich zu gesunden Zähnen zu prüfen. Durch den einheitlichen Aufbau sind beispielsweise ein direkter Vergleich von Füllungsmaterialien beziehungsweise das Verhalten der Randständigkeit sowie das Entstehen einer sekundären Karies unter Anwesenheit von Zuckern und Säuren möglich.

Auch eine Anwendung zur Klärung von Fragen in der Kieferorthopädie zur Kariesprophylaxe an festsitzenden kieferorthopädischen Apparaturen ist denkbar. Da in dem entwickelten Versuchskörper die Umgebungsbedingungen der Mundhöhle simuliert werden können, ist dieses System zur Testung neuer Materialien geeignet, bevor sie am Menschen angewendet werden können.

6 Schlussfolgerungen

Das im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelte Testsystem kann zur Klärung von diversen Fragestellungen in der Zahnmedizin eingesetzt werden, die auf der Grundlage einer Simulation der oralen Verhältnisse *in vitro* zu bearbeiten sind. Dabei beschränkt sich die Einsatzfähigkeit nicht nur auf das Gebiet der Endodontologie. Das Testsystem kann zusätzlich in anderen Teilbereichen der Zahnmedizin eingesetzt werden.

Das Design des Testkörpers wurde unter Berücksichtigung der in der Literatur von verschiedenen Autoren konzipierten, für vergleichbare Anwendungen einzusehenden Systeme, gestaltet. Dabei fanden deren Defizite, wie z.B. mangelnde Stabilität oder fehlende Möglichkeiten einer wiederholten Probenentnahme sowie schwierige Umsetzbarkeit für Routineprüfungen Berücksichtigung.

Die Verbesserungen führten zu einem Vorschlag eines Testsystems, das zur Überprüfung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien eingesetzt werden kann, sofern in weiteren Experimenten eine entsprechende Absicherung erzielt wird.

Im Vergleich mit Farbstoffpenetrationssystemen und Fluid Movement Methods konnte in der vorliegenden Arbeit ein bakterielles Testsystem entwickelt werden, mit dem es möglich ist die Situation der Mundhöhle unter mikrobiologischen und anatomischen Aspekten simulieren zu können. Dadurch sind realitätsnahe Aussagen über das Verhalten der Wurzelkanalfüllmaterialien möglich.

7 Zusammenfassung

Die chronische apikale Parodontitis stellt bei Patienten mit erfolgter endodontologischer Behandlung eine häufige Komplikation durch eine chronische bakteriell verursachte Inflammation des Parodonts dar. Wenn der Wurzelkanal infiziert ist und Wurzelkanalinstrumente über das Foramen apicale hinaus appliziert werden und somit das periapikale Gewebe verletzt wird, kann es zu einer Infektion des Parodonts kommen. Diese kann in eine chronische Inflammation mit daraus folgenden zystischen Veränderungen übergehen und zu osteolytischen Prozessen im Kieferknochen sowie Abszessen führen.

Die insuffiziente Wurzelkanalfüllung ist eine der häufigsten Ursachen für die chronisch apikale Parodontitis. Dabei ist zu klären, ob die verwendeten Materialien oder die angewandte Wurzelkanalfülltechnik den Grund für eine insuffiziente Wurzelkanalfüllung darstellen. Bisher ist keine ausreichend geeignete Methode entwickelt worden, um Wurzelkanalfüllmaterialien und Wurzelkanalfülltechniken auf bakterielle Dichtigkeit und Undurchlässigkeit unter praxisnahen Bedingungen zu testen.

Vor diesem Hintergrund wurde in dieser Studie ein Prüfsystem für die Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien entwickelt und unter praxisnahen *in vitro*-Bedingungen getestet. Zur experimentellen Überprüfung des entwickelten Testsystems wurden die Wurzelkanäle von kariesfreien Frontzähnen mit dem FlexMaster[®]-System maschinell aufbereitet. Anschließend wurden die wurzelkanalaufbereiteten Zähne autoklaviert. Unter sterilen Bedingungen wurden 6 Zähne mit Guttapercha, 6 Zähne mit Guttapercha und AH Plus[™]-Sealer und 6 Zähne mit Guttapercha und EndoREZ[®]-Sealer gefüllt. Anschließend wurde jeder Zahn in ein Zwei-Kammer-System überführt. Die Fixierung des Zahnes zwischen den Kammern und die Abdichtung der oberen von der unteren Kammer wurden durch die Verwendung des zahnärztlichen Abformmaterials Impregum[™] ermöglicht. Um einer Fremdkontamination vorzubeugen, wurden alle Arbeitsschritte unter keimarmen Bedingungen unter der Clean Bench durchgeführt. Um diesen Schritt auf mögliche Kontaminationen zu überprüfen, wurden 6 Prüfkörper mit trepanierten Zähnen und zwei Prüfkörper mit untrepantierten Zähnen bestückt. Beide Kammern wurden mit steriler TSB-Nährlösung befüllt. Die obere Kammer wurde mit dem Testbakterium *P. aeruginosa* kontaminiert. Zur Stabilisierung des Testsystems von außen wurde der zahnärztliche Kunststoff Pattern Resin appliziert. Die Versuchskörper wurden für 48 Tage bei 37°C und 400 U/min aerob inkubiert.

Um die Bakteriendurchlässigkeit beziehungsweise die Bewegung des Testbakteriums aus der oberen in die untere Kammer zu untersuchen, wurden 6 Versuchskörper mit aufbereiteten und ungefüllten Zähnen hergestellt. Für die Dichtigkeitsprüfung des Systems wurden 6 Prüfkörper mit untrepanierten Zähnen verwendet. Beide Kammern der Prüfkörper wurden mit TSB gefüllt und die obere zusätzlich mit dem Testbakterium *P. aeruginosa* versehen. Die hergestellten Prüfkörper wurden für 48 Tage bei 37°C und 400 U/min aerob inkubiert. Es wurden zwei mikrobiologische Nachweisverfahren erprobt, um die bakterielle Durchlässigkeit des Prüfsystems zu untersuchen. Die Verdünnungsreihe diente der quantitativen Bestimmung einer Kontamination und der Dreiösenausstrich der qualitativen Bestimmung einer bakteriellen Besiedelung. Die quantitative Bestimmung wurde am Tag 0, 1 und 7 durchgeführt. Die qualitativen Kontrollen erfolgten in einem Zeitraum von 48 Tagen in regelmäßigen Abständen. Zusätzlich erfolgte täglich eine optische Kontrolle der Kammern auf eine Trübung der TSB-Lösung.

Es konnte während des gesamten Testzeitraumes keine Fremdkontamination in mehreren Probenahmen nachgewiesen werden. Nach dem Testzeitraum von 48 Tagen waren 0 von 6 der Prüfkörper mit untrepanierten Zähnen bakteriendurchlässig. Der Aufbau des Prüfkörpers bestand somit die Dichtigkeitskontrolle. Die Versuchskörper zur Überprüfung der Bakteriendurchlässigkeit mit trepanierten, ungefüllten Zähnen zeigten eine bakterielle Besiedelung der unteren Kammer von 100%. Somit sind die mikrobiologischen Anforderungen zur Vermehrung von *P. aeruginosa* erfüllt und die grundsätzliche Möglichkeit einer Kontamination aus der oberen in die untere Kammer konnte gezeigt werden. Der Prüfkörper erfüllt zudem sowohl die Anforderungen der Bakteriendichtigkeit, als auch die der Sterilität gegenüber einer Fremdkontamination während der Anfertigung der Versuchskörper und der Probenentnahmen. Der entwickelte Prüfkörper ist daher für die Testung von Wurzelkanalfüllmaterialien auf Bakteriendurchlässigkeit geeignet.

Bei der exemplarischen Überprüfung der bakteriellen Durchlässigkeit waren 83% der nur mit Guttapercha gefüllten Wurzelkanäle bereits ab Tag 0 für *P. aeruginosa* durchlässig (Ergebnis der Verdünnungsreihe für die untere Kammer am Tag 0: $4,4 \times 10^6 \pm 7,9 \times 10^6$ KBE/ml). Bei den Proben, bei denen zusätzlich AH Plus™ als Sealer verwendet wurde, waren 17% ab Tag 7 (untere Kammer $5,6 \times 10^7 \pm 4,3 \times 10^7$ KBE/ml) und 67% nach 48 Tagen für *P. aeruginosa* durchlässig. Bei den Proben mit dem Sealer EndoREZ® waren 17% der Versuchskörper ab Tag 9 bakteriendurchlässig. Diese Zahl stieg nach 48 Tagen auf 50%. Beide Nachweisverfahren zeigten bis zum Tag 7 die gleichen Ergebnisse zur Überprüfung einer Kontamination der unteren Kammer.

In der vorliegenden Studie konnte ein System vorgestellt werden, mit dessen Hilfe die Qualität von Wurzelkanalfüllmaterialien unter *in vitro*-Bedingungen getestet werden kann. Es sind mehrere Probenentnahmen möglich, ohne den Testkörper verwerfen zu müssen. Es konnte die bakterielle Dichtigkeit nachgewiesen werden. Weiterhin zeigte sich, dass unterschiedliche Wurzelkanalfüllmaterialien sowie verschiedene Sealer mit dem Versuchsaufbau getestet und direkt miteinander verglichen werden können. Hierbei konnte ein qualitativer Unterschied zwischen AH Plus™ (67% am Tag 48) und EndoREZ® (50% am Tag 48) beobachtet werden. Wobei eine erweiterte Probenanzahl in zukünftigen Versuchsreihen notwendig ist, um eine statistisch signifikante Aussage treffen zu können.

Somit könnte das entwickelte System geeignet sein, um eine Vielzahl von Fragestellungen in der Zahnmedizin unter *in vivo*-ähnlichen *in vitro*-Bedingungen zu untersuchen.

8 Literatur

1. Ahlberg KF, Rowe AHR, Pitt Ford TR, Leigh B, Stock JR (1994) Consensus report of the European Society of Endodontology on quality guidelines for endodontic treatment. *Int Endod J* 27:115-124.
2. Ahmad IA (2009) Rubber dam usage for endodontic treatment: a review. *Int Endod J* 42:963-972.
3. Allen RK, Newton CW, Brown CE (1989) A statistical analysis of surgical and nonsurgical endodontic retreatment cases. *J Endod* 15:261.
4. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM (1998) Efficacy of Sterilisation Methods and Their Effect on Enamel Demineralisation. *Caries Res* 32:441-446.
5. American Dental Association, Seldin LW (2001) 1990 Survey of Dental Services Rendered. The future of dentistry. An overview of a new report. *J Am Dent Assoc* 132:1667-1677.
6. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM (1992) In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol* 8:104-108.
7. Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LA, Lopatin DE (1996) Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol* 12:66-69.
8. Barthel CR, Zimmer S, Wussogk R, Roulet JF (2001) Long-Term bacterial leakage along obturated roots restored with temporary and adhesive fillings. *J Endod* 27:559-562.
9. Baumgartner G, Zehnder M, Paque F (2007) Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with Gutta-percha/ AH plus or Resilon/ Epiphany. *J Endod* 33:45-47.
10. Bodrumlu E, Alaçam T (2007) The antimicrobial and antifungal activity of a root canal core material. *J Am Dent Assoc* 138:1228-1232.

11. Bystrom A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficiency of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89:321-328.
12. a Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G (1985) The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1:170-175.
12. b Bystrom A, Sundqvist G (1985) The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 18:35-40.
13. Camps J, Petrot WJ (1994) Torsional and stiffness properties of Canal Master U stainless steel and nitinol instruments. *J Endod* 20:395-398.
14. Clark-Holke D, Drake D, Walton R, Rivera E, Guthmiller JM (2003) Bacterial penetration through canals of endodontically treated teeth in the presence or absence of the smear layer. *J Dent* 31:275-281.
15. Coleman CL, Svec TA, Rieger MR, Suchina JA, Wang MM, Glickman GN (1996) Analysis of NiTi versus Stainless Steel Instrumentation by means of Direct Digital Imaging. *J Endod* 22:603-607.
16. a De Deus G, Gurgel Filho ED, Magalhaes KM, Coutinho Filho TA (2006) Laboratory analysis of gutta-percha-filled area obtained using Thermafill, System B and lateral condensation. *Int Endod J* 39:378-383.
16. b De Deus G, Murad CF, Reis CM, Gurgel-Filho E, Coutinho Filho T (2006) Analysis of sealing ability of different obturation techniques in oval shaped canals: a study using a bacterial leakage model. *Braz Oral Res* 20:64-69.
17. Dummer PM, Lyle L, Rawle J, Kennedy JK (1994) A laboratory study of root fillings in teeth obturated by lateral condensation of gutta-percha or Thermafil obturators. *Int Endod J* 27:32-38.
18. European Society of Endodontology (2006) Consensus report of the European Society of Endodontology on quality guidelines for endodontic treatments. *Int Endod J* 39:921-930.

19. Friedmann S, Lost C, Zarrabian M, Trope M (1995) Evaluation of success and failure after endodontic therapy using a glass ionomer cement sealer. *J Endod* 21:384-390.
20. Friedmann S, Mor C (2004) The success of endodontic therapy--healing and functionality. *J Calif Dent Assoc* 32:493-503.
21. Gilhooly RM, Hayes SJ, Bryant ST, Dummer PM (2000) Comparison of cold lateral condensation and a warm multiphase gutta-percha technique for obturating curved root canals. *Int Endod J* 33:415-420.
22. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M (2003) Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J* 36:411-417.
23. Grossmann LI, Oliet S, Del Rio CE: *Endodontic practice*. 11th Edition Philadelphia: Lea & Febiger, 1988, pp. 234-241, 242-270.
24. Hasselgren G, Olsson B, Cvek M (1988) Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod* 14:125-127.
25. Hata G, Kawazoe S, Toda T, Weine FS (1995) Sealing ability of thermoplasticized gutta-percha fill techniques as assessed by a new method of determining apical leakage. *J Endod* 21:167-172.
26. Hellwig E, Klimek J, Attin T: *Einführung in die Zahnerhaltung*. 3. Auflage, URBAN & Fischer-Verlag, München - Jena, 2003, S. 261-268, 270-271, 324-326.
27. Herbert J, Bruder M, Braunsteiner J, Buchmann G, Wrbas KT (2008) Literaturübersicht und klinische Anwendung eines neu entwickelten Wurzelkanalfüllmaterials - erste klinische Erfahrungsberichte mit EndoREZ®. *Stomatologie* 105:179-185.
28. Hermann BW: *Kalziumhydroxid als Mittel zum Behandeln und Füllen von Zahnwurzelkanälen*. Dissertation. Würzburg, 1920.

29. Hermann BW: Biologische Wurzelkanalbehandlung. Kramer Verlag, Frankfurt am Main, 1936, S. 109, 129, 131, 137.
30. Hülsmann M (1991) Determination of working length in endodontics. 2. Endometric determination of canal length. ZWR 100:86-88, 90, 92-93.
31. Hülsmann M, Schade M, Schafers F (2001) A comparative study of root canal preparation with HERO 642 and Quantec SC rotary Ni-Ti instruments. Int Endod J 34:538-546.
32. Hugoson A, Koch G, Bergendahl T, Hallonsten AL, Slotte C, Thorstensson B, Thorstensson (1995) Oral health of individuals aged 3-80 years in Jönköping, Sweden, in 1973 and 1983. II. A review of clinical and radiographic findings. Swed Dent J 19:243-60.
33. Ingle JL, Bakland LK: Endodontics. 4th Edition, Williams&Wilkins, Baltimore, 1994, p. 895.
34. Iqbal MK, Kim S (2008) A review of factors influencing treatment planning decisions of single-tooth implants versus preserving natural teeth with nonsurgical or endodontic therapy. J Endod 34:519-529.
35. Kersten HW, Moorer WR (1989) Particles and molecules in endodontic leakage. Int Endod J 22:118-124.
36. Klimek J, Kockapan C, Borchert J (1995) Häufigkeit und Qualität von Wurzelkanalfüllungen in den Jahren 1983 und 1991. Dtsch Zahnärztl Z 50:154.
37. KZBV-Jahrbuch Statistische Basisdaten zur vertragszahnärztlichen Versorgung. Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung Köln, 2002, S. 39-40.
38. Miletić I, Prpić-Mehićić G, Marsan T, Tambić-Andrasević A, Plesko S, Karlović Z, Anić I (2002) Bacterial and fungal microleakage of AH26 und AH Plus root canal sealers. Int Endod J 35:428-432.

39. Monticelli F, Sadek FT, Schuster GS, Volkmann KR, Looney SW, Ferrari M, Toledano M, Pashley DH, Tay FR (2007) Efficacy of two contemporary single-cone filling techniques in preventing bacterial leakage. *J Endod* 33:310-313.
40. Mutal L, Gani O (2005) Presence of pores and vacuoles in set endodontic sealers. *Int Endod J* 38:690-696.
41. Neumeister B, Geiss H, Braun R, Kimmig P: Mikrobiologische Diagnostik - Kapitel 15 Sensibilitätstestung. 2. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York, 2009, S. 259-296.
42. Orstavik D, Nordahl I, Tibballs JE (2001) Dimensional change following setting of root canal sealer materials. *Dent Mater* 17:512-519.
43. Page ML, Hargreaves KM, ElDeeb M (1995) Comparison of concentric condensation technique with laterally condensed gutta-percha. *J Endod* 21:308-313.
44. Peters OA (2004) Current Challenges and Concepts in the Root Canal Systems: A Review. *J Endod* 30:559-567.
45. Pommel L, Camps J (2001) In vitro leakage of system B compared with other filling techniques. *J Endod* 27:449-51.
46. Reuver H (2005): Nicht erfasste und nicht erschließbare endodontische Hohlräume. Teil 3: Mögliche Folgerungen für das Behandlungsergebnis und Wege zu einer vollständigen Erschließung. *Quintessenz Endodontie* 14:345-361.
47. Ridell K, Petersson A, Matsson L, Mejare I (2006) Periapical status and technical quality of root-filled teeth in Swedish adolescents and young adults. A retrospective study. *Acta Odontol Scand* 64:104-110.
48. Rodig T, Hulsmann M, Muhge M, Schafers F (2002) Quality of preparation of oval distal root canals in mandibular molars using nickel-titanium instruments. *Int Endod J* 35:919-928.
49. Schäfer E (2000) Wurzelkanalfüllmaterialien. *Dtsch Zahnärztl Z* 55:15-25.

50. Schäfer E, Lohmann D (2002) Efficiency of rotary nickel-titanium FlexMaster instruments compared with stainless steel hand K-Flexofile – Part 2. Cleaning effectiveness and instrumentation results in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J* 35:514-521.
51. Schäfer E, Zandbiglari T, Schafer J (2007) Influence of resin-based adhesive root canal fillings on the resistance to fracture of endodontically treated roots: an *in vitro* preliminary study. *Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 103:274-279.
52. Schilder H (1974) Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 18:269-296.
53. Siqueira JF (2001) Ursachen endodontischer Misserfolge. *Endodontie* 10:243-257.
54. Siqueira JF Jr (2002) Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94:281-93.
55. Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K (1990) Factors affecting the longterm results of endodontic treatment. *J Endod* 16:498-504.
56. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G (1997) Influence of Infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 30:297-306.
57. Skinner R, Van Himmel T (1987) The sealing ability of injection-molded thermoplasticized gutta-percha with and without the use of sealers. *J Endod* 13:315-317.
58. Städtler P: Zahnerhaltung in Kliniken und Praxis - Kapitel Endodontie. Ecomed Verlag, Landsberg/Lech, 1994, S. 339, 350, 402,444.
59. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrenner P, Hickey MJ, Brinkman FSL, Hufnagl WO, Kowalik DJ, Lagrou M, Garber RL, Goltry L, Tolentino E, Westbrook-Wadman S, Yuan Y, Brody LL, Coulter SN, Folger KR, Kas A, Larbig K, Lim R, Smith K, Spencer D, Wong GK-S, Wu Z, Paulsen IT, Relzer J, Saier MH, Hancock REW, Lory S, Olson MV (2000) Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 406:959-964.

60. Tay FR, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Pashley DH, Mak YF, Lay CN, Raina R, Williams MC (2005) Ultrastructural evaluation of the apical seal in roots filled with a polylactone-based root canal filling material. *J Endod* 31:514-519.
61. Tepel J (1995) Biegeverhalten von Wurzelkanalinstrumenten. *Dtsch Zahnärztl Z* 50:146-149.
62. Thonemann B, Federlin M, Schmalz G (2007) Die adhäsive Wurzelkanalfüllung. Ende der Ära Guttapercha? *Bayer Zahnärztebl* 04:29-31.
63. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I (1980) pH changes dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 7:17-21.
64. Tronstad L, Barnett F, Flax M (1988) Solubility and biocompatibility of calcium-hydroxid-containing root canal sealers. *Endod Dent Traumatol* 4:152-159.
65. Türkün M, Cengiz T (1997) The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *Int Endod J* 30:335-342.
66. Verissimo DM, Sampaio do Vale M, Monteiro AJ (2007) Comparison of apical leakage between canals filled with gutta-percha/ AH-Plus and the Resilon/ Epiphany System, when submitted to two filling techniques. *J Endod* 33:291-294.
67. Weiger R, Heuchert T, Hahn R, Löst C (1995) Adhesion of a glass ionomer cement to human radicular dentin. *Endod Dent Traumatol* 11:214-219.
68. Weiger R, Hitzler S, Hermle G, Löst C (1997) Periapical status, quality of root canal fillings and estimated endodontic treatment needs in an urban German population. *Endod Dent Traumatol* 13:69-74.
69. Weiger R, Geurtsen W, Heidemann D, Löst C, Petschelt A, Raab W, Schäfer E, Hicke R (2001) Zur Prognose von Wurzelkanalbehandlungen. *Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK. Dtsch Zahnärztl Z* 56:206-207.
70. Weine FS: *Endodontic therapy. Canal filling with semisolid materials*. Mosby, 5th edition, St. Louis, 1996, pp. 423-477.

71. Werner G, Heidemann D, Löst C, Petschelt A, Raab W, Schäfer E, Hickel R, Wieger R (2001) Zur Prognose von Wurzelkanalbehandlungen. Eine Stellungnahme der DGZMK und der DGZ. DZZ 56:3.
72. Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, Cekici A, Meyer KC, Birrer P, Bellon G, Berger J, Weiß T, Botzenhart K, Yankaskas JR, Randell S, Boucher RC, Döring G (2002) Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway Pseudomonas infections of cystic fibrosis patients. J Clin Invest 109:317-325.
73. Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR, Moorer WR (1993) Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. Int Endod J 26:203-208.
74. Wu MK, van der Sluis LWM, Ardila CN, Wesselink PR (2003) Fluid movement along the coronal two-thirds of root fillings placed by three different gutta-percha techniques. Int Endod J 36:533–540.

9 Eigene Veröffentlichungen

9.1 Publikationen

Pollak R, Bensel T, Schicht M, Duerr M, Borneff-Lipp M, Gernhardt C.R.: Bacterial test system for coronal and apical obliteration methods. J Endod (eingereicht)

9.2 Wissenschaftliche Preise

Erwin-Reichenbach-Förderpreis der Zahnärztekammer Sachsen-Anhalt
19. Zahnärztetag Sachsen-Anhalt, Magdeburg, 29.01.2011 (Verleihung)

9.3 Zitierfähige Abstracts

Pollak R, Bensel T, Duerr M, Borneff-Lipp M, Gernhardt C.R.: Bacterial Test System for Root Canal Filling Methods and Materials. J Dent Res, Vol. 89 (Special Issue B) (2010) 2338.

9.4 Poster

Pollak R, Bensel T, Duerr M, Borneff-Lipp M, Gernhardt C: Universal test system of root canal filling methods and materials. 88th General Session of the International Association for Dental Research (July 14-17, 2010) Barcelona, Spain

Pollak R, Bensel T, Duerr M, Borneff-Lipp M, Gernhardt C: Entwicklung des standardisierten Prüfsystems zur Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelfüllmaterialien. Deutscher Zahnärztetag 2010 (10.-13. November 2010) Frankfurt am Main

10 Thesen

1. Die Parodontitis apicalis ist eine der häufigsten Komplikationen nach erfolgter endodontologischer Behandlung.
2. Eine ungenügende Wurzelkanalfüllung oder ein insuffizienter Verschluss der Zugangskavität nach einer Wurzelkanalbehandlung kann zu einer Reinfektion des Wurzelkanalsystems und des apikalen Parodonts führen, da sich im Kanalsystem verbliebene Bakterien durch die mögliche Substratzufuhr (Mikroleakage) vermehren können.
3. Als Erreger der sekundären und persistierenden Infektionen nach Wurzelkanalbehandlungen kommen am häufigsten *Enterococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, Propionibakterien, *Candida spp.* und *Pseudomonas aeruginosa* in Frage.
4. Grundlage einer dichten Wurzelkanalfüllung ist eine optimale Adaptation an die Kanalwand sowie blasenfreies Applizieren des Füllmaterials. Zur Vermeidung einer Bakterieninvasion und folgender Reinfektion ist ein dichter apikaler Verschluss zum periapikalen Gewebe wichtig.
5. Um Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden unter *in vivo*-ähnlichen anhand von *in vitro*-Bedingungen zu überprüfen, wird ein Testsystem benötigt, mit dem zahnmedizinische, mikrobiologische und hygienische Fragestellungen überprüft und Langzeituntersuchungen durchgeführt werden können.
6. In der vorliegenden Pilotstudie wurde ein System zur Bestimmung der Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien entwickelt und geprüft, welches in der Lage ist, die geforderten Anforderungen zu erfüllen.
7. Die Funktionalität des entwickelten Testsystems wurde mittels Durchlässigkeits- (n=6), Dichtigkeits- (n=6) und Fremdkontaminationskontrollen (n=8) überprüft. Zudem wurde die exemplarische Prüfung des entwickelten Systems mit drei Versuchsgruppen (Gruppe 1: Guttapercha ohne Sealer, Gruppe 2: Guttapercha und AH Plus™, Gruppe 3: Guttapercha und EndoREZ®; jeweils n=6) durchgeführt.

8. Vor der Wurzelkanalfüllung wurden die Zähne mit dem FlexMaster[®]-System maschinell aufbereitet und anschließend autoklaviert. Die Wurzelkanalfüllung erfolgte unter keimarmen Bedingungen in einer Clean Bench. Alle verwendeten Materialien wurden zuvor sterilisiert oder auf Fremdkontamination überprüft.
9. Die vorbereiteten Zähne wurden einzeln in ein Zwei-Kammer-System überführt. Die Fixierung des Zahnes sowie die Abdichtung beider Kammern voneinander erfolgte mit dem zahnärztlichen Abformmaterial Impregum[™]. Die obere und untere Kammer wurden mit steriler TSB befüllt. Die obere Kammer wurde mit dem Testbakterium *P. aeruginosa* kontaminiert. Eine externe Stabilisierung des Testsystems konnte durch Applikation des zahnärztlichen Kunststoffes Pattern Resin erzielt werden. Alle hergestellten Prüfkörper wurden für 48 Tage bei 37°C und 400 U/min inkubiert.
10. Die Detektion der bakteriellen Durchlässigkeit bzw. einer Fremdkontamination wurde mit einem quantitativen und einem qualitativen mikrobiologischen Nachweisverfahren erprobt. Die quantitative Bestimmung erfolgte am Tag 0, 1 und 7. Die qualitative Bestimmung wurde über einen Zeitraum von 48 Tagen durchgeführt. Durch die Schraubverschlüsse wurde eine wiederholte Probenentnahme unter sterilen Bedingungen möglich.
11. Eine Fremdkontamination konnte während des gesamten Testzeitraumes ausgeschlossen werden. Nach den 48 Tagen wiesen keiner der 6 Versuchskörper der Gruppe der Dichtigkeitskontrolle eine Kontamination der unteren Kammer mit dem Testbakterium auf. Somit konnte gezeigt werden, dass beide Kammern während der Experimente voneinander hermetisch abgeschlossen waren. Die Überprüfung der Durchlässigkeit der trepanierten Zähne konnte zudem das Überleben des Testbakteriums in allen 6 Versuchskörpern nachweisen.
12. Die exemplarische Überprüfung von Guttapercha ohne Sealer ergab eine Durchlässigkeit für das Testbakterium von 83% bereits an Tag 0. Die mit Guttapercha und AH Plus[™] gefüllten Zähne waren ab Tag 7 zu 17% und nach 48 Tagen zu 68% durchlässig. Die mit Guttapercha und EndoREZ[®] gefüllten Zähne dagegen waren ab dem 9. Tag zu 17% durchlässig und nach 48 Tagen zu 50%.

13. In der vorliegenden Arbeit konnte ein System entwickelt werden, mit dessen Hilfe zukünftig Wurzelkanalfüllmaterialien unter *in vivo*-ähnlichen *in vitro*-Bedingungen getestet und direkt miteinander verglichen werden können.
14. Das entwickelte System eignet sich, um die Gegebenheiten der Mundhöhle auch mit anderen Mikroorganismen zu simulieren und eine Vielzahl von Fragestellungen in der Zahnmedizin zu untersuchen.
15. Es könnte z.B. für Langzeitprüfungen von Wurzelkanalfüllmaterialien und -methoden sowie prothetischen als auch konservierenden Versorgungen eingesetzt werden; Voraussetzung ist allerdings die Prüfung eines erweiterten Probenumfanges, um eine statistisch signifikante Aussage treffen zu können.

Lebenslauf

Name: Rita Pollak
Geburtstag: 02.06.1980
Geburtsort: Halle (Saale)
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schulbildung

1987-1993 Otto-Brosowski-Schule
1993-1999 Gymnasium am Reileck in Halle
Juni 1999 Abitur

Ausbildung

August 1999 - Juni 2002 Ausbildung zur Arzthelferin
Juni - September 2002 Tätigkeit als Arzthelferin in Ausbildungspraxis

Hochschulausbildung

2002-2007 Studium der Zahnmedizin an der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
November 2007 Zahnärztliche Prüfung
Dezember 2007 Approbation als Zahnärztin

Beruflicher Werdegang

03.12.2007-15.06.2008 Tätigkeit als angestellte Zahnärztin in Assistenzzeit in der ZAP U.
Kampe-Krügler, Halle (Saale)
16.06.2008-30.11.2009 Tätigkeit als angestellte Zahnärztin in Assistenzzeit in der ZAP
Dr. med. dent. J. Eifert, Halle (Saale)
01.12.2009-31.12.2009 Tätigkeit als angestellte Zahnärztin in ZAP Dr. med. dent. Eifert
(nach Erlangung der kassenzahnärztlichen Zulassung)
seit 01.01.2010 wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für Hygiene des
Universitätsklinikums Halle

Halle, den 13.09.2010

Rita Pollak

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Rita Pollak, geb. 02.06.1980, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe. Ich habe mich dabei keiner anderen als der von mir angegebenen Quellen und Hilfen bedient.

Halle, den 13.09.2010

(Rita Pollak)

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, Rita Pollak, geb. 02.06.1980, bisher an keiner in- und/oder ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um eine Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt zu haben.

Halle, den 13.09.2010

(Rita Pollak)

Danksagung

Mein besonderer Dank geht an:

Frau Prof. Dr. Marianne Borneff-Lipp, Direktorin des Institutes für Hygiene des Universitätsklinikums Halle, für die freundliche Überlassung des Themas der Dissertation sowie für die ständige Bereitschaft, die Arbeit mit konstruktiven Fragen und kritischen Hinweisen voranzubringen.

Herrn Prof. Dr. Dr. Johannes Schubert, Direktor der Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie, danke ich für die Überlassung von extrahiertem Zahnmaterial.

Herrn PD Dr. Christian Gernhardt, Oberarzt in der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie des Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, danke ich für die freundliche Unterstützung und Beratung aus zahnmedizinischer Sicht.

Herrn PD Dr. Andreas Wienke, wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Medizinische Informatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, danke ich für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Beratung.

Herrn OA Dr. Dieter Worlitzsch, Herrn Dr. Tobias Bensele und Herrn Dr. Matthias Dürr, wissenschaftliche Mitarbeiter des Institutes für Hygiene, danke ich für die umfassende Betreuung und Unterstützung bei der Umsetzung der Arbeit.

Herrn Dr. Joachim Eifert und seinem gesamten Praxisteam, danke ich für die freundliche Unterstützung während der Entstehung des Versuchsaufbaus.

Frau Nadine Wörfel, Frau Barbara Christgen, Frau Christiane Hinze und Frau Margit Koleczko, technische Mitarbeiterinnen des Institutes für Hygiene, danke ich für die konstruktive Zusammenarbeit.

Herrn Sascha Schmidt, EDV-Anwendungsbetreuer im Institut für Hygiene, danke ich für die ständige Bereitschaft, mich bei Problemlösungen bei der EDV-technischen Umsetzung zu unterstützen.

Herrn Martin Gessner, Geschäftsführer der Dental Keramik Studio GmbH Halle, danke ich für die freundliche Zusammenarbeit während der Bearbeitung benötigter zahnärztlicher Materialien.