

**Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde**

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Wolfgang H.-M. Raab

**Das Desinfektionspotenzial verschiedener medikamentöser Einlagen
im Wurzelkanal *in situ***

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Zahnmedizin**

**Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf**

vorgelegt von

Sascha Zilliges

2007

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

gez.: Prof. Dr. Dr. B. Nürnberg, Dekan

Referentin: PD Dr. C.R. Barthel-Zimmer

Korreferent: Prof. Dr. A. Hugger

Inhaltsverzeichnis

1	Vorbemerkung	5
2	Einleitung	6
3	Schrifttumsübersicht	9
3.1	Die Mikroflora des infizierten Wurzelkanalsystems und der periapikalen Läsion	9
3.2	Die anatomisch-topographischen Besonderheiten des Wurzelkanalsystems und ihre Konsequenzen für die Aufbereitung	13
3.3	Die Reinigung des Wurzelkanalsystems	16
3.3.1	Endodontische Desinfektion	16
3.3.2	Die mechanische Aufbereitung	17
3.3.3	Die chemomechanische Aufbereitung	19
3.3.3.1	Natriumhypochlorit (NaOCl)	19
3.3.3.2	Editinsäure (EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure)	21
3.3.4	Medikamentöse Einlagen	22
3.3.4.1	Kalziumhydroxid	22
3.3.4.2	Kalziumhydroxidhaltige Guttaperchaspitzen (Ca(OH) ₂ -GPS)	26
3.3.4.3	Chlorhexidin (CHX, 1,6-Di-(4-Chlorophenyldiguanido)-hexan)	28
3.3.4.4	Chlorhexidinhaltige Guttaperchaspitzen (CHX-GPS)	34
3.3.4.5	Kortison und seine Derivate	35
3.3.4.6	Antibiotika	35
3.3.4.7	Kombination von Antibiotikum und Kortisonderivat	37
3.3.4.8	Iodhaltige Einlagen	37
3.3.4.9	Einlagen auf Basis von Phenolderivaten	38
3.3.4.10	Aldehydfreisetzende Einlagen	39
4	Zielstellung	41
5	Material und Methode	42
5.1	Grafische Übersicht	42
5.2	Herstellung der Wurzelträger	43
5.2.1	Auswahl und Vorbehandlung der Zahnwurzeln	43

5.2.2	Prototyp eines Wurzelträgers	44
5.2.3	Wurzelträger für den Probandeneinsatz	45
5.3	Vorbemerkung zur mikrobiologischen Methodik	46
5.4	Probe 1 (= Ausgangssample, = Sample 1, = S1) und mikrobiologische Analyse	46
5.5	Medikationsphase	48
5.6	Probe 2 (= Medikamenten-Sample, = Sample 2, = S2) und mikrobiologische Analyse	50
5.7	Nachuntersuchung ohne Medikation	52
5.8	Probe 3 (= Regrowth-Sample, = Sample 3, = S3) und mikrobiologische Analyse	52
5.9	Kautelen der Arbeitsabläufe	52
5.10	Statistische Auswertung der Meßdaten	53
6	Ergebnisse	54
6.1	Inkorporationsphase	54
6.2	Mikrobiologische Untersuchung	54
7	Diskussion	60
8	Schlussfolgerungen	67
9	Zusammenfassung	69
10	Summary	70
11	Literaturverzeichnis	71
12	Versuchsbegleitendes Protokoll	96
13	Materialliste	97
14	Danksagung	99
15	Lebenslauf	100
16	Erklärung an Eides statt	101

1 Vorbemerkung

In dieser Arbeit werden warenrechtlich geschützte Produkte genannt, ohne dass dies im Text durch die Bezeichnung TM oder [®] vermerkt ist.

Diese Studie wurde bereits publiziert und kann in folgendem Journal nachgelesen werden:

Barthel CR, Zimmer S, Zilliges S, Schiller R, Göbel UB, Roulet JF. In situ antimicrobial effectiveness of chlorhexidine and calcium hydroxide: gel and paste versus gutta-percha points. J Endod 2002; 28: 427-30

2 Einleitung

Die Endodontologie beschäftigt sich als wissenschaftliche Disziplin der Zahnerhaltung neben der Ätiologie, Epidemiologie und Pathologie mit der Diagnostik, Prävention und Therapie des erkrankten Endodonts sowie des angrenzenden peri- und interradikulären Gewebes.

Das Endodont umfaßt nach heutiger Anschauung die entwicklungsgeschichtliche, biologische und funktionelle Einheit der *Pulpa dentis*, der in den *Tubuli* gelegenen Odontoblastenfortsätze und des umgebenden Dentins (1). Die Ursachen der entzündlichen Erkrankungen des Endodonts sind mannigfaltig: Sie können infektiöser, mechanischer, thermischer, aber auch osmotischer und chemisch-toxischer Natur sein. Unangefochten steht hierbei die Karies in etwa 95% der Fälle an erster Stelle (2). Hoshino *et al.* verglichen bei einer Untersuchung an kurz zuvor extrahierten Zähnen mit profunder Dentinkaries die in der *Pulpa* festgestellte Mikroflora mit der der Karies. Aufgrund des hohen Maßes an Übereinstimmung der gefundenen Arten postulierten Hoshino *et al.*, dass die Mikroorganismen über die *Tubuli* des Dentins in die *Pulpa* gelangt seien (3). Den Beweis dafür, dass die kariös bedingten Pulpaerkrankungen auf die Wirkung von Mikroorganismen zurückzuführen sind, lieferten Kakehashi *et al.* 1965. An den artifiziell eröffneten Pulpen gnotobiotisch gehaltener Ratten konnten sie selbst nach Nahrungszufuhr keinerlei oder nur minimale Entzündungszeichen feststellen. Bei der unsteril gehaltenen Kontrollgruppe führte dieses Vorgehen jedoch regelmäßig zu Pulpanekrosen und periapikalen Entzündungen (4).

In Abhängigkeit von der Intensität und Einwirkdauer der infektiösen Noxe kann die entstandene pathologische Veränderung aufgrund der hohen reparativen Potenz des pulpalen Gewebes mitunter vollständig zur Ausheilung kommen (*reversible Pulpitis*). Das Erreichen einer solchen *Restitutio ad integrum* wird neben der Ausschaltung des mikrobiellen Reizes vor allem von der Abwehr- und Reaktionslage der *Pulpa* bestimmt. Jede weitergehende Entzündung der *Pulpa* ist histologisch mit dem Erreichen der exsudativen Phase als irreversibel anzusehen (*Pulpitis acuta serosa*) (1). Wenn eine Chronifizierung unterbleibt, münden alle so gelagerten Fälle in das finale Stadium einer *Pulpitis* – der Nekrose. Können anfangs vorzugsweise fakultative Anaerobier isoliert werden, etablieren sich später in den durch Sauerstoffmangel gekennzeichneten Nekrosebezirken zunehmend obligat anaerobe Bakterienspezies, die das absterbende Pulpagewebe in eine schmierige und aasartig stinkende Masse verwandeln (Gangrän) (2, 5, 6). Im

Zuge der weiteren Vermehrung infizieren die Mikroorganismen das Wurzelkanalsystem einschließlich der *Tubuli* und dringen allmählich bis zum *Apex* vor (7). Durch die Nekrose der *Pulpa* verliert der Körper die entscheidende Möglichkeit noch im Wurzelkanal wirksam gegen die eindringenden Mikroorganismen vorzugehen. Für die spezifischen Elemente der Immunabwehr (Antikörper, T-Lymphozyten) und den zellulären Schenkel der unspezifischen Abwehr (Neutrophile, Makrophagen) ist das Zahninnere damit ein für allemal verloren (8). Doch bereits bevor eine infizierte *Pulpa* vollständig nekrotisiert, können aus den Membranen gramnegativer, in der *Pulpa* lokalisierter Bakterien Endotoxine (komplexe Lipopolysaccharide) in das periapikale Gewebe penetrieren und dort eine entzündliche Reaktion provozieren (9, 10). Andererseits konnte nachgewiesen werden, daß nekrotisches Pulpengewebe für sich genommen, solange es also nicht bakteriell infiziert ist, keine periapikale Entzündung hervorruft (11, 12, 13).

Eine beginnende periapikale Entzündung kündigt sich histologisch vor allem durch die Ausbreitung der Hyperämie einer akuten totalen *Pulpitis* auf das apikale Desmodont an. Das Übergreifen auf die Markräume des umgebenden Alveolarknochens charakterisiert die akute apikale *Parodontitis*. Neben den histologisch zu beobachtenden Gefäßerweiterungen und perivaskulären Ödemen imponiert ein zelluläres Exsudat reich an Makrophagen und neutrophilen Granulozyten. Diese zwei Protagonisten der unspezifischen Immunantwort phagozytieren eindringende Bakterien und abgestorbene Zellen (14). Darauf begründete sich die frühere Annahme, dass das entzündete periapikale Gewebe bakterienfrei sei (15, 16). Ergebnisse späterer Studien wiesen jedoch nach, daß Bakterien regelmäßig nicht nur in Fällen kurzzeitig oder andauernd verminderter Immunabwehr, in Phasen der Entzündungsexazerbation (17) oder nach Überinstrumentierung (18, 19) in periapikalen Läsionen anzutreffen sind (20, 21, 22, 23). AbouRass und Bogen fanden so in 13 therapierefraktären geschlossenen periapikalen Läsionen: 31,8% *Actinomyces spp.*, 22,7% *Propionibacterium spp.*, 18,2% *Streptococcus spp.*, 13,6% *Staphylococcus spp.*, 4,6% *Porphyromonas gingivalis*, 4,6% *Peptostreptococcus micros* und 4,6% Enterobakterien (24). Sunde *et al.* isolierten aus den Proben periapikaler Läsionen asymptomatischer Zähne zwischen 1-10 vorwiegend anaerobe Bakterienarten (25). Den wiederholt geäußerten Einwand, die bei *In-vivo*-Studien an periapikalen Läsionen gewonnenen mikrobiologischen Ergebnisse seien *per se, i.e.* aufgrund der nicht zu erreichenden sterilen Kautelen während der chirurgischen Probenentnahme, verfälscht und damit unbrauchbar, konnten Sunde *et al.* durch den Vergleich verschiedener Schnittführungen entkräften. Eine weitergehende Darstellung der Pathoge-

nese und Pathomorphologie der *Parodontitis apicalis* würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Für einen ersten Überblick sei Klimm empfohlen (26) - zur vertiefenden Lektüre die detaillierten Artikel von Nair, Pashley und Stashenko *et al.* (27, 28, 29).

Stellt sich uns ein Patient mit den Anzeichen einer irreversiblen *Pulpitis* oder einer Form der apikalen *Parodontitis* vor, gilt es umgehend eine Wurzelkanalbehandlung einzuleiten, wenn der betroffene Zahn noch langfristig erhalten werden soll.

Sie gliedert sich in folgende Behandlungsschritte:

1. Die Reinigung des Wurzelkanalsystems von Mikroorganismen und nekrotischen Gewebsresten, die als mikrobielles Substrat dienen könnten.
2. Die Formung des Wurzelkanals. Sie beinhaltet den gezielten Abtrag der infizierten Kanalwände und schafft im Idealfall durch die Entprofilierung der physiologischen Kanalwand ein vereinfachtes nahezu konisches Aufbereitungsergebnis mit definiertem Stop.
3. Die Obturation mit einem bakteriedichten, wandständigen Material, das einerseits einer koronalen Reinfektion vorbeugt, andererseits aber auch eine eventuell vom Periapex stammende Verschiebung von Gewebeflüssigkeit (Perkolation) unterbindet (30).

Im Falle einer erst nach diesen Therapiemaßnahmen entstandenen oder aber auch einer persistierenden apikalen *Parodontitis* empfiehlt sich folgendes Vorgehen:

4. Die Wurzelfüllung wird revidiert, begleitet von einer wiederholten chemomechanischen Aufbereitung.
5. Bei erneuter Therapieresistenz ist die Indikation zur Wurzelspitzenresektion gegeben.

Von besonderer Bedeutung für den Langzeiterfolg einer Wurzelkanalbehandlung erwies sich die Elimination der intrakanalären Mikroorganismen vor der Obturation. Sjögren *et al.* untersuchten 53 Zähne mit nekrotischer *Pulpa* und röntgenologischen Zeichen einer periapikalen Läsion (während und bis zu 5 Jahre) nach der abschließenden Wurzelfüllung. 94% der Zähne mit negativem bakteriologischen Befund unmittelbar vor der Wurzelfüllung zeigten in dem betrachteten Zeitraum eine Ausheilung. Wurden dagegen Bakterien festgestellt, verlief die Therapie nur in 68% erfolgreich (31).

Vor diesem Hintergrund soll im Weiteren das Augenmerk vor allem auf die Mikroflora des infizierten Wurzelkanalsystems, die topographischen Besonderheiten ihres Lebensraumes und die Möglichkeiten ihrer gezielten Bekämpfung gelenkt werden.

3 Schrifttumsübersicht

3.1 Die Mikroflora des infizierten Wurzelkanalsystems und der periapikalen Läsion

Die Mundhöhle gliedert sich in verschiedene mikrobielle Biotope: Lippen, Wangenschleimhaut, Gaumen, Zunge, Gingiva, Gingivasulkus und Zähne. Der Wurzelkanal kann (neben Fissur, Approximalfläche, Glatfläche, Zahnhs, Wurzeloberfläche und ggf. Füllungsrandspalt) zu den Mikrobiotopen des Zahnes gezählt werden (32).

Bereits W.D. Miller beschrieb in seinem klassischen Werk „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ (1892) mehr als 20 verschiedene Keime (33), von denen er einige (z.B. eine als *Bacillus pulpae pyogenes* bezeichnete Art) in gangränösen Zahnpulpen fand (34). Nach heutigem Kenntnisstand besiedelt ein nicht unerheblicher Teil der etwa 700 nachgewiesenen oralen Mikroorganismen das Habitat Wurzelkanal (35). Die Erstbeschreibungen neuer Arten wie *Actinomyces radidentis* in 2000 oder *Mogibacterium neglectum* 2002 belegen, dass die Erforschung des endodontischen Artenspektrums keineswegs als abgeschlossen gelten kann (36, 37). Für einen Überblick der beschriebenen Arten sei die Darstellung von Heuer und Miserendino empfohlen (38).

Die Gesamtheit der Mikroorganismen dieses Standortes bildet ein mikrobielles Ökosystem von $<10^2$ bis $>10^8$ Bakterien (39, 40) und auch Pilzen wie *Candida spp.* oder *Geotrichium candidum* (41). Viren galten für lange Zeit als unbeteiligt an der endodontischen Infektion (42, 43). Doch neuere Arbeiten lieferten den Beweis für die Präsenz vom Cytomegalie- und Epstein-Barr-Virus in mehr als 90% der untersuchten periapikalen Läsionen (44, 45). Inwiefern diese Viren jedoch ätiopathogenetisch bedeutsam sind, bleibt bis auf weiteres ungeklärt.

Die primäre endodontische Infektion (von Zähnen mit nekrotischer Pulpa ohne erfolgte Wurzelkanalbehandlung) ist in der Regel eine Mischinfektion (21, 60). Bergeholtz isolierte durchschnittlich 4,3 Stämme pro Zahn (61), Sundqvist 5,4 (62) und Byström gemeinsam mit Sundqvist sogar bis zu 11 verschiedene Bakterienspezies (46). Die insgesamt betrachtet nur verhältnismäßig geringe Zahl von Anaerobierspezies ist im primärinfizierten Wurzelkanal besonders stark vertreten: Sie stellen bis zu 90% der intrakanalären Mikroflora (46, 49). Es dominieren die schwarz pigmentierenden Vertreter der Gattungen *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* und *Veillonella* (17,

50, 51, 52, 53). Gramnegative und -positive Arten fanden sich etwa zu gleichen Teilen (60).

Als Aerobier werden diejenigen Bakterien bezeichnet, die zu ihrem Wachstum die Gegenwart von Sauerstoff benötigen. Unter den Anaerobiern hingegen finden sich zahlreiche Arten, die bei Sauerstoffzutritt absterben (obligaten Anaerobier), andere Vertreter jedoch wachsen in Gegenwart und Abwesenheit von Sauerstoff (fakultative Anaerobier). Interessanterweise gedeihen zahlreiche Bakterienarten, die traditionell als Aerobier bzw. fakultative Anaerobier bezeichnet werden, vor allem bei der Anzüchtung nur dann optimal, wenn der Sauerstoffgehalt reduziert und der Kohlendioxidgehalt auf 5-10% vermehrt ist. Diese Spezies werden auch als mikroaerophil bezeichnet (47, 48). Eine auffällige Übereinstimmung hinsichtlich des festgestellten Keimspektrums besteht zwischen endodontischen und parodontalen Infektionen (54, 55).

Die Besiedlung des Wurzelkanalsystems wird maßgeblich durch den intrakanalären Sauerstoffgradienten, die Verfügbarkeit von potenziellem Substrat, mikrobielle Interaktionen und die Wirtsabwehr bestimmt (56). Die anfangs vorherrschenden Aerobier und fakultativen Anaerobier schaffen erst durch ihren Sauerstoffverbrauch die für die obligaten Anaerobier günstigen Standortbedingungen (autogene Sukzession) (57). Es nimmt somit im Laufe der Infektion der Anteil der Anaerobier zu, wobei in apikalen Kanalabschnitten die höchsten Zahlen gefunden wurden (58, 59).

Im Zuge der chemomechanischen Aufbereitung resultiert eine deutliche Verschiebung des mikrobiellen Spektrums: Fakultative Anaerobier (wie *Enterococcus faecalis*), die offenbar gegenüber den desinfizierenden und instrumentellen Behandlungsmaßnahmen resistenter sind, dominieren im weiteren Verlauf das anaerobe Segment (58, 63, 64). Der Anteil der gramnegativen Isolate geht zugunsten der grampositiven Vertreter zurück (63). Eine Reihe von Studien an therapieresistenten apikalen Läsionen (nach erfolgter Wurzelfüllung) belegt den Rückgang der registrierten Arten mit Tendenz zur von grampositiven Anaerobiern dominierten Monoinfektion. Pro Kanal wurden durchschnittlich 1,3 - 1,7 Bakterienspezies gefunden (65, 66).

In dem sich herausbildenden dynamischen, ökologischen Gleichgewicht wird das Keimspektrum wesentlich durch mikrobielle Interaktionen beeinflusst (56). So kann sich beispielsweise *Prevotella oralis* bei artifizieller Infektion erst im Verbund mit anderen Keimen im Wurzelkanal manifestieren, wie Fabricius *et al.* anhand von Untersuchungen an Makaken aufzeigen konnten (67). Zahlreiche Beispiele sowohl von Kommensalismus als auch von antagonistischen Beziehungen sind beschrieben (62, 68, 69, 70). Über

deren mögliche Ursachen ist noch relativ wenig bekannt. Eine besondere Rolle spielt hierbei offenbar das intrakanaläre Substratangebot, als dessen Quellen in erster Linie die Zerfallsprodukte des nekrotischen Pulpagewebes, die Gewebsflüssigkeit und gegebenenfalls das entzündliche Exsudat der periapikalen Region sowie der über orale Zugänge eindringende Speichel anzusehen sind (56). Naturgemäß sind an diesem Standort Anaerobier im Vorteil, die Aminosäuren und Peptide utilisieren. Die Fermentation von Kohlenhydraten, die bei der Kariogenese eine entscheidende Rolle spielt, ist dagegen von untergeordneter Bedeutung (62). Viele Bewohner des Wurzelkanals vermögen Produkte anderer Arten für den eigenen Stoffwechsels heranzuziehen, so dass von regelrechten Nahrungsketten gesprochen werden kann (71).

Ein weiterer, bestimmten synergistischen Beziehungen zugrunde liegender Aspekt ist aufs engste mit den Mechanismen der Wirtsabwehr verflochten: Interessanterweise geht die symbiotisch anmutende Lebensgemeinschaft mitunter soweit, dass einzelne obligate Anaerobier zum Schutz ihrer fakultativ-anaeroben Partner deren Phagozytose (die Internalisierung und den proteolytischen Abbau) aktiv behindern (72, 73).

Bei der Besiedlung der Wände des Wurzelkanalsystems erschließen sich die Mikroorganismen und deren Endotoxine die *Tubuli* des umgebenden Dentins. Die für die verschiedenen Arten gemessenen Penetrationstiefen variieren erheblich (7, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80) und erreichen Werte von bis zu 2000 μm (6). Nach Akpata und Blechman stehen Anzahl und Vermehrungsrate der Mikroorganismen direkt im Verhältnis zur beobachteten Eindringtiefe (81). Diese nimmt nach apikal hin ab, was einerseits auf die im apikalen Wurzel Drittel geringeren Tubulusdurchmesser zurückzuführen sein dürfte (82, 83). Andererseits vermindert sich die Anzahl der Dentinkanälchen pro Flächeneinheit von ca. 60.000/ mm^2 im Bereich der koronalen Kanalwand auf ca. 15.000/ mm^2 in der Apexregion (84, 89). Dass die pulpenseitigen Dentinanteile offenbar stärker penetriert werden als die zementseitigen (75, 90), könnte u.a. folgende Ursachen haben:

1. Die Dentintubuli nehmen von der Kanalwand zur Peripherie hin einen radiären Verlauf (91, 92, 93).
2. Der mittlere Tubulusdurchmesser verjüngt sich von 2,5 μm auf der Pulpaseite zu 0,9 μm in Desmodontnähe (92, 93). Pashley beschreibt die Dentinkanälchen daher auch als Kegel, deren Spitzen zur Schmelz-Dentin-Grenze bzw. zur Dentin-Zement-Grenze hin ausgerichtet sind (28).

Ein intaktes Wurzelzement wird als Penetrationsbarriere für Mikroorganismen angesehen (83, 94).

Ein weiterer zur Beschreibung mikrobieller Lebensgemeinschaften verwendeter Begriff, der Biofilm, hat auch in der Endodontie Einzug gehalten (95, 96). Forschungen an *Pseudomonas aeruginosa*, einem sehr anspruchslosen Ubiquitärkeim und Hospitalismus-Erreger, wiesen nach, dass sich bei einzelnen, frei schwimmenden Keimen dieser Art innerhalb kurzer Zeit die Aktivität verschiedener Gene ändert, wenn eine ausreichende Anzahl von Pionierzellen durch Adhäsion gemeinschaftlich Oberflächen besiedelt (97). Es sind Botenstoffe aus der Gruppe der Acyl-Homoserinlactone, die von der einzelnen Zelle ständig in geringer Menge gebildet werden, die aber erst bei Erreichen einer bestimmten Konzentrationsschwelle durch die Ansammlung einer genügenden Zellzahl einzelne Gene einschaltet (so genannte Quorum-Wahrnehmung) (98). Das Gen *algC* beispielsweise, verantwortlich für die Synthese des Hauptbestandteils der extrazellulären Matrix von *Pseudomonas aeruginosa* (des gelatinösen Polymers Alginate), kann bereits 15 min nach der Adhäsion eingeschaltet werden (99). Die so gebildete extrazelluläre Matrix stellt für Sauerstoff mit einer Eindringtiefe von nur etwa 30 µm nahezu eine Diffusionsbarriere dar. Da solche Biofilme darüber hinaus von einem Netzwerk kanalartiger Röhren durchzogen sind, können bereits an zwei nur 50 µm voneinander entfernten Meßpunkten völlig abweichende Sauerstoffkonzentrationen resultieren (100). Zentral im Biofilm gelegene *Pseudomonas*-Enklaven legen bei geringem Sauerstoffangebot ein Ruhestadium ein. Weiterhin werden standortabhängig verschiedene Phänotypen beobachtet. Der im Biofilm vorkommende Phänotyp unterscheidet sich wesentlich in seiner Physiologie, aber auch in seiner Sensitivität gegenüber Desinfektionsmitteln, Antibiotika und Faktoren der Immunabwehr von seinem planktonischen Pendant (101). Diese Variabilität sowie die protektive Funktion der gebildeten Matrix bedingen Eigenschaften, die von denen der typischen Laborkulturen deutlich abweichen können. Dadurch wird *Pseudomonas aeruginosa* - als einer der wenigen Aerobier im Wurzelkanal - zu einem endodontischen Problemkeim (102).

Die verschiedenen Formen der Adhäsion zwischen gleichen und unterschiedlichen Bakterienarten (Koaggregation), wie sie beispielsweise aus der Kariologie bekannt sind, finden sich auch im Wurzelkanal (88, 103). So ist von dem im Endodont sehr häufigen Keim *Fusobacterium nucleatum* bekannt (71, 104), dass er bei der Besiedlung des Wurzelkanals palisadenartige Konglomerate im Bereich der Tubulusorifizien ausbildet (105). Es wurde die Vermutung geäußert, dass diese besondere Anordnung eine protektive Funktion für die in den *Tubuli* lebenden Bakterien gegenüber beispielsweise Kalziumhydroxid übernehmen könnte (106).

Von besonderer Bedeutung dürften Formen der mikrobiellen Koaggregation bei der Besiedlung der apikalen Wurzeloberfläche und der periapikalen Läsionen (apikale Granulome, radikuläre Zysten, periapikale Abszesse) sein (107). Untersuchungen von Nair legen nahe, dass sich die Bakterien nicht gleichmäßig in periapikalen Läsionen ausbreiten, sondern eingestreute polymikrobielle Konglomerate bilden (18). Wie auch im Wurzelkanal dominieren die obligaten Anaerobier mit einem Anteil von 45-82,3%, gefolgt von den fakultativen Anaerobiern mit 27,8-55% (17, 20, 22, 23, 24). Pilze (*Candida albicans*) wurden nur sehr selten isoliert (22). Beim Vergleich von Proben aus Wurzelkanälen und apikalen Granulomen fand sich ein sehr ähnliches Artenspektrum, jedoch unterschied sich die Häufigkeit mit der eine bestimmte Art in den Proben der zwei Gruppen nachgewiesen wurde mitunter recht erheblich (17). Die durchschnittlich pro Läsion registrierte Anzahl von Spezies ist mit 1,7-3,4 (20, 22, 23, 24) geringer als in Wurzelkanälen mit endodontischer Primärinfektion (4,3-5,4 Spezies/Kanal) (61, 62).

Die im infizierten Wurzelkanal gefundenen Bakterien verfügen über eine erhebliche Anzahl von Virulenzfaktoren. Eine gebührende Darstellung dieses Gegenstandes findet sich bei Heuer und Miserendino (38), allein die hierzu zählenden Endotoxine werden im Weiteren (Abschnitt 3.3.4.1) noch näher besprochen.

Zu den hochgradig therapieresistenten Vertretern des infizierten Wurzelkanals zählen, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Actinomyces* (56, 108, 109, 110, 111, 112, 113).

3.2 Die anatomisch-topographischen Besonderheiten des Wurzelkanalsystems und ihre Konsequenzen für die Aufbereitung

Das Pulpa-Dentin-System gliedert sich topographisch in die koronale Pulpakammer, das komplexe Kanalsystem und das angrenzende, reich von *Tubuli* durchzogene Dentin. Ein Wurzelkanal, der vom Kanaleingang (*Orifizium*) geradlinig und geschlossen verläuft und direkt am *Apex* in ein *Foramen apicale* mündet, findet sich bei genauer Betrachtung nie. Typisch dagegen ist ein feingliedriges, dreidimensionales Kanalsystem von Haupt-, Seiten- und akzessorischen Kanälen sowie transversalen Anastomosen, Buchten, Nischen, mitunter bizarren Verästelungen und blind endenden Divertikeln. Es ist diese räumliche Komplexität, die einerseits den kanalären Mikroorganismen einen strukturierten Lebensraum und ausreichende Rückzugsmöglichkeiten bietet, die aber

andererseits die instrumentelle Aufbereitung und die Wirkung der eingesetzten Agenzien entscheidend beeinträchtigen kann.

So lässt bereits der Verlauf der Hauptkanäle Fälle erkennen, die eine vollständige Reinigung, Formgebung und Obturation erschweren. Der Systematisierung von Weine folgend (Abb. 1) betrifft dies beispielsweise eine Kanalkonfiguration des Typs IV (114).

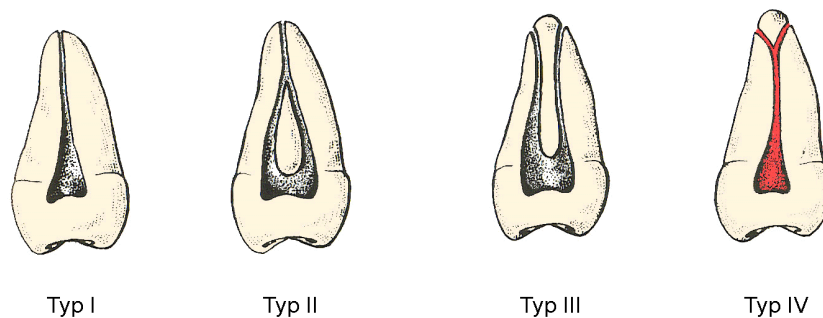


Abbildung 1:

Wurzelkanalkonfigurationen nach F.S. Weine. Typ IV: Ein Kanal der sich im mittleren oder apikalen Wurzel Drittel in zwei Kanäle aufzweigt. (Umzeichnung nach Schumacher (428)).

Die Querschnitte von Hauptkanälen sind häufig elliptisch bzw. flach länglich, nur selten rund oder noch seltener c-förmig gestaltet (115, 116, 117, 118). Gutiérrez *et al.* fanden bei einer Untersuchung an unteren Schneide- und Eckzähnen im Kanalquerschnitt häufig typische linguale und bukkale Ausläufer. Die Entsprechung am Ausgusspräparat beschrieben sie als Struktur, die an eine (Rücken-)Flosse von Fischen erinnert. Ein hoher Anteil dieser Kanalerstreckungen erwies sich nach chemomechanischer Aufbereitung und mikroskopischer Inspektion als unbearbeitet (119). Walton beobachtete im Zuge der mechanischen Reinigung regelmäßig unbearbeitete Kanalwandareale, die von den Instrumenten nicht oder nur unzureichend erreicht wurden. Er machte die Krümmung der Kanäle dafür verantwortlich (120). Auch Baker *et al.* stellten fest, dass sich die gegenüberliegenden Wände ein und derselben Wurzel nach gründlicher mechanischer Aufbereitung und intermittierender Spülung in ihrem Aufbereitungsergebnis gravierend unterscheiden können (121). Die Hauptkanäle können über ihre gesamte Länge durch transversale Anastomosen kommunizieren (122). Diese lateralen Verbindungen (Korridore, Isthmen) enthalten *Pulpa* oder von der *Pulpa* generiertes Gewebe. Sie können zwischen zwei separaten Kanälen angelegt sein - es treten aber auch alle Übergänge

von zahlreichen netzartigen Querverbindungen bis hin zur Verschmelzung zu einem einheitlichen bandförmigen Kanal auf (123, 124). Besonders im unmittelbaren Apexbereich lassen sich diese Isthmen schlechter reinigen als die zugehörigen Hauptkanäle (125).

Die Seitenkanäle des koronalen und mittleren Wurzeldrittels (laterale Wurzelkanäle) entspringen dem Hauptkanal nahezu rechtwinklig und entziehen sich daher einer instrumentellen Aufbereitung fast vollständig (119, 126). Sie bilden entweder blind endende Ausstülpungen (Divertikel) oder reichen bis auf die äußere Wurzeloberfläche und kommunizieren mit dem Parodont, so dass sie in Einzelfällen die Entstehung einer *Parodontitis lateralis* ermöglichen (127).

Desweiteren werden bei etwa 25% der bleibenden Molaren bis zu 250 µm starke akzessorische Kanäle im Bereich des Bodens der Nervenöhle gefunden. Diese so genannten hohen Mark- oder Furkationskanäle verbinden die Pulpakammer mit der interradikulären Region, wodurch im Einzelfall Furkationsparodontitiden (*Parodontitis interradicularis*) retrograd in die Pulpa aufsteigen können (128, 129). Auch sie sind der Aufbereitung nur bedingt zugänglich.

Im apikalen Wurzeldrittels findet sich nicht selten eine Vielzahl feiner akzessorischer Kanäle (*Regio ramificata*), die im Bereich der Wurzelspitze gelegentlich grazile flussdeltaartige Aufzweigungen (*Delta apicale*) bilden können (130, 131). Hess wies bereits 1917 an Kautschuk-Korrosionspräparaten menschlicher Zähne nach, dass diese grazilen apikalen Verzweigungen erst nach dem Schluß des *Foramen apicale* ausgebildet werden und sich wegen ihrer Feingliedrigkeit einer mechanischen Reinigung weitestgehend entziehen (117).

Die Dentintubuli bilden ein dreidimensionales Netzwerk und stellen ungefähr 45% der Oberfläche eines Wurzelkanals (87, 89). Der Durchmesser eines einzelnen Tubuluseingangs beträgt dabei durchschnittlich 2,5-4 µm (92). Daneben finden sich auch *Tubuli* mit einem atypisch großen Durchmesser von 10-20 µm (132). Am vitalen Zahn werden die *Tubuli* zum größten Teil von den Odontoblastenfortsätzen ausgefüllt. Das von ihnen gebildete peritubuläre Dentin (Tubularsklerose), der zentrifugale Fluß des Dentinliquors und die Kollagenauskleidung der Tubuliwände reduzieren die mikrobielle Penetration (28). Es ist vielfach belegt, dass die Dentinkanälchen von Mikroorganismen besiedelt werden können (74, 76, 77, 133, 134, 135, 136). Der im Zuge der Kanalaufbereitung entstehende, bis zu 2 µm dicke Smearlayer (ein Gemisch aus Dentintrümmern und Resten von Pulpagewebe, Prädentin und Odontoblastenfortsätzen) wird bei der Instru-

mentation bis zu 40 µm tief in die Tubulieingänge gepresst (137, 138). Zwar kann der Smearlayer die mikrobielle Penetration des Dentins blockieren oder zumindest verzögern (139, 140), doch erweist er sich bei infizierter *Pulpa* in zweierlei Hinsicht als problematisch: Einerseits kann er selbst mikrobiell durchsetzt sein bzw. Mikroorganismen in den *Tubuli* einschließen. Andererseits reduziert er die Haftung von Füllmaterialien an der Dentinoberfläche und erschwert das Eindringen des Sealers (144, 145). Da er eine partielle Diffusionsbarriere darstellt, wird der Zugriff antibakteriell wirksamer Pharmaka beeinträchtigt (141, 142, 143).

Erst durch die Betrachtung der spezifischen Beschaffenheit des Wurzelkanalsystems werden die Anforderungen abschätzbar, die dieses potenzielle mikrobielle Habitat an den Behandler stellt. Es sind in erster Linie die Maßnahmen der Aufbereitung, d.h. die Reinigung und Formgebung des Kanals, aber auch die Obturation, die darüber entscheiden, ob es gelingt, die Mikroorganismen dauerhaft zurückzudrängen.

3.3 Die Reinigung des Wurzelkanalsystems

3.3.1 Endodontische Desinfektion

Die Reinigung des Wurzelkanalsystems dient der Beseitigung von pulpalen Gewebsteilen und Aufbereitungsrückständen sowie - eine mikrobiellen Infektion vorausgesetzt - der weitestgehenden Reduktion von Mikroorganismen im Sinne einer Desinfektion.

Die Desinfektion ist definiert als die Abtötung bzw. irreversible Inaktivierung pathogener Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Pilze, Protozoen) an und in kontaminierten Objekten. Dadurch unterbindet die Desinfektion eine von diesen Objekten ausgehende Infektion. Sie soll eine quantitative Keimreduktion um mindestens fünf Zehnerpotenzen bewirken (146, 147) Hierin unterscheidet sich die Desinfektion von der Sterilisation, die definitionsgemäß das Erreichen einer vollständigen Keimfreiheit durch Abtöten oder Entfernen aller lebensfähigen Vegetativ- und Dauerformen von pathogenen und apathogenen Mikroorganismen zum Ziel hat (148, 149).

Die verwendeten Desinfektionsmittel können gegen Bakterien (bakterizid), gegen Bakteriensporen (sporozid), gegen Pilze (fungizid) oder gegen Viren (viruzid) gerichtet sein (150). Bisher gibt es kein Desinfektionsmittel, welches alle Erreger erfasst und darüber

hinaus alle gestellten Anforderungen (Atoxizität, Körperverträglichkeit, Umweltfreundlichkeit, Wirtschaftlichkeit) erfüllt (146, 151).

Die Besonderheiten der Wurzelkanaldesinfektion bestehen zum einen in der feingliedrigen anatomischen Topographie, die Mikroorganismen bis auf die Ebene der *Tubuli* zahlreiche Rückzugsmöglichkeiten bietet, zum anderen in der unmittelbaren Nachbarschaft vitalen Gewebes. Daher beschränken sich die Desinfektionsmethoden auf

- die mechanischen Verfahren: durch instrumentellen Abtrag von Mikroorganismen sowie Hart- und Weichgewebsanteilen (mechanische Aufbereitung im engeren Sinne) und deren Abtransport mittels geeigneter Spüllösungen ohne antibakterielle oder gewebsauflösende Wirksamkeit (mechanische Aufbereitung im weiteren Sinne),
- die chemischen Verfahren: durch antibakterielle Medikamente in Form von Spüllösungen und temporären Einlagen oder durch Wirkstoffe, die dem erleichterten instrumentellen Abtrag dienen,
- die Kombination aus mechanischen und chemischen Verfahren (chemomechanische Aufbereitung),
- die physikalischen Verfahren, wie Laser (152, 153), Ultraschall (154, 155) oder die so genannte Lussi-Technik, die eine Reinigung durch schnellwechselnde Druckschwankungen im Unterdruckbereich bewirkt (156).

3.3.2 Die mechanische Aufbereitung

Die Entwicklung der letzten Jahrzehnte hat ein breites Spektrum an verschiedenen Aufbereitungsinstrumenten und Techniken hervorgebracht. Die manuelle Aufbereitung bedient sich standardisierter, rotationsgeometrischer Instrumente, die vom Behandler unmittelbar von Hand gebraucht werden. Demgegenüber wird bei der jüngeren maschinellen Aufbereitung das Instrument mittels eines motorgetriebenen Winkelstücks eingesetzt. Beide Arten der Aufbereitung erzielen durch eine definierte Abfolge von Dreh- und Hubbewegungen in kontrolliertem Kontakt zur Kanalwand eine mehr oder weniger konische, entprofilerte Kanalform. Für eine detaillierte Übersicht der diversen Handinstrumente und Aufbereitungstechniken sowie der zahlreichen maschinellen Aufbereitungssysteme sei die Darstellung von Klimm empfohlen (157).

Die reine mechanische Aufbereitung ohne Zuhilfenahme eines Spülmittels liefert Kanäle reich an Dentinspänen und Resten von Pulpagewebe (121). Ebenso ineffektiv wie der Verzicht auf eine Spülung ist die Irrigation mit destilliertem Wasser (126, 158, 159).

Eine grundlegende Arbeit zur mechanischen Aufbereitung, unterstützt durch ein nicht antibakteriell wirkendes Spülmittel (physiologische Kochsalzlösung), lieferten Byström und Sundqvist. Sie untersuchten an Patienten Zähne mit infizierter *Pulpa*. Hierzu gewannen sie eine mikrobielle Probe, nachdem sie den jeweiligen Kanal unter Zugabe einer sehr geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung bis auf eine ISO-Größe 40 aufbereitet hatten. Anschließend wurde der Kanal mit Hedströmfeilen und Reamern bei intermittierender 0,9%iger NaCl-Spülung für 15 min gründlich instrumentiert, eine zweite Probe genommen und die Kanäle verschlossen. In Abständen von 2-4 Tagen wiederholten sie das beschriebene Prozedere noch viermal, wobei die zwei jeweils nächstgrößeren Instrumente zum Einsatz kamen. In allen zum Abschluß der ersten Sitzung gewonnenen Proben fanden sich Bakterien. Innerhalb einer Sitzung ging die Zahl der Bakterien um durchschnittlich 10^2 - 10^3 zurück. Bei nur 53,3% der untersuchten Zähne konnten nach der Abschlussitzung keine Mikroorganismen mehr nachgewiesen werden (49). Vergleichbare Ergebnisse lieferte eine Studie von Dalton *et al.*: Die Bakterienreduktion innerhalb einer Sitzung betrug 10^1 - 10^2 und stieg signifikant mit zunehmendem Instrumentendurchmesser (160). Seichter und Schilling verwendeten ebenfalls physiologische Kochsalzlösung und reduzierten so die anzüchtbaren Bakterien durchschnittlich um 25% (161). Ørstavik *et al.* untersuchten am Patienten die Aufbereitung mit unterstützender physiologischer Kochsalzlösung in zwei Sitzungen. Während des siebentägigen therapiefreien Intervalls erhielten die untersuchten Zähne eine $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage. Im Rahmen der ersten Sitzung konnten sie in 40,9% der ursprünglich infizierten Fälle keine Bakterien mehr nachweisen. Die durchschnittlich gefundene Bakterienmenge pro Zahn ging in dieser Sitzung signifikant zurück. Korrespondierend zu den Ergebnissen von Dalton *et al.* fanden sie bei Verwendung kleinerer Instrumentendurchmesser mehr anzüchtbare Keime (162).

Alle genannten Studien belegen, dass die mechanische Aufbereitung unterstützt von einer begleitenden Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung eine nur unzureichende Reduktion der Mikroorganismen erreicht. Allein die Aufbereitung ohne Spülmittel liefert noch unbefriedigendere Ergebnisse. Daher empfahlen Byström und Sundqvist, Shih *et*

al., aber auch Dalton *et al.* zusätzliche, desinfizierende Behandlungsmaßnahmen (49, 158, 160).

3.3.3 Die chemomechanische Aufbereitung

Die große Anzahl der für das chemische Debridement angebotenen Medikamente unterscheidet sich hinsichtlich ihrer antibakteriellen Eigenschaften, ihrer geweberweichenden und gewebauflösenden Möglichkeiten sowie ihrer Gleit- und Schmiereffekte recht erheblich. Die üblichen Darreichungsformen sind Lösung, Gel oder Paste. Die Spülmittel sorgen neben ihrer desinfizierenden Wirkung für den Abtransport von Dentinspänen, Pulparesten und ggf. Mikroorganismen (Schwemmeffekt). Hierbei bildet eine ausreichende apikale Erweiterung des Kanals eine *conditio sine qua non* zur Gewährleistung einer adäquaten Spülbarkeit (157).

Als chemisch wirksame Zusätze sind eine ganze Reihe von Stoffen erprobt worden: Wasserstoffperoxid (121), Harnstoffperoxid (Karbamidperoxid) (163), Natriumhypochlorit (172), Chlorhexidin (164), quartäre Ammoniumbasen (Cetylpyridiniumchlorid, Benzalkoniumchlorid), Ethanol (165), Phenolderivate (Thymol, Triclosan), Schwermetallsalze (166), Halogenverbindungen (Jodkaliumjodid, Chloramin) (94, 167, 169) und Säuren wie Editinsäure (170), Zitronensäure (110) oder Peressigsäure (171).

3.3.3.1 Natriumhypochlorit (NaOCl)

Seit seiner Einführung in die Wurzelkanalbehandlung durch Walker 1936 (172) hat sich NaOCl als weltweit führendes endodontisches Spülmittel durchgesetzt (173). Es verfügt über eine gute antimikrobielle Wirksamkeit und ein gewebauflösendes Potenzial für vitales, nekrotisches und fixiertes Pulpagewebe. Natriumhypochlorit zersetzt Proteine unter Bildung von Chloramin (175). Die Auflösungskapazität wird bestimmt durch die Einwirkzeit, die Kontaktfläche sowie die eingesetzte Menge und Konzentration (177, 178, 179). Aufgrund des limitierten Platzangebots im Wurzelkanal (bei gleichzeitig recht hohem Anteil enthaltener organischer Substanz) empfiehlt sich die permanente Heranführung frischen Spülmittels und/oder den Gebrauch einer hochkonzentrierten Lösung (176). Ultraschall beschleunigt die Gewebemazeration zwar beträchtlich, jedoch muss ein rascher Temperaturanstieg auf bis zu 70 °C, insbesondere beim Gebrauch geringerer Lösungsmengen, berücksichtigt werden (176).

Der antimikrobielle Effekt von NaOCl beruht auf der starken Oxidationskraft der verfügbaren Hypochloritionen. Essentielle membranassoziierte und zytoplasmatische Enzyme der Bakterien werden durch Oxidation der Sulfhydryl-Gruppen inaktiviert, wodurch der Metabolismus dieser Lebewesen zum Erliegen kommen kann (180). Byström und Sundqvist untersuchten im Zuge der oben beschriebenen *In-vivo*-Studie auch die antibakterielle Wirksamkeit von NaOCl. Während sich zum Behandlungsabschluß bei einer 0,5%igen NaOCl-Lösung in 80% der Fälle keine Mikroorganismen mehr nachweisen ließen, erzielte die physiologische Kochsalzlösung dies nur bei 53,3% (46). Eine Bestätigung der Überlegenheit von NaOCl findet sich auch in den Arbeiten von Shih *et al.* und Cvek *et al.* (158, 181). Während in den Untersuchungen von Shih *et al.*, Siqueira *et al.*, Yesilsoy *et al.* sowie Harrison und Hand (158, 182, 183, 184) die Verdünnung einer 5,25%igen NaOCl-Lösung mit einer nachweislich schlechteren antimikrobiellen Wirksamkeit einherging, behaupteten andere Studien keinen signifikanten Unterschied zwischen einer 5%igen und einer 0,5%igen Lösung (181, 185).

Die Kombination einer 5,25%igen NaOCl-Lösung mit 3%igem H₂O₂ hob deren antibakterielle Wirkung auf. Von Wechselspülungen dieser Art sollte daher abgesehen werden (184).

Auch zur Frage nach möglichen toxischen Effekten von Natriumhypochlorit liefern die vorliegenden Studien ein uneinheitliches Bild. Als gesichert kann gelten, dass NaOCl zytotoxisch auf periapikales Gewebe wirkt. Gelangt es über den Kanal hinaus ins benachbarte Gewebe (z.B. infolge einer Überinstrumentierung), kann dies heftige Schmerzempfindungen und Emphyse provozieren (187, 188, 189, 190). Diese Ergebnisse kontrastieren mit den Resultaten von Tierexperimenten (191, 192). Thé *et al.* fanden bei Meerschweinchen keinerlei Anhaltspunkte für eine entzündliche Reaktion, die von denen der Vergleichsgruppe (physiologische Kochsalzlösung) abgewichen wären (192).

Von besonderem Interesse sind die gewebsauflösenden und bakteriziden Eigenschaften des NaOCl bei der Beseitigung, der während der mechanischen Aufbereitung entstehenden Schmierschicht (smear layer, smeared layer). Während eine Reihe von Studien belegt, dass NaOCl diese Schicht nur unzureichend entfernt (193, 194, 195, 196), war von Chelatoren wie der Editinsäure bekannt, dass sie dies vermögen. Es lag daher nahe, Editinsäure und Natriumhypochlorit miteinander zu kombinieren (197).

3.3.3.2 Editinsäure (EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure)

Bei diesem Chelator handelt es sich um einen großmolekularen Komplexbildner, der selektiv Kalziumionen bindet. Die Einführung in die Endodontie zum Dekalzifizieren der Wurzelkanalwände erfolgte durch Nygaard-Östby 1957 (198). Die Demineralisation des Dentins und der anorganischen Bestandteile des Smearlayer beruht auf der Chelation von Kalziumionen des Hydroxylapatits.

Zahlreiche Studien erbrachten den Nachweis der im Vergleich zum Natriumhypochlorit überragenden Fähigkeiten der Editinsäure bei der Beseitigung des Smearlayer (119, 193, 195, 197, 199). Die vollständige Reinigung der apikalen Kanalanteile vermag jedoch auch sie nicht zu leisten (194, 199). Dass dies nicht etwa auf einer vermuteten schlechteren Spülbarkeit der apexnahen Bereiche beruht, konnte Fraser aufzeigen. (200). Offenbar üben bereits die differierenden lokalen Dentineigenschaften - die apikal geringere Tubulusanzahl pro Flächeneinheit (201) und der kleinere mittlere Tubulusdurchmesser - einen negativen Einfluß auf die EDTA-Wirkung aus (202). Die Demineralisation des Wurzeldentins geht einher mit einer Erweiterung der Tubuli-Orifizien (203, 204) und einer Erhöhung der Dentinpermeabilität (205). Die Spülabfolge EDTA gefolgt von NaOCl lieferte die überzeugendsten Ergebnisse: Vollständige Entfernung des Smearlayer auch in den apikalen Bereichen, weitestgehende Beseitigung der superfiziellen Debris mit geringfügigen apikalen Restvorkommen (195, 199). Auch Goldman *et al.* empfahlen den kombinierten Einsatz, wobei die Abschlussspülung mit NaOCl erfolgen sollte (194). Neben ihren demineralisierenden Fähigkeiten und ausreichenden Gewebeverträglichkeit (206) verfügt die Editinsäure auch über einen geringen antimikrobiellen Effekt (182, 207).

Eine maßgebende Untersuchung über die Wirksamkeit der Editinsäure am Patienten stammt von Byström und Sundqvist (185). Vor dem abschließenden Einbringen einer Kalziumhydroxid-Einlage (in Vorbereitung der Wurzelfüllung) traten beim kombinierten Einsatz von 15%iger Editinsäure und 5%igem NaOCl in 85% der Fälle keine anzüchtbaren Keime mehr auf. Die Vergleichsdaten für den alleinigen Gebrauch von 0,5%igem und 5%igem NaOCl lauteten 60% bzw. 70%. Weiterhin beobachteten Byström und Sundqvist in den noch infizierten Kanälen eine bestimmte Anzahl von Bakterien, die die chemomechanische Aufbereitung überdauert hatten und sich in den therapiefreien Perioden (2-4 d) wieder vermehren konnten. Aufgrund dieser Ergebnisse, die durch eine Reihe weiterer Untersuchungen bestätigt wurden (46, 164, 208, 209), propagierten

Byström und Sundqvist den unbedingten Gebrauch einer desinfizierenden Zwischeneinlage (185).

3.3.4 Medikamentöse Einlagen

3.3.4.1 Kalziumhydroxid

Bei $\text{Ca}(\text{OH})_2$ handelt es sich um ein weißes geruchloses Pulver. In Abhängigkeit von der zugesetzten Wassermenge entsteht bei nur geringer Zugabe eine Aufschlammung (Suspension) - die Kalkmilch - bei reichlicher Zugabe dagegen erhält man das so genannte Kalkwasser.

Kalziumhydroxid wird landläufig als gelöschter Kalk bezeichnet (210). Zu seiner Gewinnung muss vorab durch „Brennen“ von Kalkstein (CaCO_3) gebrannter Kalk (CaO) gewonnen werden: $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$. Beim „Löschen“ dieses Branntkalks (CaO) durch Zugabe von Wasser entsteht dann der Löschkalk resp. das Kalziumhydroxid: $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2$. Ein wichtiges Einsatzgebiet findet sich im Baugewerbe: Gemischt mit Wasser und Sand ergibt Kalziumhydroxid Mörtel (211). Da $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Kohlendioxid absorbiert und dadurch in Kalziumkarbonat übergeht, sollte es unter Luftabschluß gelagert werden: $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$. Beim Einleiten von Kohlendioxid in eine gesättigte $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Lösung bildet sich zunächst ebenfalls das schwerlösliche Kalziumkarbonat. Nach weiterem Einleiten von Kohlendioxid löst sich der gebildete Niederschlag jedoch wieder auf, da das entstehende Kalziumhydrogenkarbonat leicht löslich ist: $\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ (212). Es wird angenommen, dass sich auch im Wurzelkanal die Umwandlung zu resorbierbarem Kalziumkarbonat vollzieht, was die Dichtigkeit einer anfangs kompakten Kalziumhydroxid-Einlage nachteilig beeinflussen könnte (213).

Die zahnärztlichen Anwendungsmöglichkeiten des Kalziumhydroxids umfassen vor allem die Bereiche der direkten Überkappung (214), der Vitalamputation (215), der medikamentösen Wurzelkanaleinlage (216, 217), der *Caries-profunda*-Therapie (214), der Apexifikation am traumatisierten Zahn mit nekrotischer Pulpa und nicht abgeschlossenem Wurzelwachstum (218, 219), der Therapie von Perforationen (instrumentell, iatrogen bedingt oder infolge interner Resorption) (217, 220, 221), der Therapie von externen Resorptionen (222, 223), wie sie als Folge inflammatorischer Prozesse, z.B. nach Trauma auftreten können, der definitiven Wurzelfüllmaterialien (224) und der Therapie von Wurzelquerfrakturen (225). Historisch interessant sind darüber hinaus die Verwen-

dungsmöglichkeiten kalziumhydroxidhaltiger Präparate, die Proell (1949) anführte: Beseitigung von white spots, Therapie von *Stomatitis ulcerosa* und *Dolor post extractionem*, Desensibilisierung freiliegender Zahnhälse und tiefer Kavitäten vor der Füllungs-therapie (226).

Die ersten Hinweise für den Gebrauch des Kalziumhydroxids auf endodontischem Gebiet gehen laut Gutmann auf Nygren im Jahre 1838 zurück (227, 228). Die Einführung in die *quasi* routinemäßige Praxis lässt sich allerdings erst ein Jahrhundert später belegen: Hermann berichtete 1930 über den bereits 20-jährigen erfolgreichen Gebrauch von Calxyl, einer bakteriziden Mischung aus NaHCO_3 , NaCl , CaCl_2 , KCl und Ca(OH)_2 , die er direkt auf die exponierte *Pulpa* zu applizieren pflegte - vermeintlich „ohne die geringste Gewebsschädigung“. Er nahm auch an, dass das Präparat der „*Pulpa* den Anreiz und auch (das) Material zur Dentinbildung bietet“ (229). Seither hat sich eine kaum überschaubare Zahl von Studien mit den hartgewebstimulierenden Effekten von Ca(OH)_2 befaßt (230, 231, 232, 233). Bereits 1964 konnten Pisanti und Sciaky an Hunden nachweisen, dass das Kalzium der neugebildeten Hartgewebe nicht aus den Ca(OH)_2 -Präparaten, sondern aus dem Blut stammt (234). Eine im besonderen Maße an Ca(OH)_2 geschätzte Eigenschaft ist seine Fähigkeit, die knöcherne Ausheilung des erkrankten periapikalen Gewebes zu induzieren (13, 235, 236, 238).

Die breite antibakterielle Wirksamkeit von Kalziumhydroxid beruht auf seinem starken alkalischen Potential (bis pH 12,5). Die freigesetzten Hydroxylionen reagieren außerordentlich schnell mit mikrobiellen Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren. Durch Lipidperoxidation verursachen sie eine erhöhte Membranpermeabilität. Die Proteindenaturierung führt zu einer Inaktivierung von Schlüsselenzymen. Komplettiert durch die Schädigung der DNS kann so *in summa* ein Erliegen des bakteriellen Stoffwechsels resultieren (239). Neben diesen biochemisch begründeten Mechanismen entwickelt eine kompakte Kalziumhydroxideinlage mit der nahezu hermetischen Bedeckung der Kanaloberfläche und der Verminderung des toten Raumes zwei weitere Effekte, die sich ungünstig auf die Proliferation und das Substratangebot der Mikroflora auswirken (220, 240). Am Wirkort, das heißt im Wurzelkanal und angrenzenden periapikalen Gewebe, treffen die Hydroxylionen auf effiziente Puffersysteme: Bicarbonat, Phosphat, Proteine, organische Säuren und vor allem den Hydroxylapatit-Anteil des umgebenden Dentins (241). Eine vierwöchige Ca(OH)_2 -Einlage an Schneidezähnen von Affen bewirkte direkt im Kanal einen pH von 10,0-12,2. In der Dentinperipherie ging der pH zwar auf 7,4-9,6 zurück, lag jedoch signifikant über der unbehandelten Kontrollgruppe (pH 6,4-7,0) (242). Für

den Dentindurchtritt an extrahierten Zähnen benötigten Hydroxylionen bis zu 7 Tage. Erst nach 2-3 Wochen erreichten sie in den verschiedenen Wurzelabschnitten eine Sättigungsschwelle. Zervikale Wurzelanteile zeigten die schnellste Passage und die höchsten Konzentrationen (243).

Die gewebsauflösenden Fähigkeiten des Kalziumhydroxids beschrieben erstmals Hasselgren *et al.* (244). Zwar benötigte Ca(OH)_2 für die vollständige Gewebemazeration eine wesentlich längere Einwirkzeit als NaOCl, doch erwies sich eine Ca(OH)_2 -Vorbehandlung in Kombination mit 0,5%igem NaOCl als deutlich wirkungsvoller als der alleinige NaOCl-Einsatz. Metzler und Montgomery fokussierten ihre Untersuchung auf die mesialen Wurzeln unterer Molaren, die bei Anlage von zwei Wurzelkanälen typischerweise Querverbindungen (Isthmen) aufweisen. Bei der Bewertung der Sauberkeit dieser instrumentell nur ungenügend zu erreichenden Bereiche erbrachte eine NaOCl-Spülung mit Kalziumhydroxid-Vorbehandlung ebenso gute Ergebnisse wie eine ultraschallunterstützte Irrigation mit NaOCl (125).

Durch eine Studie von Barthel *et al.* ist belegt, dass eine Ca(OH)_2 -Vorbehandlung darüber hinaus die Dichtigkeit der anschließenden Wurzelfüllung gegenüber bakterieller Penetration verbessert (430). Während frühere Versuche zur Farbstoffpenetration dies zu bestätigen schienen (213, 245), konnten Arbeiten von Wu *et al.* und Kontakiotis *et al.* die Behauptung einer verbesserten Dichtigkeit gegenüber dem Farbstoff Methylenblau widerlegen (246, 247).

Die differenzierten antimikrobiellen Eigenschaften des Kalziumhydroxids sind in der Literatur reich dokumentiert. Nur ausnahmsweise findet sich eine Arbeit, die eine vollständige Beseitigung aller untersuchten, anzüchtbaren Mikroorganismen konstatierte (248). Als typisch kann dagegen eine Studie von Siqueira *et al.* gelten, die Ca(OH)_2 -Einlagen in Bezug auf unterschiedliche Einwirkzeiten *in vitro* untersuchte: Während sich *Actinomyces israelii* bereits nach einem Tag in keiner der Proben mehr nachweisen ließ, überdauerten *Fusobacterium nucleatum* und *Enterococcus faecalis* in allen Proben auch den Zeitraum einer Woche (106). Auch bei einer Untersuchung von Sjögren *et al.* am Patienten führte eine zehnminütige Applikation nur in 50% der untersuchten Fälle in der Abschlussprobe zu Kanälen, aus denen sich keine Bakterien mehr nachweisen ließen. Eine einwöchige Einlage zeigte hingegen bei allen Zähnen einen negativen bakteriologischen Befund. Auch nach weiteren fünf Wochen ohne Dressing (mit provisorischem Verschluss) blieben diese Zähne bakterienfrei. In der Gruppe mit zehnminütiger Ca(OH)_2 -Applikation fanden sich dagegen drei Zähne mit mikrobiologischem Rückfall:

Nach einem zunächst negativen Befund hatten Mikroorganismen (ca. $6,8 \times 10^5$) den Wurzelkanal offenbar von Rückzugsgebieten aus wiederbesiedelt (216). Auch bei Ørstavik *et al.* erhöhte eine einwöchige $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage den Anteil bakterienfreier Kanäle (162). Längere Liegezeiten von durchschnittlich 25,1 Tagen oder einem Monat erhöhten den Anteil von Kanälen mit negativem mikrobiologischen Befund signifikant (249, 250). Byström *et al.* konnten nach einmonatiger Einlage in keinem Fall Bakterien nachweisen. Ein sich anschließendes medikamentfreies Intervall (2-4 d) führte bei einem der untersuchten Zähne erneut zu einem positiven bakteriologischen Befund (*Wolinella recta* und *F. nucleatum*) (250), ähnlich wie dies bereits Sjögren *et al.* beschrieben hatten (216). Aufgrund dieser Resultate scheint eine siebentägige $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage, am Patienten eine ausreichende Gewähr für eine weitestgehende Keimreduktion zu bieten. Die $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Wirkung wird von verschiedenen Faktoren maßgeblich beeinflusst. Dazu zählen neben den lokalen Dentineigenschaften (Permeabilität und Pufferkapazität gegenüber den Hydroxylionen), die Qualität des Aufbereitungsergebnisses (Schmier-schichtanteile, Pulparesten, unzugängliche Abschnitte des Wurzelkanalsystems), die Einwirkzeit und auch die mikrobielle Infektion (qualitativer und quantitativer Aspekt). Estrela *et al.* untersuchten im Rahmen einer *In-vitro*-Studie die Wirksamkeit einer Kalziumhydroxid-Suspension beim direkten Kontakt mit bakteriell infizierten Papierspitzen verschiedener Kulturen (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus spp.* und 4 Mischungen dieser Bakterien). Spätestens nach 72 Stunden ließ sich in keinem Fall mehr bakterielles Wachstum nachweisen (251). Dieselbe Arbeitsgruppe unterzog extrahierte Zähne einer gründlichen chemomechanischen Aufbereitung (NaOCl , EDTA), infizierte die Proben mit *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* sowie einer Mischkultur und legte eine $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage für 7 Tage. Hier gelang es bei keiner Probe einen antibakteriellen Effekt aufzuzeigen (252)! Ob ein Medikament mithin über eine ausreichende Desinfektionskraft für den endodontischen Gebrauch verfügt, sollte letztlich dort geprüft werden, wo die kanaläre Mikroflora tatsächlich angetroffen wird - im infizierten Wurzelkanalsystem.

Ein für seine geringe $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Sensitivität bekanntes Bakterium ist *Enterococcus faecalis* (94, 133, 168, 241). Dieser früher als *Streptococcus faecalis* bezeichnete Keim (253) wird auffällig häufig in therapieresistenten apikalen Parodontitiden beobachtet (60, 66). Erstaunlicherweise tolerierte dieses Bakterium selbst mehrwöchige $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlagen bei pH-Werten von 11,5-12,2 (251, 254). Distel *et al.* beobachteten Zellen des Stammes

ATCC 4083 direkt auf einem pastösen Kalziumhydroxid-Medikament wachsend (255). Allerdings finden sich auch Studien, die einer $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Paste eine gute Wirksamkeit gegenüber *E. faecalis* bescheinigen (256, 257).

Zu den sehr wirksamen Virulenzfaktoren gramnegativer Bakterien zählen die Lipopolysaccharide (LPS). Sie werden aus den Zellmembranen im Zuge von Zellteilung oder Zelltod freigesetzt. Durch ihre Toxizität, ihr pyogenes und komplementaktivierendes Potenzial, vor allem aber durch ihre Fähigkeit, die Synthese und Freisetzung von osteoklasten-aktivierenden Zytokinen zu stimulieren, namentlich Interleukin 1 (IL-1) und Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α), üben diese Endotoxine einen entscheidenden Einfluß auf die Entstehung und Progression endodontischer Infektionen aus (258, 259). Interessanterweise scheint Kalziumhydroxid, die LPS-verursachte Liberation verschiedener Zytokine durch Monozyten zu inhibieren. Untersuchungen legen diesen Schluß nahe für TNF α , IL-1 β und NF- κ B (260, 261, 262, 263). (Bei NF- κ B - nuclear factor kb - handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der u.a. die Transkription von TNF α reguliert.) Die für den Großteil der pathologischen Wirkungen verantwortliche Komponente Lipid A der LPS konnte bei *Salmonella typhimurium* und *Prevotella intermedia* durch $\text{Ca}(\text{OH})_2$ degradiert bzw. detoxifiziert werden (264, 265). Die Effekte experimenteller *Escherichia coli*-LPS vermochten Tanomaru *et al.* durch eine 60-tägige $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage auszuschalten (266).

3.3.4.2 Kalziumhydroxidhaltige Guttaperchaspitzen ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ -GPS)

Die medikamentöse Einlage ist ihrer Bestimmung nach eine zeitlich begrenzte Therapiemaßnahme (temporäre Einlage). Vor dem Hintergrund des beim Legen und Entfernen notwendigen Zeitbedarfs überrascht es nicht, dass von Seiten der Industrie Konzepte entwickelt wurden, durch geeignete Trägersysteme die $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Applikation zu effektivieren. Zu diesem Zweck brachte die Firma Roeko 1996 Guttapercha-Spitzen (GPS) auf den Markt, die anstelle von Zinkoxid Kalziumhydroxid enthielten ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ -GPS) (267). Laut Herstellerangaben bestehen sie aus: 50-51% $\text{Ca}(\text{OH})_2$, 40-45% Guttapercha, 4-10% TiO_2 , Fe_2O_3 , BaSO_4 , Wachsen und Ölen (in Gewichtsprozent).

Bei *In-vitro*-Untersuchungen zeigten sie in 1%iger NaCl-Lösung und *aqua dest.* einen nachweisbaren pH-Anstieg auf 9,5 - 13 innerhalb von 30 s – 2 h (268, 269, 270). In biologischen Flüssigkeiten (Speichel, Rinderserum, pH-4-Pufferlösung als Pus-Ersatz) jedoch wurde ein pH 9 in diesem Zeitraum nicht erreicht, wohingegen eine $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -

Paste einen pH >11 noch vor Ablauf einer Stunde erzielte (268). Die Ergebnisse an extrahierten, infizierten Zähnen boten ein uneinheitliches Bild. Ardeschna *et al.* bestimmten nach einer dreiwöchigen Einlage einen pH von durchschnittlich 10,5. Sie hielten daher eine Ca(OH)_2 -GPS-Einlage für ebenso geeignet wie eine Ca(OH)_2 -Suspension (pH 11,2) (271). Andere Studien konstatierten ein vergleichsweise geringes Alkalisierungsvermögen, das deutlich hinter dem der Ca(OH)_2 -Suspension zurückblieb (272, 273). Eine Erhöhung des Ca(OH)_2 -Anteils auf ca. 58 Gewichtsprozent in Form der 2000 eingeführten „Calciumhydroxid PLUS Spitzen“ (267) erbrachte keine nennenswerte Verbesserung gegenüber einer Ca(OH)_2 -Suspension (274). Unter *In-vivo*-Bedingungen ging der Hydroxylionen-Anteil von Ca(OH)_2 -GPS-Einlagen derartig zurück, dass nach einer Woche ein nahezu neutraler pH (7,1) resultierte (275).

Hinsichtlich der erhofften antibakteriellen Wirkung durch die sukzessive Freisetzung des Kalziumhydroxids liefern die vorliegenden *In-vitro*-Studien teilweise widersprüchliche Ergebnisse. In der Testung gegenüber *Streptococcus oralis* erwiesen sich Ca(OH)_2 -GPS als ebenso wirksam wie eine Ca(OH)_2 -Suspension (276, 277). Distler und Petschelt brachten Ca(OH)_2 -haltige GPS auf Agarplatten aus, die vorab mit *S. mutans*, *S. oralis*, *Capnocytophaga gingivalis* und *Actinomyces naeslundii* beimpft worden waren und prüften auf etwaige Hemmhöfe. Sie fanden keinerlei Anzeichen einer antibakteriellen Wirkung (269). Podbielski *et al.* bestimmten *in-vitro* gegenüber *E. faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* und *S. intermedius* eine gute antibakterielle Wirksamkeit, in Hinblick auf *Peptostreptococcus micros* jedoch versagten Ca(OH)_2 -GPS (278). Ein ähnliches Versagen konstatierte Al-Nazhan bei Dilutionstests gegenüber *E. faecalis* und *S. mutans*. Eine Ca(OH)_2 -Suspension bewirkte dagegen bereits nach einem Tag Keimfreiheit (279). Distler *et al.* beobachteten *in vitro*, dass *E. faecalis* Wurzelkanäle trotz Ca(OH)_2 -GPS-Einlage bereits nach zwei Tagen vollständig besiedelte (255).

Diese uneinheitlichen Resultate unterstreichen die Notwendigkeit von weitergehenden mikrobiologischen Untersuchungen. Die Frage, ob kalziumhydroxidhaltige Guttaperchaspitzen für die vom Hersteller postulierte Anwendung als desinfizierende Einlage überhaupt geeignet sind, sollte erst nach Erprobung unmittelbar im Wurzelkanal unter den Bedingungen einer endodontischen Mischflora beantwortet werden.

3.3.4.3 Chlorhexidin (CHX, 1,6-Di-(4-Chlorophenyldiguanido)-hexan)

Dieses wirksame Detergens aus der Gruppe der Bisguanide (280) wurde erstmals Ende der 40iger Jahre des letzten Jahrhunderts synthetisiert (281). Seit seiner Markteinführung (1953) unter dem Handelsnamen „Hibitane“ in Form einer antiseptischen Salbe hat es sich in den verschiedensten medizinischen Fachrichtungen etablieren können (282, 283, 284). Die konventionellen zahnärztlichen Indikationen liefern in erster Linie die Parodontaltherapie und die Kariesprävention (285).

Von den Salzen, die das stark basische Chlorhexidin bildet, wurde dem Digluconat schon Ende der 60iger Jahre der Vorrang eingeräumt. Dies ist in seiner im Vergleich zum Diacetat und Dihydrochlorid deutlich höheren Wasserlöslichkeit begründet (282, 286). Es ist schwach oberflächenaktiv. Das gleichzeitige Vorliegen eines hydrophilen und hydrophoben Molekülanteils ermöglicht ihm die Bildung von Mizellen (287). Bei einem physiologischen pH dissoziiert es leicht und setzt dabei das kationische Chlorhexidin frei (281).

CHX interagiert aufgrund seiner positiven Ladung mit anionischen Substraten im Sinne einer Adsorption. Neben dem Hydroxylapatit, der *Cuticula dentis* (Pellikel), den Speichel-Glykoproteinen oder den mucinbedeckten oralen Epithelien können dies auch die Oberflächenstrukturen eines Bakteriums sein (281, 288). Im Gegensatz zu seiner guten Adsorption (insbesondere an den schleimbildenden Epithelien des Verdauungstraktes und der Atemwege) steht seine sehr geringe Absorption (289, 290, 291, 292). Winrow ermittelte beim Menschen für die Exkretion über die *Faeces* 81,9% (290). Demnach ist es für die Therapie systemischer Infektionen mittels parenteraler Gabe ungeeignet (282). Chlorhexidin wirkt nicht genotoxisch (293). Verschiedene Substanzen wie Alginate, Glycerin oder Traganth können Chlorhexidin inaktivieren (286). Auch die organischen Dentinbestandteile erwiesen sich *in vitro* als wirksame Inhibitoren (294). Durch SO_4^{2-} , CO_3^{2-} und PO_4^{3-} -Ionen wird es ausgefällt (429). Die extrem niedrige Toxizität des Chlorhexidins belegt eine Reihe von Tierstudien (282, 295, 296, 297). Für den Menschen wurde die Letalosis nie bestimmt, doch kann aufgrund einer Extrapolation der Messdaten der Maus eine orale LD_{50} von ca. 126.000 mg angenommen werden (281). Zur Vorsicht mahnende Ergebnisse lieferte Hennessey im Rahmen einer Studie an Hamstern. Eine täglich verabreichte CHX-Gabe von 100 mg/kg *per os* (ursprünglich für 28 Tage veranschlagt) führte regelmäßig zum vorzeitigen Verlust der Tiere. Die ge-

gefundenen Symptome deuteten auf schwerwiegende Störungen der intestinalen Normalflora (296).

Eine ihrem Umfang nach beispiellose Studie zur erfolgreichen Langzeitanwendung von Chlorhexidin im Rahmen der häuslichen Mundhygiene lieferten Løe *et al.* vom zahnärztlichen Institut in Aarhus, Dänemark (298). Unerwünschte Wirkungen wie Ulzerationen, weiß verfärbten Schleimhautareale, verstärkte Desquamation oder subjektive Missempfindungen wie ein Brennen der Mundschleimhaut und das Gefühl des Wundseins und der Mundtrockenheit fanden sich nur selten (299, 300). Eine häufig beobachtete Nebenwirkung stellt die (reversible) zumeist gelblich-braune Verfärbung von Anteilen der Zunge sowie von natürlichen und künstlichen Zahnflächen dar (280, 300, 301, 302, 303). Die Ursachen ihrer Genese wurden und werden kontrovers diskutiert (280, 288, 304, 305).

Das bereits oben erwähnte ausgeprägte Adsorptionsvermögen bildet die Voraussetzung für eine prolongierte Freisetzung des gebundenen Chlorhexidins (Depot- oder Residualeffekt) (290). Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* konnte eine Chlorhexidin-Liberation noch 24 Stunden *post expositionem* aufgezeigt werden (288, 306).

Das antimikrobielle Spektrum von Chlorhexidin umfasst eine große Zahl von grampositiven und -negativen Bakterien, aber auch einzelne Pilze wie *Candida albicans* (284, 307, 308). Hefepilze und Dermatophyten, besonders aber Schimmelpilze, erwiesen sich größtenteils als unempfindlich (286). Die umfangreichen Publikationen zu dieser Thematik sind aufgrund ihrer recht verschiedenen experimentellen Methodik von unterschiedlicher Wertigkeit in Bezug auf die klinische, d.h. praktisch-endodontische Relevanz der gefundenen Ergebnisse. Bei den vorliegenden *In-vitro*- und *In-vivo*-Studien lassen sich grundsätzlich Studien am Tier (309, 310, 311) und Untersuchungen am Menschen unterscheiden (161, 164, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322). Eine weitere notwendige Typisierung beschäftigt sich mit der Frage nach Art und Ziel des CHX-Einsatzes. Wurde Chlorhexidin zum Beispiel als Mundspüllösung zur Plaque-reduktion verwendet oder als Irriganz für Wurzelkanäle extrahierter Zähne bzw. speziell präparierter Zahnsegmente? Eine gewisse Sonderstellung nehmen hierbei *In-vitro*-Studien ein, die sich katalogisierter Laborstämme bedienen und deren CHX-Sensitivität durch Agardiffusions-, Plattenflutungs- oder Suspensionstests ermitteln, ohne dabei im oralen Milieu von Tier oder Mensch resp. ohne entsprechenden Zahnproben gearbeitet zu haben (182, 183, 323, 324, 325, 326). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind kaum auf den klinischen Fall übertragbar. Folgt man der erwähnten Kategorisierung, so

haben naturgemäß diejenigen Studien den größten Wert für endodontische Fragestellungen, die das Chlorhexidin in seiner Wirkung dort untersuchen, wo es diese entfalten soll - im Wurzelkanal.

Die Adsorption des kationischen CHX-Digluconats an negativ geladene Oberflächen von Mikroorganismen kann zum Herauslösen von Bestandteilen der Zytoplasmamembran führen. Die resultierende Ausschwemmung von Stoffen geringen Molekulargewichts bewirkt eine Beeinträchtigung des zellulären osmotischen Gleichgewichts (281, 429). Dieser bakteriostatische Effekt ließ sich bereits bei Konzentrationen von 0,19 ppm nachweisen (296). Höhere, bakterizide Konzentrationen (ca. 100 ppm) verursachen eine Desorganisation des kolloid-physikalischen Zytoplasmasystems bis hin zum Zelltod. So wurde die Präzipitation von Zytoplasma-Bestandteilen infolge einer Interaktion des Chlorhexidins mit Phosphat-Gruppen von beispielsweise ATP und Nukleinsäuren beobachtet (296, 327). Die CHX-Wirkung wird wesentlich durch die pH-abhängige Oberflächenionisation von Bakterienzellen beeinflusst. Im sauren Milieu geht die CHX-Adsorption deutlich zurück (287). Die beschriebene Plaquerreduktion (300, 303, 328, 329) könnte darüber hinaus noch zwei weitere Ursachen haben: 1. Die bakterielle Kolonisation von Zahnoberflächen scheint, durch die CHX-Adsorption an Speichelbakterien behindert zu werden. 2. Die in diesem Zusammenhang bedeutsame *Cuticula dentis* erhält ihre Glykoprotein-Komponente aus dem Speichel. Durch Wechselwirkungen des Chlorhexidins mit anionischen Gruppen der Speichel-Glykoproteine könnte eine verminderte Bildung des tertiären Schmelzoberhäutchens resultieren (330).

Das grampositive Segment wird aufgrund einer höheren CHX-Sensitivität besser erfasst (296, 324). Eine größere Empfindlichkeit von obligaten Anaerobiern (z.B. *Veillonella spp.*) im Vergleich zu aeroben und fakultativ anaeroben Stämmen wurde durch Emilson beschrieben (324). Eine interessante *In-vivo*-Studie zur Langzeitanwendung eines 0,2%igen CHX-Sprays beim Hund lieferten Hamp und Emilson. Die Sensitivität der oralen Mikroflora gegenüber dem zweimal täglich applizierten CHX nahm signifikant ab. Nicht nur für unterschiedliche Bakterienarten, sondern auch verschiedene Stämme ein und derselben Spezies ermittelten sie mitunter deutlich differierende Minimale Inhibitorische Konzentrationen (MIC). Nach Absetzen der Medikation verschwanden die Bakterien mit verminderter Sensitivität auffällig langsam (nach ca. 3 Monaten) (311). Zu den wenig empfindlichen Keimen zählen *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.* (296), *Pseudomonas spp.* (286, 296) und *Candida albicans* (169, 307, 331).

Eine frühe Studie zum Gebrauch einer CHX-Lösung im Zusammenhang der Wurzelkanalbehandlung lieferte Parsons 1980. An Dentinproben vom Rind untersuchte er die konzentrationsabhängige CHX-Aufnahme/-abgabe (0,02% und 1,00%) nach unterschiedlicher Einwirkdauer (20, 40 min). Bei Tests an einem katalogisierten Stamm von *E. faecalis* ergaben beide Konzentrationen und Einwirkzeiten die gleiche Bakterienreduktion. Interessanterweise entwickelten die Proben diese Desinfektionskraft auch noch nach einwöchiger Inkubation. Neben diesem Beleg für den Residual-Effekt lieferte diese Arbeit auch eine Empfehlung für den Gebrauch als temporäre Einlage (310). Einschränkung muss darauf hingewiesen werden, dass die verwendeten Dentinblöcke weder einen Kanal noch ein Kanaläquivalent besaßen. Eine Übertragung der Ergebnisse auf die Desinfektion von Wurzelkanälen ist daher nicht möglich. Ein geeigneteres Wurzelmodell (Hohlzylinder von Rinderzähnen) wurde von Haapasalo und Ørstavik erstmals 1987 vorgestellt (75) und seitdem auch von anderen Arbeitsgruppen wiederholt angewandt (309, 311). Diese Testkörper wurden mit *Streptococcus sanguis* (ATCC 10566) inokuliert und u.a. mit CHX-Digluconat, Jodkaliumjodid oder NaOCl aufgefüllt und anschließend für 5 min inkubiert. Um die antibakterielle Tiefenwirkung möglichst genau zu bestimmen, wurden die Kanalwände in definierter Abfolge mittels Rosenbohrern aufsteigender Größe abgetragen und der gewonnene Abrieb mikrobiologisch analysiert. Eine vollständige Abtötung des Testkeims verursachte allein Jodkaliumjodid. Das 0,2%ige CHX und das 5,25%ige NaOCl zeigten identische Einwirktiefen (133). Vahdaty *et al.* verglichen am gleichen Modell (Testkeim hier aber *E. faecalis* NCTC 775) zwei Konzentrationen von NaOCl und CHX (0,2% und 2,0%). Besondere Vorkehrungen wurden getroffen, um den CHX-Residualeffekt auszuschließen. Auch hier bewirkten Chlorhexidin und Natriumhypochlorit eine nahezu identische Tiefendesinfektion unabhängig von der verwendeten Konzentration (309). Auch an den Wurzelkanälen extrahierter menschlicher Zähne entwickelte eine 2,0%ige CHX-Lösung ähnliche antimikrobielle Eigenschaften wie 5,25%iges NaOCl (314). Im Unterschied zu Vahdaty *et al.* fanden Seichter und van der Schelling an extrahierten menschlichen Zähnen bei CHX geringerer Konzentration (0,1% und 0,2%) eine signifikant schlechtere Desinfektion als bei einem 1,0%igen Ansatz. Erst diese Konzentration erreichte die antibakterielle Wirkung einer 3%igen NaOCl-Lösung (161). Einen aufschlussreichen Vergleich von 0,2%igem CHX, 2,5%igem NaOCl und deren Kombination direkt am Patienten lieferten Kuruvilla und Kamath. Bewusst unterliessen sie eine instrumentelle Aufbereitung, um die Studie tatsächlich nur auf die antimikrobielle Effektivität der Agenzien zu fokussieren. Die Re-

sultate des 0,2%igen CHX und des 2,5%igen NaOCl differierten nicht signifikant. Die Kombination erzielte mit einer Reduktion der endodontischen Mikroflora um 84,6% das beste Ergebnis, wobei der Unterschied zum NaOCl (59,4%) signifikant war, der zum Chlorhexidin (70%) dagegen nicht (321). Die fünf letztgenannten Studien bescheinigen beiden Substanzen ähnlich effektive Desinfektionseigenschaften. Im Vergleich zum Chlorhexidin besitzt das Natriumhypochlorit nur einen nennenswerten Vorteil - sein gewebsauflösendes Potenzial (176). Von Nachteil sind seine zytotoxische Wirkung auf periapikales Gewebe (189, 190), der schlechte Geruch, sein Korrosionsvermögen gegenüber dem endodontischen Instrumentarium (332) und sein Allergisierungsvermögen (333). Dem Chlorhexidin fehlt zwar die Fähigkeit zur Gewebsmazeration (334), dafür zeichnet es sich neben seiner extrem niedrigen Toxizität (281) vor allem durch seine prolongierte Wirkung (Residual- oder Depoteffekt) aus (290).

Eine Arbeit zum Residual-Effekt an Hohlzylindern von Rinderzähnen (Testkeim *E. faecalis* ATCC 29212) untersuchte eine 0,2%ige CHX-Lösung. Bei einem nur fünfminütigen Einwirkintervall ließ sich kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (physiologische Kochsalzlösung) feststellen. Eine Inkubation für 7 Tage (*de facto* als medikamentöse Einlage) dezimierte dagegen den untersuchten Keim bis in die lumenfernsten Dentinproben (-450µm) - offenbar infolge des Residual-Effekts (311). Die Konzentrationsabhängigkeit der prolongierten CHX-Wirkung konnte zuvor von White *et al.* an extrahierten menschlichen Zähnen nachgewiesen werden. Die intermittierende Spülung mit einer 2%igen Chlorhexidinlösung während der instrumentellen Aufbereitung bewirkte auch noch nach 72 h in allen Proben eine Reduktion des Testkeims *Streptococcus mutans*. Bei einer niedrig konzentrierten Lösung (0,12%) erbrachte der Test nur noch in 9,5% der Fälle eine desinfizierende Wirkung (317). Hierzu im Widerspruch scheinen die Resultate von Ringel *et al.* zu stehen (320). An jeweils 30 einwurzligen Zähnen (direkt am Patienten) verglichen sie als Spüllösung während der Aufbereitung 0,2%iges CHX-Gluconat mit 2,5%igem NaOCl. Einen prolongierten Effekt konnten sie in der Folge der weiteren Sitzungen nicht feststellen. Stattdessen beobachteten sie im Verlauf, der auf drei Behandlungstermine angelegten Studie, (erster/zweiter Termin: chemomechanische Aufbereitung, dritter Termin: Wurzelfüllung) eine verhältnismäßig hohe Zahl an mikrobiellen Rückfällen von vorerst mikrobiologisch negativen zu positiven Befunden (27 Fälle in der CHX-Gruppe, 11 in der NaOCl-Gruppe). Eine eingehende Betrachtung der gewählten Methodik fördert Ungewöhnliches zutage: Nach der chemomechanischen Aufbereitung spülten die Autoren jeden Kanal in zwei Etappen mit insgesamt 50

ml (!) *aq. dest.*, trockneten ihn zweimal mit mehreren Papierspitzen und instrumentierten ihn nach der Auffüllung mit RTF, um danach das verbliebene RTF mit sterilen Papierspitzen zu entnehmen. (Bereits durch die Entnahme nur einer passenden, zuvor trockenen Papierspitze aus einem feuchten Kanal resultiert, bedingt durch die Quellung des Papiers, eine die Kanalwand abwischende Reinigungsbewegung.) Es scheint fraglich, ob eine solch gründliche Prozedur - keine der bisher zitierten Studien verfuhr ähnlich intensiv - an die Kanalwand adhäriertes CHX belässt. Dieser Umstand und mehr noch der Verzicht auf eine Einlage für die 7-10 Tage zwischen den Sitzungen sollten die genannten Ergebnisse hinreichend erklären. Ebenfalls direkt am Patienten erprobten Leonardo *et al.* eine 2%ige CHX-Gluconat-Lösung im Verlauf der chemomechanischen Aufbereitung (332). Sie versahen die instrumentierten Kanäle nach gründlicher Trocknung für 48 h mit einem provisorischen Verschluss. Eine im Anschluß für nur 30 s eingebrachte sterile Papierspitze entwickelte in allen untersuchten Fällen auf bakteriell beimpften Agarplatten (*Micrococcus luteus*, Stamm ATCC 9341) Inhibitionszonen.

Der erfolgreiche Gebrauch einer Chlorhexidinlösung als medikamentöse Einlage ist durch Delany *et al.* sowie Schäfer und Bößmann belegt (164, 165). Erstere konnten durch die eintägige Anwendung 0,2%igen Chlorhexidins in aufbereiteten extrahierten Zähnen die anzüchtbaren Mikroorganismen in 85% der Fälle wirkungsvoll reduzieren. Nur drei Proben zeigten trotz der Einlage einen leichten Anstieg der koloniebildenden Einheiten (164). Schäfer und Bößmann versorgten extrahierte, experimentell infizierte Zähne für 48 h mit einer 2,0%igen CHX-Lösung und konnten anschließend in 75% der Fälle keine Keime mehr nachweisen (165).

In der Diskussion nach der günstigsten Konzentration als Spülmittel oder Zwischeneinlage sei hier die Ansicht von Klimm angeführt. Er empfahl aufgrund langjähriger klinischer Erfahrung 0,5%iges CHX gleichsam als Sicherheitsdosis (335). Die klinische Erprobung (322, 336) und Empfindlichkeitstestungen an *E. faecalis* stützen diese Position (337).

Im direkten Vergleich mit Kalziumhydroxid erwies sich Chlorhexidin *in vitro* als das effektivere (338), *in vivo* als ein ebenbürtiges Mikrobizid. Die vom Kalziumhydroxid bekannte Fähigkeit zur Inaktivierung bakterieller Endotoxine (LPS) (264, 265) fehlt dem Chlorhexidin (339, 340). In Gelform ist Chlorhexidin (zumindest *in vitro*) einer pastösen $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage hinsichtlich seiner antimikrobiellen Wirksamkeit überlegen (257, 325, 341). Sowohl Arbeiten an Rinderzähnen (342) als auch an menschlichen Zahnpräparaten (343) bescheinigten einem 2,0%igen CHX-Gel (gebraucht als einwöchigen Einlage

mit anschließender 21-tägiger Inokulation durch *E. faecalis*) bessere Desinfektionseigenschaften als einer $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension.

Die nahe liegende Kombination von CHX und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ verringert den Kontaktwinkel bzw. steigert die Benetzungsfähigkeit einer derart modifizierten $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension (345). *In-vitro* zeigte diese Mischung gegenüber *Peptostreptococcus micros*, *S. intermedius* und dem prekären *E. faecalis* (346, 347) eine im Vergleich zur $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension wirksamere Keimreduktion.

3.3.4.4 Chlorhexidinhaltige Guttaperchaspitzen (CHX-GPS)

Die Markteinführung dieser speziellen Guttperchaspitzen durch die Firma Roeko, Langenau erfolgte 1999 unter der Bezeichnung „activ point“. Der konventionelle Kern dieser Spitzen ist mit CHX-Diacetat beschichtet, das laut Herstellerangaben durch vorab zu applizierendes *aqua dest.* oder durch eine (vermeintlich) aus den *Tubuli* nachfließende Flüssigkeit freigesetzt wird. Die CHX-GPS bestehen aus 5% CHX-Diacetat, ~65% ZnO, ~30% Guttapercha, ~1% BaSO_4 und Pigmentzusätzen (267).

Als Vorläufer dieser GPS können verschiedene Trägersysteme auf Kunststoffbasis gelten. Cervone *et al.* verwendeten mehrschichtige Kunststofffolien mit einem inneren Polymer-CHX-Reservoir und einer permeablen Außenmembran zur gezielten Abgabe (323). Huang *et al.*, Lenet *et al.* und Basrani *et al.* experimentierten mit chlorhexidinhaltigen wasserdurchlässigen Polymergemischen mittlerer Hydrophobizität, aus denen sie nadelförmige Stifte mit einer nicht abbaubaren Beschichtung herstellten (342, 343, 348). Diese, einer CHX-GPS durchaus ähnlichen Vorrichtungen, zeigten jedoch im Rahmen von *In-vitro*-Studien an *E. faecalis* trotz eines CHX-Anteils von bis zu 25% (343) keine nennenswerten Vorteile gegenüber einer $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension oder anderen Darreichungsformen wie Gel und Lösung (342, 343).

In vitro erwiesen sich die CHX-GPS an mit *E. faecalis* infizierten Zähnen als überaus wirkungsvoll. Lin *et al.* untersuchten am Rinderzahnmodell eine einwöchige CHX-GPS-Einlage und eine 2%ige CHX-Spüllösung (349). Die GPS eliminierten alle anzüchtbaren Bakterien in den betrachteten Schichttiefen (-500 μm), während die Lösung nur bis in 200 μm eine signifikant bessere Reduktion erzielte als die Kontrollgruppe ohne Medikament. Warum die Autoren jedoch die Spüllösung nur für 7 min einwirken ließen, muss dem Außenstehenden unverständlich bleiben. Eine vergleichende Aussage lies sich daher nicht ableiten. Lui *et al.* wählten an extrahiertem menschlichen Zahngut eine zweiwöchige Einwirkzeit (350). Die als Vergleich dienende $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension lieferte

bis in eine Tiefe von 100 µm signifikant bessere Ergebnisse. Für 250 µm unterschied sich die Keimreduktion nicht mehr signifikant.

Den direkten Vergleich mit Ca(OH)₂-GPS beschrieben Podbielski *et al.* (278). Einen katalogisierten Stamm von *Peptostreptococcus micros* reduzierten CHX-GPS demnach effektiver, wohingegen Ca(OH)₂-GPS gegenüber *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus intermedius* und *E. faecalis* besser abschnitten.

Aufgrund der genannten Resultate wird deutlich, dass chlorhexidinhaltige Guttaperchaspitzen als temporäre Einlage in Bezug auf ihren apostrophierten Verwendungszweck - die Desinfektion eines strukturierten Wurzelkanalsystems mit endodontischer Mischinfektion - noch weitestgehend unerforscht sind.

3.3.4.5 Kortison und seine Derivate

Der erstmalige Gebrauch von Kortikosteroiden auf endodontischem Gebiet wird Wolfsohn für das Jahr 1954 zugeschrieben (351). Sowohl intramuskuläre Steroid-Injektionen (352) als auch Steroid-Kanaleinlagen (353) erwiesen sich als geeignet, um die im Verlauf einer Wurzelkanalbehandlung registrierten Schmerzempfindungen zu reduzieren. Trotz dieser Ergebnisse stand der Kortikosteroid-Einsatz im Kreuzfeuer der Kritik, da vermutet wurde, dass der intrakanaläre Gebrauch systemische Nebenwirkungen hervorrufen könnte (354, 355, 356). Erst aufgrund einer Gegenüberstellung des endogen produzierten Kortisols und Berechnungen zur Kortikoid-Liberation (Triamcinolon) des Präparats Ledermix-Paste konnte Abbott diesen Einwand entkräften (357, 358, 359, 360). Andere Eigenschaften der Kortikosteroide haben sich dagegen zweifelsfrei als Nachteil erwiesen: Einerseits unterdrücken sie die lokale Immunabwehr, indem sie die Phagozytose, die Leukodiapedese und die Antikörperbildung hemmen (354, 361), andererseits behindern sie die Fibroblastenaktivität (362). Die fehlende antimikrobielle Wirkkomponente der Steroide führte bereits in den 50iger Jahren zu Versuchen des kombinierten Einsatzes von Kortisol-Derivaten und Antibiotika (s.u.) (363).

3.3.4.6 Antibiotika

Antibiotika können im Verlauf einer endodontischen Therapie sowohl lokal (intrakanalär) als auch systemisch eingesetzt werden. Vor dem Hintergrund mikrobieller Resistenzbildung, eventueller allergischer und toxischer Reaktionen sowie seltenerer Nebenwirkungen

gen (wie der pseudomembranösen *Colitis*) verbietet sich ihr routinemäßiger Einsatz (364). Die systemische Gabe ist daher auf zwei Patientengruppen beschränkt: 1. Fälle akuter infektiöser Symptomatik (mit Fieberschüben, ausgedehnten Schwellungen, unerträglichen Schmerzen oder stark herabgesetztem Allgemeinbefinden. 2. Der prophylaktische Gebrauch bei Patienten mit erhöhtem Endokarditisrisiko oder Immunsuppression, im Vorfeld endochirurgischer Therapiemaßnahmen und bei Zahnreplantationen (365, 366).

Am Beispiel der Tetracycline konnten Burke und Shipman aufzeigen, dass die bei der systemischen Medikation direkt im infizierten Wurzelkanal registrierten Wirkstoffkonzentrationen bei weitem nicht ausreichen, um die endodontische Mikroflora wirksam zu bekämpfen (367). Im Zusammenhang der Wurzelkanalinfektion richtet sich das Interesse daher vornehmlich auf den intrakanalären Gebrauch.

Die einzelnen Antibiotika greifen an verschiedenen Stellen in für Zellwachstum und Proliferation essentielle bakteriologische Stoffwechselprozesse ein. Neben Hemmstoffen der Zellwandsynthese, Gyrase-Hemmern und Inhibitoren von Schlüsselenzymen der Bildung von DNS-/RNS-Bausteinen seien hier Hemmstoffen der Proteinsynthese und Inhibitoren der DNS-Funktion erwähnt (368). Da neben proliferierenden Bakterien aber stets auch ein bestimmter Anteil von Zellen Phasen einlegt, die weder von Teilung noch von Wachstum gekennzeichnet sind, eignen sich intrakanalär verwendete Antibiotika prinzipiell nicht als kurzzeitige, die instrumentelle Aufbereitung begleitende Spüllösung, sondern allenfalls als temporäre Einlage (365). Eine Ausnahme hiervon könnten die Tetracycline bilden, da bei ihnen (zumindest *in vitro*) Hinweise auf einen ausgeprägten Residualeffekt gefunden wurden (369, 370).

Am Beispiel des Clindamycins konnte die antibakterielle Wirksamkeit sowohl *in vitro* (371) als auch am Patienten nachgewiesen werden. Eine 14-tägige Einlage lieferte jedoch kein signifikant besseres Resultat als eine Kalziumhydroxid-Suspension (372). Die Wirksamkeit einer einmonatigen Einlage aus Erythromycin gemischt mit Kalziumhydroxid beschrieben Molander *et al.* (373). Auf der Grundlage ihrer klinischen Studie empfehlen sie diese Kombination insbesondere bei therapieresistenten Enterokokken-Monoinfektionen. Der routinemäßige Einsatz der Antibiotika als medikamentöse Einlage bleibt nach wie vor Kombinationspräparaten, wie der von Schroeder 1962 entwickelten Ledermix-Paste vorbehalten (374).

3.3.4.7 Kombination von Antibiotikum und Kortisonderivat

Ledermix enthält ein Tetracyclin (Dimethylchlortetracyclin resp. Demeclocyclin) und das Kortikoid Triamcinolon (Hydroxyfluorprednisolon). Laut Abbott liegt der von diesem Medikament im Wurzelkanal freigesetzte Demeclocyclin-Anteil um ein Vielfaches über dem, der nötig ist, um ein breites Spektrum der endodontischen Mikroflora abzudecken (375, 376). Durch die Zugabe von Kalziumhydroxid ließ sich die antimikrobielle Wirkung von Ledermix noch erhöhen (377). Eine einwöchige Medikation an Rinderzähnen erzielte ähnlich gute Ergebnisse wie ein 3%iges Tetracyclin oder Kampfer-Monochlorphenol (CMCP). Eine 24-stündige Einwirkzeit erwies sich dabei (mit Ausnahme des CMCP) als zu kurz (378).

Die oben beschriebenen Nachteile des Kortikosteroid-Einsatzes konnten Tepel *et al.* auch für das Kombinationspräparat histologisch aufzeigen. Eine 6-tägige Ledermix-Einlage zeigte bei Ratten ausgedehnte periapikale Infiltrate, entzündliche Resorptions- und Ankyloseareale. Im Gegensatz dazu bewirkte Ca(OH)_2 eine fast komplette Ausheilung der periapikalen Strukturen (237). Schon Guldener verwies darauf, dass die feingeweblichen Befunde und die klinischen Erfahrungen im Fall von Ledermix nicht notwendigerweise zu den gleichen Ergebnissen führten (379). Die Ledermix-Paste hat daher bei der Therapie periapikaler Läsionen (insbesondere im Rahmen der Schmerzreduktion nach der initialen Aufbereitung) aufgrund langjähriger positiver Erfahrungen nach wie vor ihre Indikation (380, 381). Es fehlen jedoch noch immer detaillierte klinische Langzeituntersuchungen (382, 383).

3.3.4.8 Iodhaltige Einlagen

Die Desinfektionseigenschaften von Iod-Kaliumiodid (IKI) sind anhand von Studien an extrahierten Zähnen von Tier und Mensch wiederholt belegt (94, 133). Interessanterweise entfalteten 2%ige IKI-Lösungen hierbei ihre Wirkung deutlich schneller als zum Beispiel 5,25%iges Natriumhypochlorit, 0,2%iges Chlorhexidingluconat (133) oder ein Ca(OH)_2 -Präparat (94).

Beim klinischen Gebrauch als temporäre Einlage zeichneten die vorliegenden Studien kein einheitliches Bild. Molander *et al.* erzielten durch eine 5%ige IKI-Einlage für die Dauer von 3-7 Tagen in 56% einen negativen mikrobiellen Befund. Dieser Anteil ließ sich durch eine anschließende, durchschnittlich dreimonatige Ca(OH)_2 -Einlage noch auf ca. 80% erhöhen (168). Dagegen unterschied sich im Rahmen einer weiteren, sehr breit

angelegten klinischen Studie eine 2%ige IKI-Einlage nicht signifikant von der Kontrollgruppe ohne Einlage. Da eine Ca(OH)_2 -Suspension unter denselben Bedingungen einen signifikanten Rückgang positiver Kulturen produzierte (384), führten die Autoren das schlechte Abschneiden des Iod-Kaliumiodids auf dessen bekannte unzureichende Wirkdauer zurück (385).

Als einer weiteren Darreichungsform wurde Ende der 90iger Jahre Guttaperchaspitzen mit einem 10%igen Iodoformanteil unter der Bezeichnung „MGP-Guttapercha“ auf dem amerikanischen Markt die Zulassung erteilt (386). Die bisherigen *In-vitro*-Untersuchungen zum Desinfektionspotenzial dieses Medikaments vermochten nicht zu überzeugen (386, 387, 388).

3.3.4.9 Einlagen auf Basis von Phenolderivaten

Zu dieser Gruppe zählen Substanzen wie Phenol, Parachlorphenol (PCP), Kampferphenol (CP), Chlorphenol-Kampfer-Menthol (ChKM), Chlorphenol-Kampfer-Thymol (ChKT), Kampfer-Monochlorphenol (CMCP), Chlorxylenol und Cresol (auch als Bestandteil von Formocresol). Seit ihrer Einführung auf endodontischem Gebiet im ausgehenden 19. Jahrhundert (389) galten einzelne Vertreter (namentlich das Kampfer-Monochlorphenol) für lange Zeit als Wurzelkanaleinlagen der ersten Wahl (390).

Das Phenol und seine Derivate wirken in unterschiedlichem Maße antimikrobiell, indem sie durch Bindung an Proteine und Lipide der Zellmembranen diese zerstören und Protoplasma-Proteine koagulieren (389). Im Falle des Kampfer-Monochlorphenol wurde eine besonders ausgeprägte Desinfektionskraft dokumentiert (248, 250, 254, 391, 392, 393, 394).

Als äußerst problematisch muss die ausgeprägte Zyto- und Genotoxizität dieser Stoffgruppe angesehen werden (393, 395, 396, 397). Selbst ein Fall von Spontanexfoliation nach medikamentöser Einlage (Formocresol) findet sich in der Literatur (403). Phenolderivate diffundieren nicht nur leicht in das umgebende Wurzelentin (392, 398, 399), sondern gelangen via *Foramen apicale* rasch ins periapikale Gewebe, so dass sie sich schon nach kurzer Zeit im Blut und Urin nachweisen lassen (400, 401, 402).

Dass sich die *in vitro* bestimmten guten Desinfektionseigenschaften dieser Stoffklasse (404, 405) nur bedingt an infizierten extrahierten Zähnen (406) und an klinischen Fällen reproduzieren ließen (250), mag zu ihrem zurückgehenden Gebrauch beigetragen haben.

Einen aus toxikologischer Sicht eher untypischen Phenolabkömmling stellt das Chlorxylenol dar. Als 10%ige Einlage an infizierten, extrahierten Zähnen erzielte es ein ebenso gutes Desinfektionsergebnis wie 2%iges CHX-Digluconat (165). Zwar reizt es in höheren Konzentrationen Augen und Haut (407), doch konnten bei intrakanalärer Medikation des chlorxylenolhaltigen Präparats ED 84 (Emulsionsdesinfizienz 84) keinerlei Gewebereizungen beobachtet werden (237).

Im direkten Vergleich mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ lieferte Kampfer-Monochlorphenol sowohl an extrahierten Zähnen (248) als auch unmittelbar am Patienten (250) die schlechteren Ergebnisse. Interessanterweise entsteht bei der Mischung beider Substanzen ein schwaches Salz (Kalziumchlorphenolat), das bei Wasserzutritt Kampfer-Monochlorphenol freisetzt und den für das $\text{Ca}(\text{OH})_2$ typischen alkalischen pH beibehält (223). Die Zytotoxizität des Kampfer-Monochlorphenols wird durch das Kalziumhydroxid offenbar dermaßen reduziert, dass verschiedene Studien diesem Ansatz Biokompatibilität bescheinigten (408, 409). Bei Dilutionstests an infizierten Rinderzähnen fanden Siqueira und de Uzeda für diese Kombination eine schnellere Desinfektionswirkung als im Fall einer $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension (106, 241). Indes steht die klinische Erprobung noch aus.

3.3.4.10 Aldehydfreisetzende Einlagen

Die wichtigsten Vertreter dieser Stoffklasse sind Formaldehyd (auch als Bestandteil von Formocresol), Paraformaldehyd und Glutaraldehyd. Ursprünglich fanden diese Stoffe Anwendung im Bereich der Wurzelkanaleingänge zur Fixation von Pulpagewebe („Mummifizierung“) anstelle der Aufbereitung und Obturation, aber auch bei der Behandlung von Papillenblutungen, Aphthen und empfindlichen Zahnhälsen. All diese Vorgehensweisen sind gemäß einer Stellungnahme der DGZMK obsolet (410).

Formaldehyd erzeugt Nekrosen bei Kontakt mit vitalem Gewebe (411, 412). Er wirkt zwar antibakteriell (399), aber auch mutagen und karzinogen (413). Dokumentiert ist darüber hinaus die leichte Resorption und systemische Streuung dieser Stoffgruppe (414, 415). Die kurzzeitige Applikation von Trikresol-Formalin-Präparaten im Zuge der Pulpotomie an Milchmolaren muss ebenso kritisch hinterfragt werden, wie der Gebrauch als Devitalisierungsmittel im Zuge der Behandlung hochdolenter Pulpitiden bei Anästhesieversagen. Die Ablehnung durch die zitierte Stellungnahme der DGZMK bezieht sich dabei auf den Einsatz von Präparaten wie Toxavit (46% Paraformaldehyd), aber auch auf medikamentöse Einlagen zur dauerhaften Wurzelkanal-desinfektion (410).

Auch die Europäische Gesellschaft für Endodontie (Konsenspapier 1994) hält wegen genannter Gründe aldehydhaltige desinfizierende Zwischeneinlagen für nicht empfehlenswert (416).

Von den genannten medikamentösen Einlagen wird dem Kalziumhydroxid nach wie vor eine Vorrangstellung eingeräumt. Sie beruht vor allem auf seinen antimikrobiellen Eigenschaften (216, 250) daneben auf seiner Wirkung gegen Endotoxine (264, 265) und seiner Fähigkeit zur Gewebsmazeration (244). Da sich jedoch einzelne Keime, wie *Enterococcus faecalis*, die regelmäßig aus therapieresistenten apikalen Läsionen isoliert wurden (60, 66), gegenüber Kalziumhydroxid als verhältnismäßig unempfindlich erwiesen haben (133, 168, 241), wird zunehmend nach Alternativen gesucht.

Chlorhexidin verfügt über ein breites antimikrobielles Wirkungsspektrum (284, 307, 308) und eine nachgewiesene Substantivität (290). Bisher wurde es in erster Linie als Spülmittel während der instrumentellen Aufbereitung gebraucht (317, 322, 332, 336), vereinzelt auch als medikamentöse Einlage (342, 343). Vor einer möglichen routinemäßigen Anwendung als desinfizierende Einlage stehen die Entwicklung eines geeigneten Applikationssystems und die Beantwortung der Frage nach der notwendigen Konzentration und Einwirkzeit.

4 Zielstellung

Ziel dieser Studie war es, das antibakterielle Potenzial vier verschiedener medikamentöser Einlagen gegenüber anzüchtbaren Vertretern des die endodontische Infektion dominierenden anaeroben Keimspektrums im Wurzelkanal zu untersuchen.

Folgende Fragestellungen sollte die vorliegende Arbeit hierbei untersuchen:

1. In welcher Zahl lassen sich fakultative und obligate Anaerobier aus extrahierten menschlichen Zahnwurzeln anzüchten, die zuvor unter Anwendung eines neu entwickelten *In-situ*-Modells direkt im Munde von Probanden inokuliert wurden?
2. Welche Desinfektionswirkung entwickelt eine einwöchige medikamentöse Einlage in Form der häufig gebrauchten Kalziumhydroxid-Suspension im Vergleich zu einem experimentellen Chlorhexidingel, wenn eine zusätzliche Form der chemo-mechanischen Aufbereitung an den infizierten Zahnwurzeln unterbleibt?
3. Verfügen neuere Darreichungsformen in Gestalt von kalziumhydroxidhaltigen oder chlorhexidinhaltigen Guttaperchaspitzen unter identischen Bedingungen über eine ausreichende Desinfektionskraft?
4. Gelingt es Anteilen der endodontischen Mikroflora die Medikamentenwirkung zu überdauern und den Wurzelkanal (innerhalb eines anschließenden einwöchigen Intervalls ohne Einlage) wiederzubesiedeln?

5 Material und Methode

5.1 Grafische Übersicht

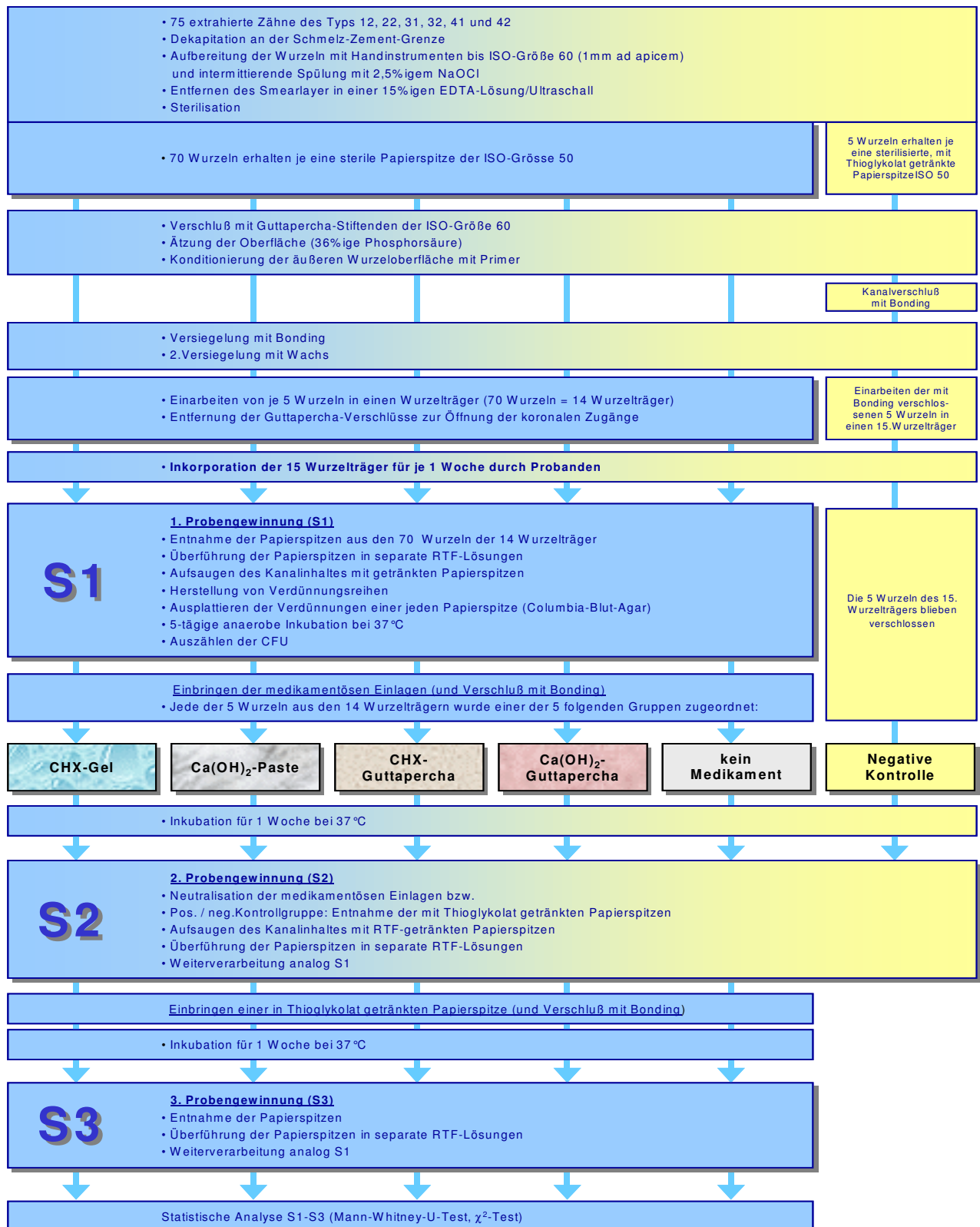


Abbildung 2: Übersichtsschema des Versuchsablaufes.

Im Vorfeld des experimentellen Teils der Untersuchung wurde der Antrag auf Genehmigung durch die Ethikkommission der Charité, Humboldt-Universität zu Berlin bewilligt. Die Probanden unterzeichneten eine Einverständniserklärung, nachdem sie ein Informationsblatt zur Studie erhalten hatten.

5.2 Herstellung der Wurzelträger

5.2.1 Auswahl und Vorbehandlung der Zahnwurzeln

Für die Studie wurden extrahierte einwurzlige menschliche Zähne, die für unterschiedliche Zeitintervalle in 20%igem Ethanol^{25*)1} gelagert worden waren, im Bereich der Schmelz-Zement-Grenze mit einem diamantierten Schleifkörper¹ zertrennt und die Kronen verworfen. Hierbei handelte es sich nur um die Wurzeln von Schneidezähnen des Typs 12, 22, 32, 31, 41 und 42, die weder hinsichtlich der Form noch der Größe Anomalien aufwiesen. Darüber hinaus durften sie über nur einen Kanal verfügen und ihr Querschnitt musste einen runden bis ovalen Kanaleingang erkennen lassen. Von der Trennstelle her wurden alle Wurzeln auf eine Länge von 11 mm zurechtgeschliffen. Die anhaftenden Reste parodontalen Gewebes wurden mittels Scaler² gründlich entfernt (Abb. 3 a). Von den so gewonnen Wurzeln wurden 80 für die weitere Untersuchung nach den genannten Kriterien ausgewählt.

Die Wurzelkanäle wurden mit Handinstrumenten³ und intermittierender Spülung mit 2,5%igem NaOCl⁹ bis zu einer Masterfeile der ISO-Größe 60 1mm *ad apicem* aufbereitet. Anschließend wurden die Wurzeln für 30 Sekunden in einem Ultraschallbad³⁶ einer 15%igen EDTA-Lösung⁴ ausgesetzt, um einerseits den beim Instrumentieren entstandenen Smearlayer zu entfernen und andererseits während der später beabsichtigten mikrobiellen Inokulation im Munde von Probanden die Penetration der Mikroorganismen in die Kanalwände zu erleichtern. Nach der Sterilisation wurde bei 70 der 80 Wurzeln im Folgenden der Wurzelkanal mit einer sterilen Papierspitze⁵ der ISO-Größe 50 bestückt (Abb. 3 b).

Von den verbleibenden 10 Wurzeln dienten 5 als negative Kontrollgruppe (Abb. 2). Sie erhielten je eine sterile, in Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitze, da sich die weiter unten beschriebene mikrobiologische Analyse allein auf die Anaerobier konzentrierte. (Thioglykolat schafft anaeroben Mikroorganismen adäquate Lebensbedingungen durch sein

*)¹ Die hochgestellten Zahlen verweisen auf die Materialliste (Abschnitt 13).

sehr effektives Reduktionsvermögen gegenüber Sauerstoff (417).) Die restlichen fünf leeren Wurzeln fanden Verwendung bei der Herstellung eines Prototyps, der nachfolgend erwähnten Wurzelträger.

Im Anschluß erfolgte eine äußerliche Versiegelung der Wurzeln mit einem Bonding-Komposit⁷ nach vorheriger Ätzung und Oberflächenkonditionierung mittels Primer (Abb. 3 c). Um hierbei ein Eindringen der genannten Substanzen und einen Verschuß der Kanaleingänge zu verhindern, wurden jeweils 5 mm lange, konische Guttaperchastifte⁸ *quasi* als Stöpsel in die koronalen Zugänge gesteckt. Hierzu dienten die dickeren Enden von Guttaperchaspitzen der ISO-Größe 60. Darüberhinaus ermöglichten die überstehenden Verschlüsse ein bequemes Fassen und Manipulieren der so präparierten Wurzeln mit der Pinzette (Abb. 3 b, c).

Allein die fünf Wurzeln der negativen Kontrollgruppe erhielten keinen derartigen Guttaperchaverschuß. Ihre Kanaleingänge wurden direkt mit dem Bonding-Komposit abgedichtet, da sie in verschlossenem Zustand für die Dauer einer Woche inkorporiert werden sollten (Abb. 4 a).

5.2.2 Prototyp eines Wurzelträgers

Die vorab erwähnten fünf leeren Zahnwurzeln wurden gemeinsam in einen Prototyp einer eigens konzipierten prothesenähnlichen Vorrichtung eingearbeitet, die im Weiteren als Wurzelträger bezeichnet wird (Abb. 3 d) Dazu wurden zuerst der Ober- und Unterkiefer von den Probanden mit Alginat³³ abgeformt und entsprechende Gipsmodelle³⁴ erstellt. Auf den Oberkiefermodellen wurden anschließend im Seitenzahnbereich je 2 Knopfanker¹¹ in der Art gebogen, daß ihrer tropfenförmigen Enden nach palatinal ausgerichtet waren. Bevor die fünf Wurzeln durch in Streutechnik aufgetragenes Kaltpolymerisat¹² in die Haltevorrichtungen eingearbeitet wurden, erhielten sie einen dünnen Überzug aus Wachs¹⁰, um einen Verbund zum Polymethylacrylat zu verhindern. Dadurch war es zu einem späteren Zeitpunkt des Versuches möglich, die Wurzeln zügig und unbeschadet aus den Wurzelträgern herauszulösen. Beim Streuen des Kunststoffes wurden die Wurzeln so ausgerichtet, dass die Kanaleingänge oberhalb der Okklusionsebene zu liegen kamen, da sie das Kaugeschehen der Probanden nicht beeinträchtigen sollten (Abb. 4). Unter Berücksichtigung des vestibulären Platzangebotes wurde versucht, die Wurzelträger möglichst grazil zu arbeiten, um die ästhetische, phonetische und mastikatorische Beeinträchtigung der Probanden gering zu halten. An den fünf ein-

gearbeiteten Wurzeln wurden die überstehenden Enden der Guttaperchaverschlüsse mit einem Skalpell³⁵ abgetrennt und der Wurzelträger nach gründlicher Politur für mindestens 24 Stunden in Wasser aufbewahrt. Mit dem probeweisen Einsetzen in den Mund für einen Tag endete die Voruntersuchung an dem beschriebenen Prototyp.

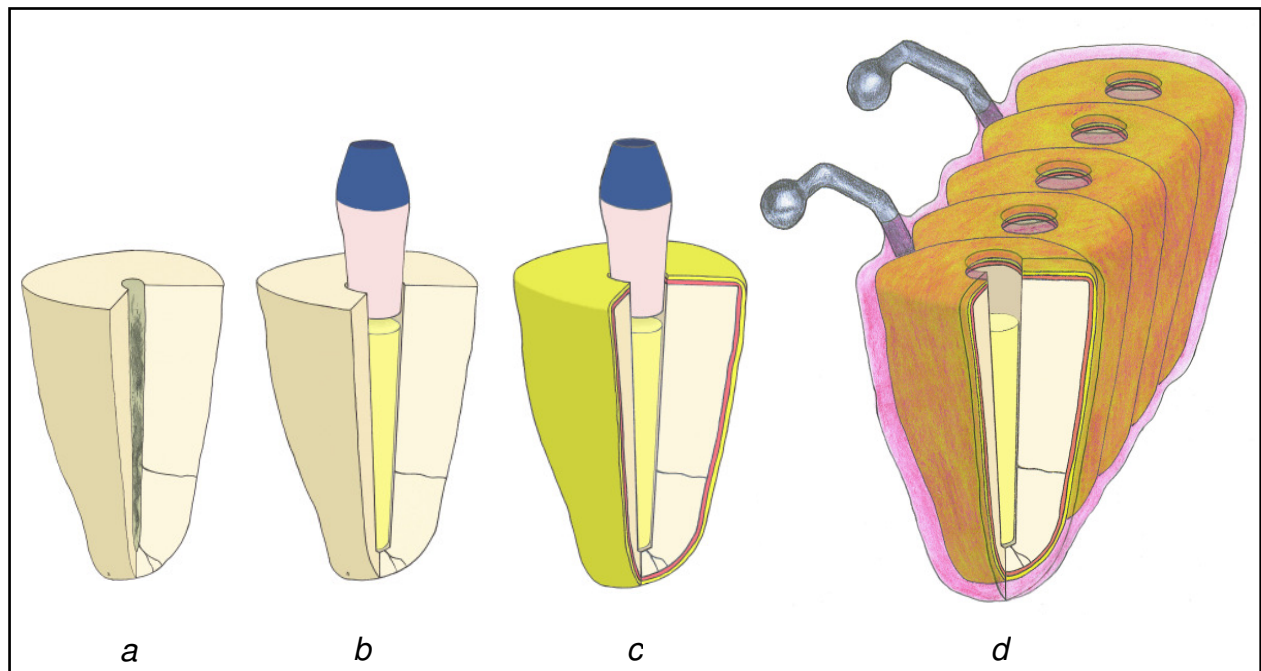


Abbildung 3 a-d:

Verschiedene Herstellungsstadien eines (angeschnittenen) Wurzelträgers: 3 a: Dekapitierter unterer Schneidezahn mit Pulparesten vor der Aufbereitung. 3 b: Aufbereitete Wurzel mit steriler Papierspitze und Guttaperchastöpsel. 3 c: Wurzel aus Abb. 3 b nach zirkulärer Versiegelung mit Bonding und Wachs. 3 d: Fertiger Wurzelträger bereit zur Inkorporation.

5.2.3 Wurzelträger für den Probandeneinsatz

Nach dem erläuterten Vorbild wurden 15 weitere Wurzelträger erstellt. An 14 von ihnen wurden wie oben beschrieben die überstehenden Enden der Guttaperchaverschlüsse mit einem Skalpell³⁵ abgetrennt und zum Zeitpunkt der Eingliederung in die Mundhöhle die verbliebenen Verschlüsse behutsam mit einer Hedström-Feile³ (ISO 30) entfernt und somit den Mikroorganismen ein direkter Zugang ermöglicht (Abb. 4 b). An den Wurzeln des 15. Wurzelträgers (negative Kontrollgruppe) dagegen entfiel dieser Arbeitsschritt, da ihre Kanäleingänge mit Bonding⁷ verschlossen worden waren (Abb. 2, 4 a). Von den nach dieser Verfahrensweise hergestellten Wurzelträgern wurde ein jeder für die Dauer einer Woche von einem Probanden inkorporiert. Die Probanden waren in-

struiert, die Wurzelträger Tag und Nacht zu tragen, allein während der häuslichen Mundhygienemaßnahmen durften sie herausgenommen und in handwarmem Wasser gelagert werden.

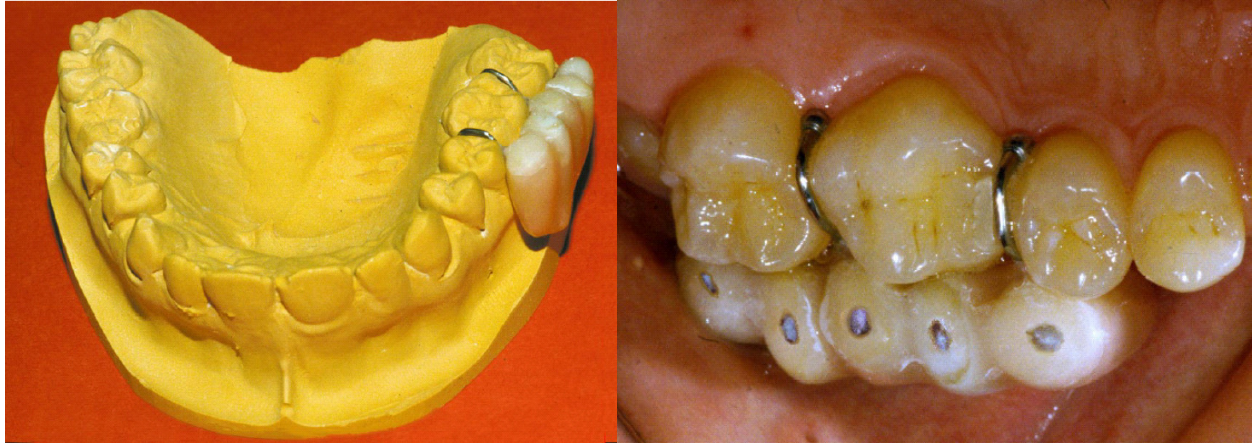


Abb. 4 a

Abb. 4 b

Abbildung 4 a und b:

4 a: Wurzelträger der negativen Kontrollgruppe mit verschlossenen Kanalorifizien vor der Inkorporation. 4 b: Wurzelträger der Testgruppen im Munde eines Probanden.

5.3 Vorbemerkung zur mikrobiologischen Methodik

Anaerobier stellen bis zu 90% der Mikroflora eines primär-infizierten Wurzelkanals (11, 46, 49). Daher wurden die mikrobiologische Arbeiten allein auf dieses Erregerspektrum fokussiert. Ihre außerordentlichen Empfindlichkeit erforderte besondere Vorkehrungen (418), so dass alle im weiteren erwähnten Hilfsmittel (getränkte Papierspitzen, Transportflüssigkeiten, Agarplatten), die in direkten Kontakt mit diesen Mikroben gerieten, vor ihrem Gebrauch für 24 h bei 37 °C in Anaerobiertöpfen¹⁸ unter Zugabe von Anaerogen¹⁹ vorreduziert wurden.

5.4 Probe 1 (= Ausgangssample, = Sample 1, = S1) und mikrobiologische Analyse

Nach Ablauf der einwöchigen Tragezeit im Munde wurde die Papierspitze aus dem jeweiligen Wurzelkanal entnommen und sofort in ein eigenes Behältnis mit Schraubver-

schluß¹³ mit 1ml Reduced Transfer Medium (RTF) und 25%iger Glucose¹⁴ überführt. Der reduzierende Bestandteil des RTF - das Dithiothreitol - besitzt ein geringes Redoxpotenzial und wird von der Luft nur minimal oxidiert. Dieses Medium hält Mikroorganismen am Leben, ohne dass sie sich nennenswert vermehren (419).

Bei den fünf Wurzeln der negativen Kontrollgruppe mußte zudem vorab der Bondingverschluß mit einem sterilen Skalpell entfernt werden, da diese Wurzeln in verschlossenem Zustand getragen worden waren.

Zum Entnehmen der Papierspitze diente eine Exstirpationsnadel¹⁵. Sie wurde vorsichtig in den Kanal eingeführt, bis sich ihr Arbeitsende fühlbar in der Papierspitze verankert hatte und diese (samt eventueller Nahrungsreste aus dem Bereich des Kanaleingangs) herausgezogen und sofort in die Öffnung, des erst zu diesem Zeitpunkt geöffneten Röhrchens, gehalten. Mit einem Seitenschneider²⁶ wurde der Schaft der Exstirpationsnadel oberhalb des Arbeitsbereiches durchtrennt, so dass dieses Ende einschließlich der anhängenden Papierspitze in das RTF fiel.

Anschließend wurden in den jeweiligen Kanal nacheinander drei mit RTF getränkte Papierspitzen für je 10 Sekunden eingebracht, um möglichst viele der noch vorhandenen Bakterien in RTF zu überführen. Diese drei Papierspitzen wurden umgehend in demselben, bereits oben genannten Röhrchen mit Schraubverschluß, gesammelt, was daraufhin sofort verschlossen wurde. Von der so gewonnenen Probe wurde im Anschluß, spätestens aber nach vier Stunden, eine Zehnfach-Verdünnungsreihe hergestellt. Dazu wurde die Probe zuvor für zehn Sekunden mit einem Vortex-Schüttler¹⁶ vorbehandelt, um die Papierspitzen zu desintegrieren. Die erzielten Verdünnungen wurden anschließend zu je 100 µl auf Columbia-Blut-Agar-Platten¹⁷ ausgestrichen (Abb. 5). Die Bebrütung erfolgte bei 37°C in Anaerobiertöpfen¹⁸ unter Zugabe von Anaerogen¹⁹. Dieser Gasentwickler absorbiert mittels Ascorbinsäure den atmosphärischen Sauerstoff innerhalb von 30 min (ohne Freisetzung von Wasserstoff) bei einem resultierenden Kohlendioxidgehalt von 9-13%.¹⁹

Nach fünf Tagen wurden die Koloniebildenden Einheiten (KBE) ausgezählt und tabellarisch erfaßt.

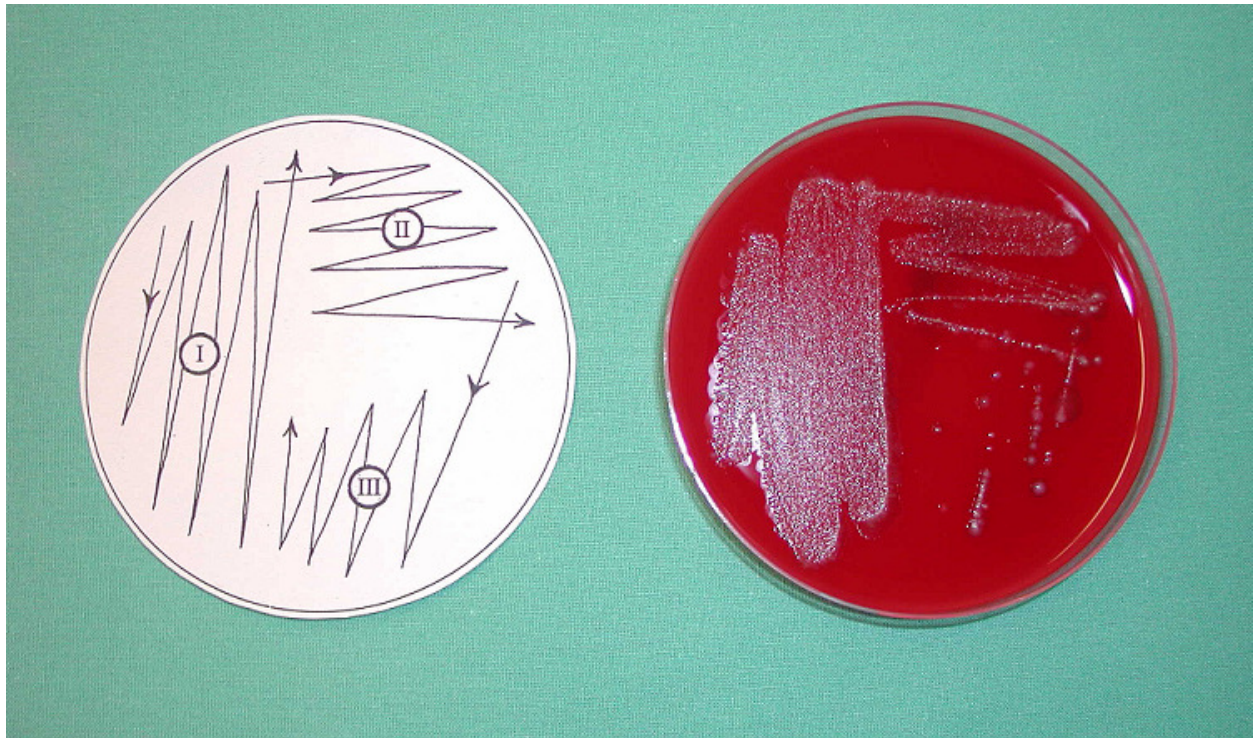


Abbildung 5:

Fraktioniertes Beimpfen. Links: Impfstichführung. Rechts: Ausplattierter Columbia-Blut-Agar nach fünftägiger anaerober Bebrütung.

5.5 Medikationsphase

Nach Entnahme der Papierspitze wurde die jeweilige Wurzel vorsichtig aus dem Wurzelträger herausgelöst. Dazu wurden störende Kunststoffanteile mit einem Skalpell³⁵ abgetragen und eine passende Hedströmfeile³ soweit in die Wurzel einrotiert, bis sie zu klemmen begann. Auf diese Weise mit einem Griff versehen und Dank der isolierenden Wachsschicht konnte die Wurzel verhältnismäßig bequem aus dem Wurzelträger gezogen werden. Auch das folgende Herausdrehen der Hedströmfeile wurde äußerst behutsam vollführt, um den Substanzabtrag von der Kanalwand so gering wie möglich zu halten. Von 14 der hergestellten 15 Wurzelträger wurden die Wurzeln für den weiteren Verlauf in fünf Gruppen eingeteilt. Die fünf Wurzeln des verbleibenden 15. Wurzelträgers bildeten eine sechste Gruppe - die negative Kontrollgruppe. Die Wurzeln dieser Gruppe wurden im Unterschied zu allen anderen untersuchten Wurzeln in geschlossenem Zustand getragen und enthielten mit Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitzen. Sie dienten der Prüfung, ob unter sterilen Kautelen gearbeitet worden war.

Jede Wurzel eines Wurzelträgers erhielt eine spezielle Einlage und wurde umgehend mit Bonding⁷ verschlossen (Abb. 6).

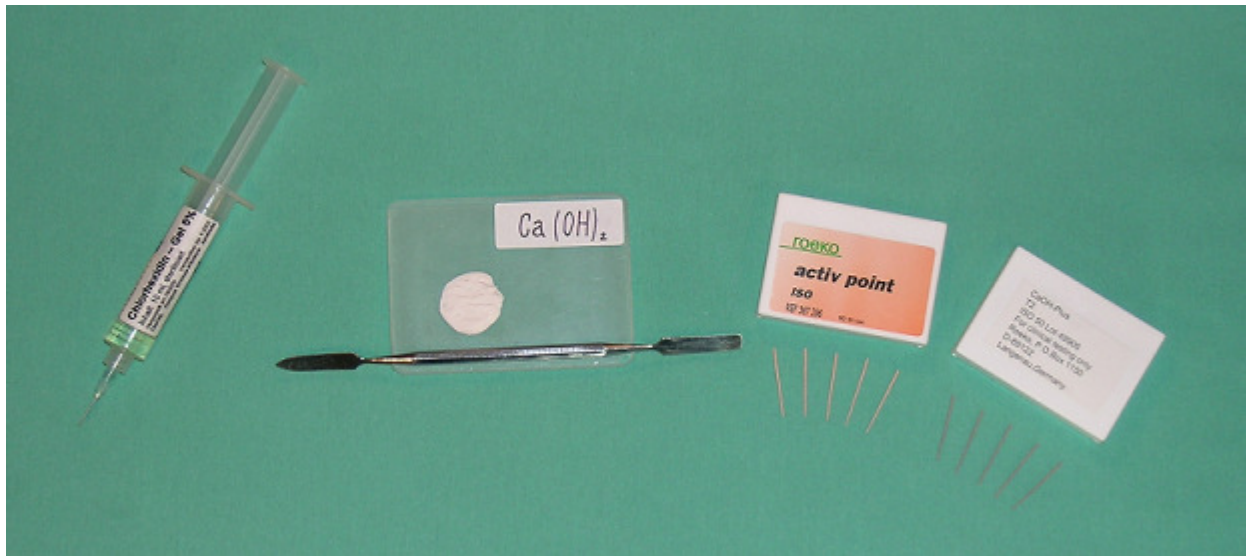


Abbildung 6:

Die Präparate der Testgruppen. v.l.n.r.: 5%iges Chlorhexidindringel, frisch angemischtes Kalziumhydroxid, chlorhexidinhaltige Guttaperchaspitzen (active points), kalziumhydroxidhaltige Guttaperchaspitzen ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Plus).

Die **1. Gruppe** („CHX-Gel“, $n=14$) erhielt eine medikamentöse Einlage aus einem experimentellen 5%igen Chlorhexidin-Gel²⁰ (Abb. 6). Zum Einbringen in den Wurzelkanal wurde eine stumpfe Kanüle²⁷ nach apikal geschoben und unter langsamem Zurückziehen das Gel abgegeben, bis am Kanaleingang ein leichter Materialrückstau zu erkennen war. Dieser Überschuss wurde vor dem Aufbringen des Bondings mit einem sterilen Wattepellet²⁸ abgetupft.

Die **2. Gruppe** („CH-Suspension“, $n=14$) erhielt eine medikamentöse Füllung aus Kalziumhydroxid²¹, frisch angemischt mit physiologischer Kochsalzlösung²⁹ (Abb. 6). Das Einbringen erfolgte mit Hilfe eines Lentulos²² passender Größe. Auch hier wurde vor dem Verschluss der Überschuss mit einem sterilen Wattepellet²⁸ abgetupft, so dass die pastöse Füllung genau mit dem Querschnitt des Kanaleingangs abschloss.

Die **3. Gruppe** („CHX-GPS“, $n=14$) wurde mit einer medikamentösen Einlage in Form einer Guttaperchaspitze mit 5%igem Gehalt an CHX-Diacetat²³ und einem Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung²⁹ beschickt (Abb. 6). Eine solche Spitze der ISO-Größe 50 wurde vom dünnen Ende her um 3 mm gekürzt und nach dem Einsetzen der Überstand zurückgeschnitten. Zuletzt wurden auch diese Wurzeln mit Bonding⁷ verschlossen.

Die **4. Gruppe** („**CH-GPS**“, n=14) erhielt eine kalziumhydroxidhaltige Guttaperchaspitze²⁴ und einen Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung²⁹ (Abb. 6). Der Ca(OH)_2 -Gehalt dieser Spitzen lag bei ca. 58%. Der Ablauf beim Einbringen entsprach dem der dritten Gruppe.

Die **5. Gruppe** (n=14) diente als **positive Kontrollgruppe**. Dazu wurde je eine sterile, mit Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitze eingebracht und die Wurzel anschließend mit Bonding⁷ verschlossen.

Die **6. Gruppe** (n=5) fungierte als **negative Kontrollgruppe**. Wie bereits oben erwähnt waren diese fünf Wurzeln, beschickt mit einer sterilen, mit Thioglykolat⁶ getränkten Papierspitze im Unterschied zu den fünf anderen Gruppen in verschlossenem Zustand für eine Woche getragen worden. Anstelle der medikamentösen Einlagen der Gruppen 1-4 erhielten diese Wurzeln wie bereits die fünfte Gruppe in Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitzen.

Anschließend wurden alle Wurzeln mit einem Mulltupfer³⁷ und 70%igem Ethanol²⁵ abgewischt und in einem Probenröhrchen mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung²⁹ für eine Woche bei 37 °C anaerob inkubiert.

5.6 Probe 2 (= Medikamenten-Sample, = Sample 2, = S2) und mikrobiologische Analyse

Nach der einwöchigen anaeroben Bebrütung wurden die Wurzeln wieder geöffnet und nach demselben Verfahren wie bei der ersten Probe auf bakterielle Besiedlung hin untersucht. Bei den Gruppen 1-4 musste zu diesem Zweck die medikamentöse Einlage neutralisiert werden.

1. Gruppe „CHX-Gel“

Der Bonding-Verschluß des Kanaleingangs wurde mit einem sterilen Skalpell³⁵ entfernt. Eine sterile Papierspitze⁵, getränkt mit CHX-Inaktivierungslösung³⁰ und anaerob vorbebrütet, wurde für 20 Sekunden in den Kanal eingebracht und danach umgehend in ein Röhrchen Transfer-Medium¹⁴ überführt. Das in der Inaktivierungsflüssigkeit enthaltene Phosphatidylcholin inaktiviert CHX, ohne die untersuchten Mikroorganismen nachteilig zu beeinflussen (420). Dieser Vorgang wurde mit zwei ebenso vorbereiteten Papierspitzen wiederholt. Danach wurden in gleicher Weise nacheinander drei mit Transfer-

Medium¹⁴ getränkte Papierspitzen für die Dauer von je 10 Sekunden in den Kanal eingeführt und anschließend gemeinsam mit den zuerst gewonnenen drei Papierspitzen in demselben RTF-Röhrchen gesammelt.

2. Gruppe „CH-Suspension“

Die Wurzeln dieser Gruppe wurden auf die gleiche Art behandelt wie die der ersten Gruppe, allein zur Inaktivierung des Kalziumhydroxids kam eine 0,5%ige Zitronensäurelösung³¹ zur Anwendung (65) .

3. Gruppe „CHX-GPS“

Zur Entnahme der Guttapercha-Spitze wurde eine Hedströmfeile der ISO-Größe 25 vorsichtig in den eröffneten Wurzelkanal einrotiert, bis sie sich in der Spitze verankert hatte. Auf einer sterilen Glasplatte³² wurde ein Tropfen CHX-Inaktivierungslösung³⁰ bereitet. Das Arbeitsende der Exstirpationsnadel¹⁵ einschließlich der anhaftenden Guttaperchaspitze wurde mit einem Seitenschneider so abgetrennt, daß es in den genannten Tropfen Inaktivierungslösung fiel. Anschließend wurden nach dem gleichen Prozedere wie bereits in Gruppe 1 nacheinander drei sterile, mit CHX-Inaktivierungslösung³⁰ getränkte Papierspitzen und drei weitere sterile, mit RTF getränkte Papierspitzen in den entsprechenden Kanal eingebracht und in Transfer-Medium (RTF)¹⁴ überführt. Die entfernte CHX-Guttaperchaspitze, die solange in der Inaktivierungslösung gelegen hatte, wurde nun in das RTF-Probenröhrchen gegeben.

4. Gruppe „CH-GPS“

Analog zur dritten, ebenfalls spezielle Guttaperchaspitzen enthaltenden Gruppe „CHX-GPS“ wurden diese Wurzeln behandelt. Jedoch kam wie bereits in der Gruppe 2 („CH-Suspension“) die Zitronensäure-Inaktivierungslösung³¹ zum Einsatz.

5. Gruppe „positive Kontrolle“

Nach dem Entfernen des Verschlusses wurde die für eine Woche bebrütete, mit Thio glykolat⁶ getränkte Papierspitze mit einer Exstirpationsnadel¹⁵ entnommen. Das Arbeitsende der Exstirpationsnadel einschließlich der anhaftenden Spitze wurde umgehend abgetrennt und in ein RTF-Probenröhrchen überführt. Da sich in der Wurzel im Unterschied zu den Gruppen 1-4 keine desinfizierende Einlage befand, und somit eine Inaktivierung entfiel, konnten sofort drei sterile, mit RTF getränkte Papierspitzen nacheinander für jeweils 20 Sekunden eingebracht werden. Diese Papierspitzen wurden anschließend in das bereits genannte Probenröhrchen überführt.

6. Gruppe „negative Kontrolle“

Analog der Vorgehensweise der Gruppe 5 wurde auch hier die mit Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitze eingesammelt und sofort in ein RTF-Probenröhrchen überführt. Ebenso wurden drei sterile, mit RTF getränkte Papierspitzen für jeweils 20 Sekunden eingelegt und umgehend in dem Probenröhrchen gesammelt. Hiermit endete die experimentelle Untersuchung der fünf Wurzeln der negativen Kontrollgruppe.

5.7 Nachuntersuchung ohne Medikation

Anschließend wurde in alle Wurzeln der Gruppen 1-5 eine sterile, mit Thioglykolat⁶ getränkte Papierspitze eingelegt. Ihrer Länge nach war sie so vorbereitet, daß es bei vollständiger Insertion zu keinem Überstand kam. Der Wurzelkanal wurde mit Bonding⁷ verschlossen. Zuletzt wurden alle Wurzeln mit einem Mulltupfer³⁷ und 70%igem Ethanol²⁵ abgewischt und in einem Probenröhrchen mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung²⁹ für eine Woche bei 37 °C anaerob inkubiert.

5.8 Probe 3 (= Regrowth-Sample, = Sample 3, = S3) und mikrobiologische Analyse

Nach der einwöchigen Bebrütung wurden alle Wurzeln der Gruppen 1-5 vorsichtig geöffnet und die Papierspitzen nach dem bereits beschriebenen Verfahren einzeln in RTF-Probenröhrchen überführt. Anschließend wurden in den jeweiligen Kanal nacheinander drei mit RTF getränkte Papierspitzen für je 10 Sekunden eingebracht (wie bereits bei Sample 1 und 2 geschehen), um möglichst viele der noch vorhandenen Bakterien in RTF zu überführen. Diese drei Papierspitzen wurden umgehend in das entsprechende Röhrchen gegeben. Die gesammelten Proben wurden nun nach dem gleichen Ablauf wie bereits bei Sample 1 und 2 mikrobiologisch untersucht.

5.9 Kautelen der Arbeitsabläufe

Während der einzelnen Arbeitsschritte wurde penibel auf die Einhaltung steriler Kautelen geachtet. Bereits das Einbringen der Papierspitzen in die sterilisierten Wurzeln erfolgte mit sterilem Instrumentarium. Die Portionierung der verwendeten Flüssigkeiten zur Vorbebrütung, die Herstellung der Verdünnungsreihen und das Ausplattieren geschahen

6 Ergebnisse

6.1 Inkorporationsphase

Alle 15 Wurzelträger wurden über den anvisierten Zeitraum erfolgreich getragen. In Einzelfällen wurden kleinere Korrekturen, wie das Aktivieren der Knopfanker oder die Beseitigung von Druckstellen notwendig. Während kaum von phonetischen Beeinträchtigungen berichtet wurde, ereigneten sich bisweilen Zwischenfälle bei den Mahlzeiten. Beim Essen lösten sich die Wurzelträger gelegentlich und gelangten im folgenden Kauzyklus unbemerkt zwischen die Zahnreihen, was mitunter recht unangenehm imponierte. In einem solchen Fall beendeten die Probanden die Mahlzeit ohne eingesetzten Wurzelträger, der solange in handwarmem Wasser aufbewahrt wurde.

Am Ende der Tragedauer gelang es, alle präparierten 75 Zahnwurzeln unbeschadet aus den Wurzelträgern herauszulösen.

6.2 Mikrobiologische Untersuchung

In den Ausgangsproben (S1) aller inokulierter Zahnwurzeln (n=70) fanden sich nach der einwöchigen intraoralen Tragzeit anzüchtbare koloniebildende Einheiten (KBE) in einer Anzahl von $1,18 \times 10^6$ – $1,13 \times 10^8$ (Abschnitt 11).

Zwischen den S1-Proben der Medikamentengruppen (n=56) und der positiven Kontrollgruppe (n=14) konnten hinsichtlich der KBE-Zahl keinerlei signifikante Unterschiede festgestellt werden.

Alle untersuchten S1- und S2-Proben der negativen Kontrollgruppe (n=5) lieferten einen negativen mikrobiologischen Befund (Abschnitt 11).

Bei der Nachuntersuchung der zurückbehaltenen Reste der verwendeten Flüssigkeiten (RTF, Zitronensäure-Inaktivierungslösung, CHX-Inaktivierungslösung, Thioglykolat, physiologische Kochsalzlösung) gelang in keinem Fall der Nachweis von Mikroorganismen.

Vergleich der ausgezählten KBE nach einwöchiger Medikation (S2)

In allen vier Testgruppen (n=56) nahm die Bakterienanzahl während der einwöchigen medikamentösen Einlagen (S2) im Vergleich zur positiven Kontrollgruppe (n=14) signifi-

kant ab. Der Median der KBE-Zahl für die S2-Proben der untersuchten Gruppen ist Abbildung 8 zu entnehmen. Die Gruppen „CHX-Gel“ und „CH-Suspension“ erzielten eine nicht signifikant voneinander abweichende Bakterienreduktion, die signifikant stärker ausfiel als bei den Guttapercha-Gruppen. Die Guttaperchagruppen „CHX-GPS“ und „CH-GPS“ unterschieden sich nicht signifikant.

Vergleich der ausgezählten KBE nach einer weiteren Woche ohne Medikation (S3)

Nach der einwöchigen Inkubationsperiode ohne medikamentöse Einlage fanden sich in den Gruppen „CHX-Gel“ und „CH-Suspension“ weniger anzüchtbare Bakterien als in den drei verbleibenden Untersuchungsgruppen. Der Median der KBE-Zahl für die S3-Proben der untersuchten Gruppen ist Abbildung 8 zu entnehmen. Gegenüber den Gruppen „CH-CPS“ und „positive Kontrolle“ war der registrierte Unterschied signifikant ($p < 0,05$), nicht jedoch gegenüber der Gruppe „CHX-GPS“. Die Guttaperchagruppen „CHX-GPS“ und „CH-GPS“ unterschieden sich hier (im Gegensatz zu den S2-Proben) nicht signifikant von der positiven Kontrollgruppe.

Vergleich der Anzahl von Proben mit Bakteriennachweis nach einwöchiger Medikation (S2)

Wie aus Abbildung 9 zu ersehen, erzielte die Gruppe „CH-Suspension“ ($n=14$) den geringsten Anteil von Wurzelkanälen mit positivem bakteriologischem Befund in der S2-Probe: Nur noch aus 2 der 14 Proben (14%) konnten Bakterien angezüchtet werden. Ihr folgte die Gruppe „CHX-Gel“ ($n=14$) mit 4 positiv getesteten Kanälen (29%). Während die Gruppe „CHX-GPS“ ($n=14$) noch in 11 Fällen (79%) Bakterien aufwies, fanden sich in allen Proben der Gruppe „CH-GPS“ ($n=14$) wie auch der positiven Kontrolle ($n=14$) Bakterien. Der Unterschied der Gruppen „CH-Suspension“ und „CHX-Gel“ gegenüber den übrigen Gruppen war signifikant. Beim direkten Vergleich differierten beide Gruppen („CH-Suspension“, „CHX-Gel“) nicht signifikant voneinander, ebenso wenig wie die Gruppen „CHX-GPS“, „CH-GPS“ und die positive Kontrolle untereinander.

Vergleich der Anzahl von Proben mit Bakteriennachweis nach einer weiteren Woche ohne Medikation (S3)

Das Ergebnis der abschließenden einwöchigen Inkubationsperiode (S3) mit Thioglykolat-Einlage, d.h. ohne medikamentöse Einlage ist in Abbildung 10 dargestellt. Die KBE-

Zahlen der Proben sind Abschnitt 12 zu entnehmen. Im Einzelnen zeichnete sich folgendes Bild:

In der Gruppe „CHX-Gel“ (n=14) ließen sich aus fünf Proben Bakterien anzüchten (36%). Vier dieser Kanäle wiesen bereits in der vorangegangenen S2-Probe einen positiven bakteriologischen Befund auf - zwei davon mit einer geringeren Bakterienanzahl. Der fünfte Kanal hatte in der S2-Probe einen negativen bakteriologischen Befund erbracht.

Die Gruppe „CH-Suspension“ (n=14) zeigte ebenfalls in fünf Fällen einen positiven Befund (36%). Zwei dieser Kanäle hatten auch in der S2-Probe Bakterien geliefert, jedoch in geringerer Anzahl. Aus den S2-Proben der drei verbleibenden Kanäle waren dagegen keine Bakterien angezüchtet worden.

In der Gruppe „CHX-GPS“ (n=14) fanden sich 11 Proben mit positivem Befund (79%). Von diesen Wurzeln waren zehn bereits in den zugehörigen S2-Proben positiv getestet worden.

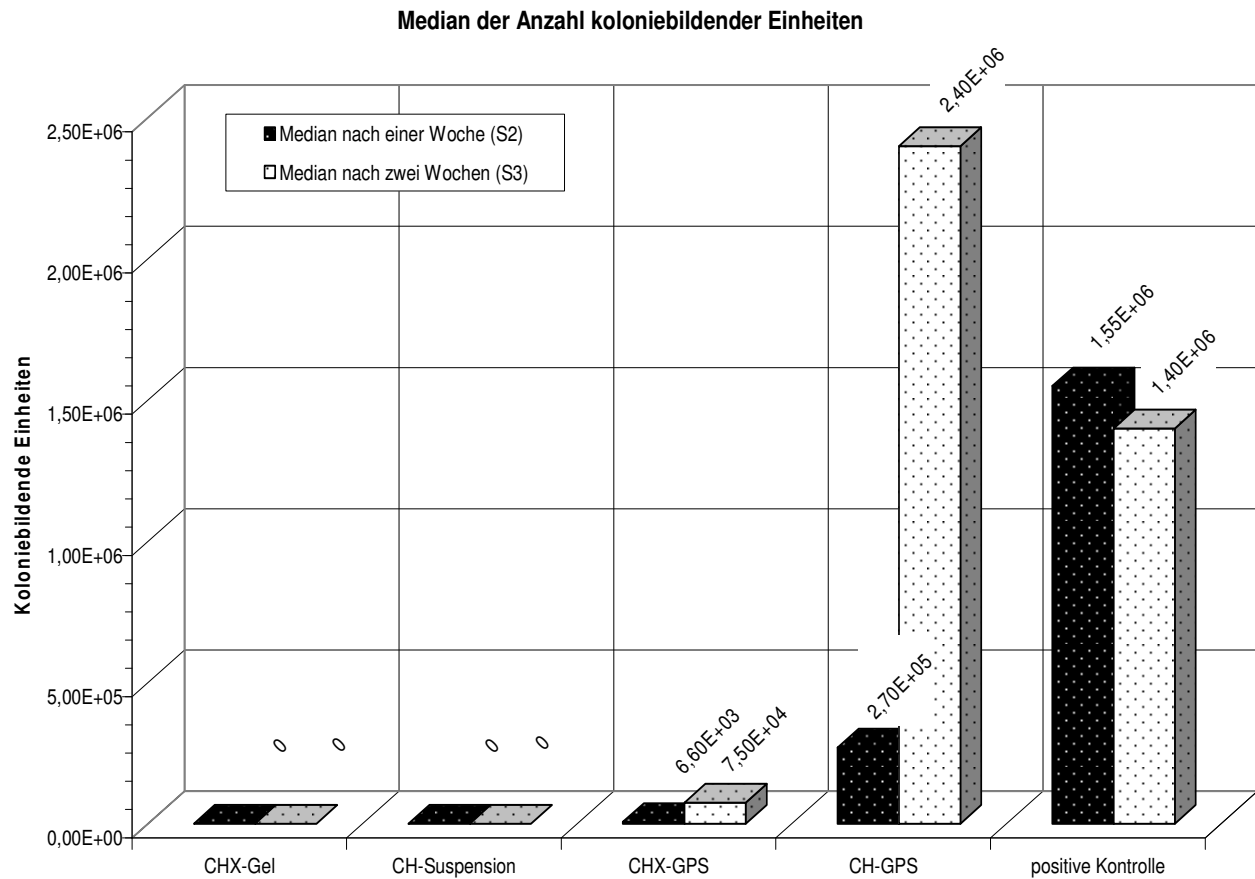
In allen Wurzeln der Gruppe „CH-GPS“ (n=14) ließen sich in der S3-Probe Bakterien nachweisen. 13 Kanäle davon enthielten mehr Bakterien als in der korrespondierenden S2-Probe.

Ein Rückfall, d.h. ein Wiederauftreten von anzüchtbaren Bakterien in den S3-Proben von Wurzeln, die nach dem Medikamenteneinsatz (S2) bereits einen negativen bakteriologischen Befund geliefert hatten, fand sich somit dreimal in der Gruppe „CH-Suspension“ und jeweils einmal in den Gruppen „CHX-Gel“ und „CHX-GP“.

Eine Zunahme der KBE-Zahl in den S3-Proben von Wurzeln die nach dem Medikamenteneinsatz (S2) Bakterien aufgewiesen hatten, fand sich je zweimal in den Gruppen „CHX-Gel“ und „CH-Suspension“, zehnmal in der Gruppe „CHX-GPS“ und bis auf einen Fall in allen Proben der Gruppe „CH-GPS“.

Sowohl bei den S2- als auch den S3-Proben der mit Chlorhexidin-Gel oder Kalziumhydroxid-Suspension behandelten Wurzeln wurden signifikant mehr Fälle mit negativem bakteriologischen Befund verzeichnet, als bei den übrigen drei Gruppen.

Beide Guttapercha-Gruppen dagegen unterschieden sich in ihren S2-/S3-Proben nicht signifikant von der positiven Kontrollgruppe.



Es unterschieden sich alle Gruppen signifikant ($p < 0,05$) außer:

S2:	CHX-Gel vs. CH-Suspension	→ n. s.	S3:	CHX-Gel vs. CH-Suspension	→ n. s.
	CHX-GPS vs. CH-GPS	→ n. s.		CHX-GPS vs. CH-Suspension	→ n. s.
				CHX-GPS vs. positive Kontrolle	→ n. s.
				CH-GPS vs. positive Kontrolle	→ n. s.

(n. s. = nicht signifikant)

Abbildung 8:
Grafische Darstellung des Medians der Anzahl koloniebildender Einheiten pro Gruppe nach einer und zwei Wochen

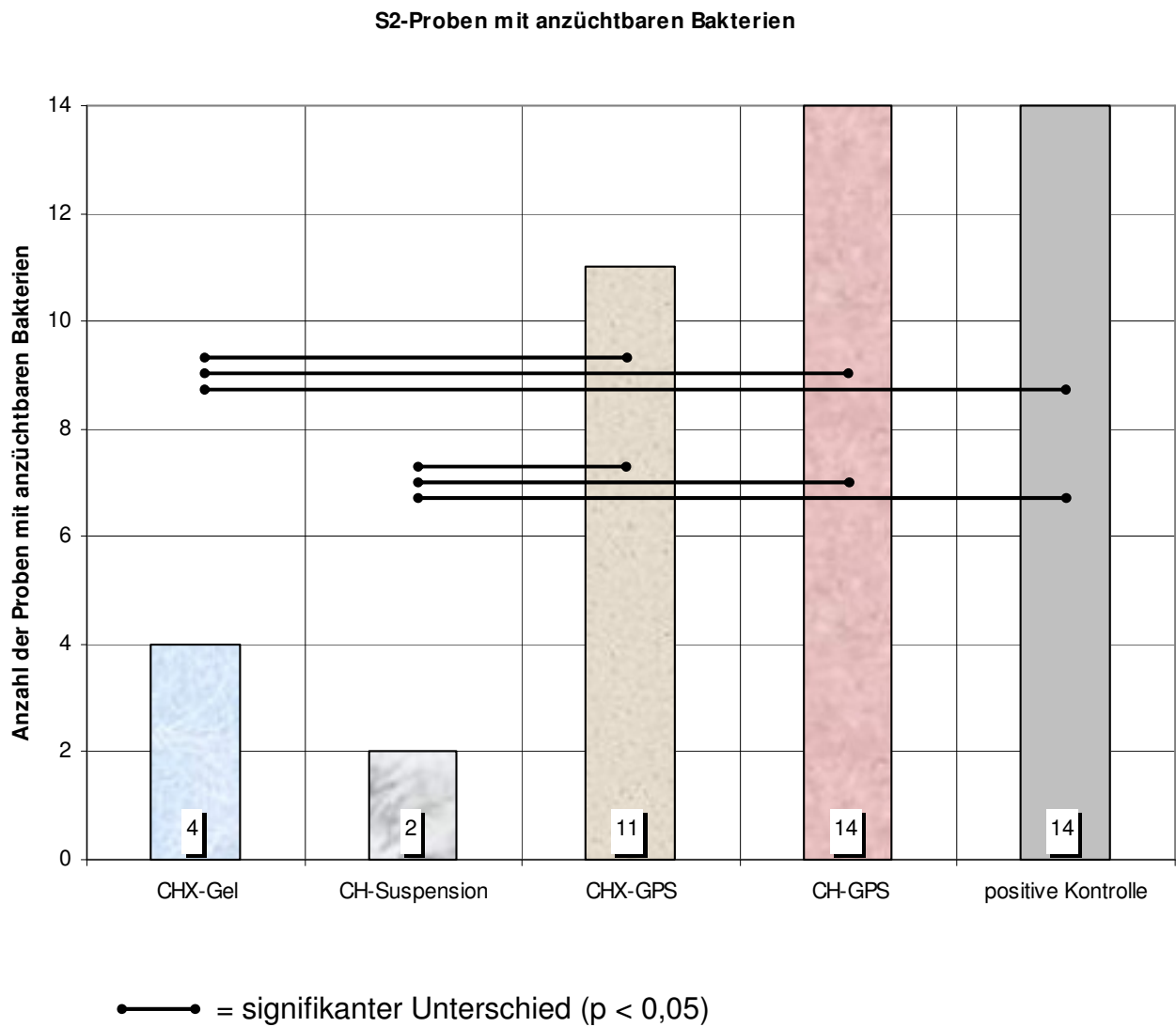


Abbildung 9:

Grafische Darstellung der Probenanzahl mit positivem mikrobiellen Befund nach einer Woche

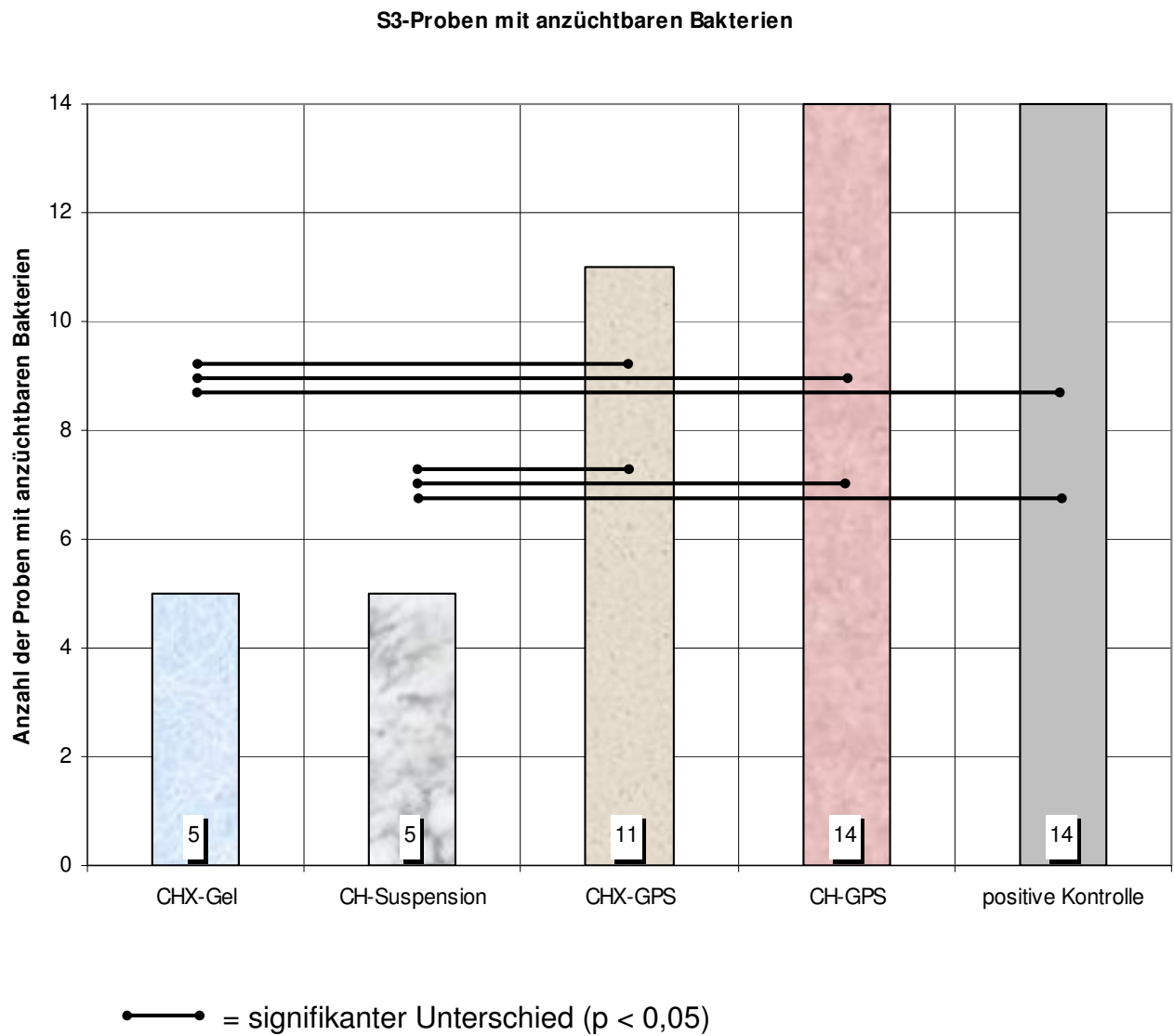


Abbildung 10:

Grafische Darstellung der Probenanzahl mit positivem mikrobiellen Befund nach zwei Wochen

7 Diskussion

Das neu entwickelte *In-situ*-Modell ermöglichte eine Inokulation der untersuchten Zahnwurzeln unmittelbar in der Mundhöhle von Probanden. Im Gegensatz zu Studien, die sich einzelner, katalogisierter Laborstämme bedienen (133, 256, 257), wurde dadurch eine Mischinfektion, wie sie für das primär-infizierte Endodont charakteristisch ist, erzeugt (46). Dies ist besonders deswegen bedeutsam, weil durch Studien wie denen von Fabricius *et al.* bekannt war, dass sich bestimmte pathogene Vertreter der endodontischen Mikroflora (z.B. *Prevotella oralis*) erst im Verbund mit anderen Keimen im Wurzelkanal etablieren können. Und gerade diese Mischinfektionen erzeugten die ausge dehntesten apikalen Parodontitiden (58, 67).

Jeder Wurzelträger wurde für eine Woche ohne nennenswerte Beeinträchtigungen inkorporiert bzw. infiziert. Von den eingearbeiteten fünf Wurzeln wurden vier den Testgruppen und eine der positiven Kontrollgruppe zugeordnet. Nach Ablauf der ersten Woche wurden die S1-Proben auf die Anzahl anzüchtbarer obligater und fakultativer Anaerobier hin untersucht. Eine Bestimmung der Aerobier erfolgte nicht, da frühere Studien aufzeigen konnten, dass endodontische Infektionen fast ausnahmslos vom anaeroben mikrobiellen Segment (zu etwa 90%) dominiert werden (11, 46, 49).

Aus den untersuchten Proben ließen sich durchschnittlich $3,23 \times 10^7$ koloniebildende Einheiten (KBE) isolieren. Diese Zahl anzüchtbarer Bakterien lag im Bereich der von *In-vivo*-Studien her bekannten Größenordnungen. Sjögren *et al.* detektierten aus Zähnen mit nekrotischer, infizierter *Pulpa* $<10^2 - 1 \times 10^8$ KBE (im Durchschnitt $5,2 \times 10^4$) (216). Kantz und Henry fanden $0 - 1,5 \times 10^8$ KBE (im Durchschnitt $1,5 \times 10^7$) (40). Die Variationsbreite der vorliegenden Ergebnisse fiel mit $1,2 \times 10^6 - 1,1 \times 10^8$ auffallend gering aus. Der Unterschied zu den zitierten Studien dürfte den standardisierten Bedingungen geschuldet sein. Bei der vorliegenden Untersuchung wurden Auswahlkriterien hinsichtlich des Zahntyps, der Kanalanzahl und des Querschnitts des Kanaleingangs getroffen. Die Wurzeln wurden vor der Inkorporation auf die gleiche Länge geschliffen und auf die gleiche Instrumentengröße instrumentiert. Auch alle weiteren Arbeitsschritte der chemomechanische Aufbereitung, Sterilisation, Tragedauer im Mund, Probenentnahme und mikrobiologische Auswertung folgten einem strengen Protokoll.

Bei genauer Betrachtung werden die entscheidenden Vorteile des gewählten Versuchsdesigns gegenüber einer vergleichbaren Arbeit am Patienten ersichtlich. Chemomechanisch aufbereitete Zähne wurden nach erfolgter Sterilisation inokuliert. Eine ähnlich

konzipierte *In-vivo*-Studie hätte sich einerseits infizierter Zähne bedienen können – wahrscheinlich jedoch ohne Abgleich der mikrobiellen Expositionszeiten. Da eine Sterilität (vorab infizierter Kanäle) am Patienten nicht zu erreichen gewesen wäre, hätte eine solche Studie alternativ nur auf Zähne zurückgreifen können, zu deren Therapie eine Vitalexstirpation erforderlich gewesen wäre. Diese Zähne hätten anschließend zur mikrobiellen Besiedlung offen gelassen werden müssen - ein sowohl ethisch als auch rechtlich fragliches Vorgehen. Die Zusammenfassung von fünf Zähnen in einem Wurzelträger erlaubte darüber hinaus deren parallele Weiterverarbeitung, was im Hinblick auf die fristgerechte Portionierung und Vorbebrütung der anaeroben Medien, aber auch der Bereitstellung von sterilisiertem Instrumentarium und aller folgenden Arbeitsschritte eine wesentliche Effektivierung gestattete. Vermutlich wäre bei klinischen Fällen eine vergleichbare Terminierung nicht möglich gewesen, umso mehr, als an jedem Patienten in der Regel hätte nur ein Zahn bearbeitet werden können.

Der Vergleich des verwendeten Modells und der klinischen Situation infizierter Zähne wirft jedoch auch Fragen auf. Eine Infektionsphase von nur einer Woche dürfte unter *In-vivo*-Bedingungen nur selten auftreten. Es ist bekannt, dass die endodontischen Infektionen hinsichtlich des Artenspektrums und der Verteilung von aeroben und anaeroben Spezies einer Dynamik unterliegen. Fabricius *et al.* konstatierten im Rahmen der bereits erwähnten Studien an artifiziell infizierten Wurzeln von Makaken, dass sich die Anteile der beobachteten Bakterienspezies vom Zeitpunkt der Inokulation ab veränderten und nach sechsmonatiger Exposition typische Proportionen erkennen ließen. So nahm beispielsweise der Anteil fakultativer Anaerobier zugunsten obligater Anaerobier ab (58, 67). In diesem Punkt sind mithin Abweichungen der hier gewonnenen Ergebnisse in Bezug auf die klinische Situation nicht auszuschließen.

Andererseits stellt sich die Frage, ob die gewählte einwochige Inokulationsdauer den Mikroorganismen ausreichend Gelegenheit bot, in die *Tubuli* des umgebenden Wurzel-dentins einzudringen. Viele der zu dieser Thematik publizierten Arbeiten liefern jedoch für den betrachteten Fall keine verwertbaren Aussagen, da man sich häufig extrahierter Zähne bediente, deren Wurzelkanalsystem sich über unbestimmte Zeit infiziert hatte (6, 77, 79). Andere Studien wählten Beobachtungszeiträume von 10-28 Tagen. Während Perez *et al.* an Proben von Rinderzähnen für *Streptococcus sanguis* maximale Penetrationstiefen von 648 µm (10 d) und 792 µm (20 d) maßen, konnten *Actinomyces naeslundii* und *Prevotella intermedia* auch nach 28 Tagen überhaupt nicht in den Dentinkanälchen nachgewiesen werden (136). Bei einer fast identischen Studie an Menschen-

zähnen durch Berkiten *et al.* penetrierte *S. sanguis* innerhalb von 20 Tagen in einigen Fällen sogar bis zur Zementoberfläche der Proben (880 μm), *P. intermedia* dagegen durchschnittlich nur 26 μm (74). Deutlich kürzere Expositionszeiten sind Arbeiten von Haapasalo und Ørstavik zu entnehmen (75, 133). An dem von ihnen erstmals publizierten Hohlzylinder-Modell von Rinderzähnen (vgl. Abschnitt 3.3.4.3 Chlorhexidin) registrierten sie im Fall von *Enterococcus faecalis* eine vollständige Penetration (1350 μm) bereits nach 2 Tagen. Auch *Pseudomonas aeruginosa* und *S. sanguis* gelang es, die Proben nach 3 bzw. 14 Tagen zu durchdringen. *Escherichia coli* erreichte nach zwei Tagen eine Eindringtiefe von ca. 600 μm und verharrte in dieser Position bis zum Ende des untersuchten Zeitraumes (14 d). Interessanterweise findet sich zwischen diesen Arbeiten und der vorliegenden Untersuchung hinsichtlich der Vorbereitung der Zahnproben ein hohes Maß an Übereinstimmung. In beiden Fällen umfasste die chemomechanische Aufbereitung neben der Instrumentation den ultraschallunterstützten Einsatz von EDTA und NaOCl.

Auch für menschliches Dentin ist die vollständige Penetration innerhalb weniger Tage dokumentiert. Meryon und Brook konstatierten eine Durchdringung 500 μm starker Proben bei *S. sanguis* innerhalb von 24 Stunden. *A. viscosus* und *Corynebacterium spp.* brauchten dafür in der Mehrzahl der Fälle drei Tage (7). Somit kann bei der vorliegenden Untersuchung von einer ausreichenden mikrobiellen Penetration ausgegangen werden.

Die Ausbildung eines strukturierten Biofilms wie ihn Molven *et al.*, Leonardo *et al.* oder Noiri *et al.* intra- und extraradikulär so eindrucksvoll aufgezeigt haben, dürfte allerdings längere Infektionsphasen erfordern (88, 95, 107). Da sich Mikroorganismen in Biofilmen im Vergleich zur planktonischen Lebensweise pharmakologisch deutlich resistenter zeigen (100, 421), muss unter klinischen Bedingungen eine geringere Desinfektionskraft der hier untersuchten Medikamente angenommen werden. Weiterführende Untersuchungen am neuen Modell könnten hier ansetzen.

Eine weitere Abweichung von der klinischen Situation ist in der Abfolge der chemomechanischen Aufbereitung und der desinfizierenden Einlage begründet. Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Bestimmung des eigenständigen Desinfektionspotenzials der verschiedenen Medikamente. Eine chemomechanische Aufbereitung erfolgte daher nicht wie am Patienten unmittelbar vor der medikamentösen Einlage, sondern bereits vor der Einarbeitung der Zahnproben in die Wurzelträger.

Auch die positive Kontrollgruppe zeigte nach der einwöchigen Medikationsphase der vier Testgruppen eine nachweisbare Abnahme der Bakterienzahl in den S2-Proben. Für diese Reduktion waren vermutlich mehrere Faktoren verantwortlich. Während der Inokulationsperiode erlaubten die offenen Kanäleingänge einen ungehinderten Zutritt von Substrat, Mikroorganismen und (zumindest in den koronalen Kanalanteilen) Sauerstoff. Der Verschluß der Kanalorifizien und das Einbringen des Reduktionsmittels Thioglykolat zu Beginn der Medikationsphase mag zwar die untersuchten Anaerobier durch die einsetzende Sauerstoffabnahme zunächst begünstigt haben, zugleich aber riss zu diesem Zeitpunkt der Substratnachschieb ab. Offenbar waren die nach der S1-Probe im Kanal verbliebenen Mikroorganismen nicht in der Lage, den durch die Probenentnahme bedingten Verlust von durchschnittlich $4,95 \times 10^7$ KBE innerhalb der folgenden sieben Tage zu kompensieren. Hierzu mag auch die Tatsache beigetragen haben, dass die bei der Probenentnahme (S2) zwangsläufig auftretende Sauerstoffexposition die kanäläre Mikroflora nach einwöchiger strikter Anaerobiose möglicherweise in einem stärkeren Maße beeinträchtigte, als noch eine Woche zuvor bei ununterbrochen geöffnetem Kanal. Im Vergleich zur klinischen Situation muss berücksichtigt werden, dass die zirkuläre Bonding-Versiegelung der Zahnproben ein vollständiges Erliegen der Substratzufuhr bewirkte, was *in vivo* nicht notwendigerweise hätte eintreten müssen. Dort wäre ein Substrattransport durch Flüssigkeitsverschiebungen aus dem umgebenden Gewebe (insbesondere vom Periapex) zumindest denkbar gewesen. Wenngleich die Keimzahl in den Wurzeln der positiven Kontrollgruppe zum Ende der Medikamentenphase (S2) abgenommen hatte, enthielten diese Wurzeln letztlich doch signifikant mehr anzüchtbare Keime als die Testgruppen. Diese Differenz kann als Hinweis auf die Desinfektionswirkung der medikamentösen Einlagen gewertet werden.

Kalziumhydroxid erzielte als frisch angemischte Suspension den höchsten Anteil von Proben mit negativem bakteriologischen Befund (86%). In Form *kalziumhydroxidhaltiger Guttaperchaspitzen* lieferte es nach einwöchiger Applikation das schlechteste Ergebnis der untersuchten Präparate: Alle S2-Proben enthielten reichlich anzüchtbare Keime, wenn auch signifikant weniger als die positive Kontrollgruppe. Guttaperchaspitzen mit einem Kalziumhydroxidanteil von 50-51 Gewichtsprozent wurden 1996 auf dem Markt eingeführt. Bei der vorliegenden Studie fand eine neuere Variante (ca. 58 Gewichts-%) Verwendung, wie sie seit 2000 erhältlich ist. Der Vergleich der hier gewonnenen Ergebnisse mit früheren Studien ist nur bedingt möglich, da mehrheitlich die ältere Version

untersucht wurde oder bisweilen konkrete Angaben fehlen. Ho *et al.* konstatierten an extrahierten Zähnen im Fall der neuen Variante den pH-Peak schon nach 3 Stunden. Ein mikrobiologisch bedeutsames Alkalisierungsvermögen ($\text{pH} \geq 9,5$) resultierte für nur 2,4 Tage – bei einer Ca(OH)_2 -Suspension dagegen für 8,5 Tage (274). Azabal-Arroyo *et al.* fanden bei pH-Messungen an Guttaperchaspitzen der älteren Version, die am Patienten für eine Woche als Einlage gedient hatten, einen nahezu neutralen pH (275). Die schlechten Ergebnisse der in der vorliegenden Studie verwendeten kalziumhydroxidhaltigen Guttaperchaspitzen könnten auf die rasche, sich schnell erschöpfende Liberation des enthaltenen Kalziumhydroxids zurückzuführen sein (270). Infolge der bekannten guten Puffereigenschaften von Dentin gegenüber Hydroxyl-Ionen (422) resultiert eine unzureichende antibakterielle Wirksamkeit im Wurzelkanal (279).

Chlorhexidin erzeugte als 5%iges Gel in 71% der Fälle Wurzeln, aus denen direkt nach der Medikation keine Bakterien mehr angezüchtet werden konnten. Damit rangierte es in dieser Studie gleich nach der Kalziumhydroxid-Suspension an zweiter Stelle. Abweichend hiervon bescheinigte die Mehrzahl früherer *In-vitro*-Untersuchungen dem CHX-Gel die besseren Desinfektionseigenschaften (257, 325, 342, 343, 423). Allein Reinfektionsversuche von Roach *et al.* an Zähnen mit temporärer Einlage und ohne koronalen Verschluß dokumentierten ebenfalls die Überlegenheit einer Kalziumhydroxid-Suspension (424). Kritisch angemerkt werden muss in Bezug auf die erwähnten Studien, dass sie sich fast ausnahmslos nur einer einzigen Bakterienspezies (*Enterococcus faecalis*) bedienen. Vor dem Hintergrund der ausgerechnet für diese Art beschriebenen, äußerst geringen Ca(OH)_2 -Sensitivität (94, 133, 168, 241) erscheinen die gefundenen Abweichungen plausibel, wenngleich eine Feindiagnostik des mikrobiellen Artenspektrums nicht Gegenstand der vorliegenden Studie war. Hier könnten zukünftige Untersuchungen anknüpfen.

In der Darreichungsform *chlorhexidinhaltiger Guttaperchaspitzen* gelang nur bei 21% der Fälle ein negativer bakteriologischer Befund. Der Unterschied zum Gel könnte auf verschiedene Ursachen zurückzuführen sein. Einerseits enthielten die Präparate zwei verschiedene Chlorhexidinsalze. Im Falle der Guttaperchaspitzen Diacetat, beim Gel dagegen Digluconat. Die deutliche höhere Wasserlöslichkeit des Digluconats (286) könnte somit die Ergebnisse beeinflusst haben. Andererseits kann ein Gel ebenso wie eine (Kalziumhydroxid-)Suspension die erreichbaren Areale des Wurzelkanalsystems flächig benetzen, während eine Guttaperchaspitze keinen so engen Kontakt zur Kanal-

wand bewerkstelligt. Im Hinblick auf die Wirkstoffliberation könnte sich dies nachteilig, in Bezug auf die Proliferation und das Substratangebot der ansässigen Mikroflora dagegen begünstigend ausgewirkt haben. Durch das Fließvermögen des Gels dürfte ein größeres Volumen appliziert worden sein, als bei der Insertion einer soliden Guttaperchaspitze. Infolge des identischen Chlorhexidingehalts (5%) beider Darreichungsformen muss somit beim Gel von einer größeren verfügbaren Wirkstoffmenge ausgegangen werden. Es wäre zu hinterfragen, ob sich dieser offensichtliche Nachteil einer Guttaperchaspitze nicht durch eine Anhebung der Chlorhexidinkonzentration kompensieren ließe. Wenngleich ein entsprechender Versuch an Guttaperchaspitzen bisher leider nicht publiziert wurde, findet sich bei Lenet *et al.* zumindest ein sehr ähnliches Konzept (342). Sie verwendeten bei einer *In-vitro*-Studie an Rinderzähnen ein spezielles Trägersystem aus wasserdurchlässigem Polymer mit einem Chlorhexidindigluconatgehalt von 25%. Aus diesem Material fertigten sie Dispenser von der Form einer Guttaperchaspitze, die sie als einwöchige desinfizierende Einlage gebrauchten. Nach ihrer Entfernung infizierten sie die Wurzelproben für drei Wochen mit *Enterococcus faecalis*. Bei der mikrobiologischen Nachuntersuchung von Dentinproben verschiedener Schichttiefen erzielte diese hochkonzentrierte Darreichungsform jedoch eine signifikant schlechtere Keimreduktion als ein nur 2%iges Chlorhexidin-Gel.

Bei der einwöchigen Nachuntersuchung ohne Medikation (S3) lieferte die Gruppe „CHX-GPS“ nur bei einer von drei Wurzeln, die in der S2-Probe bereits einen negativen bakteriologischen Befund gezeigt hatten, anzüchtbare Bakterien. Beim CHX-Gel fand sich ein entsprechender mikrobiologischer Rückfall sogar nur in einer von zehn Wurzeln. Dies könnte auf die Substantivität von Chlorhexidin zurückzuführen sein, wie sie bereits verschiedentlich beschrieben wurde (311, 317).

Neben diesen Rückfällen wurde in der Mehrzahl der Proben der Testgruppen, die unmittelbar nach der Medikation (S2) noch anzüchtbare Mikroorganismen enthalten hatten, ein Anstieg der Bakterienzahlen im Zuge der medikamentfreien, einwöchigen Nachuntersuchung (S3) festgestellt. Dies ist auch von anderer Seite berichtet worden. Sjögren *et al.* untersuchten am Patienten u.a. die Wirkung einer 10-minütigen Kalziumhydroxid-Einlage unmittelbar nach der chemomechanischen Aufbereitung. Es fanden sich bei 3 von 12 Fällen direkt nach der ultraschallunterstützten Instrumentation und Spülung mit 0,5%igem NaOCl keine Mikroorganismen mehr, wohl aber nach der zeitlich begrenzten Ca(OH)_2 -Einwirkung und einem siebentägigen Intervall (ohne Einlage) mit dichtem koronalem Verschuß. Bei zwei weiteren Fällen mit persistierenden Bakterien

vor der Kalziumhydroxid-Einlage nahm deren Anzahl bis zur zweiten Sitzung zu (216). Auch Byström und Sundqvist beobachteten einen Anstieg der anzüchtbaren Bakterien, wenn die untersuchten Zähne nach erfolgter chemomechanischer Aufbereitung mittels verschiedener Spülmittelkombinationen (physiologische Kochsalzlösung, 5%iges NaOCl, 15%ige Editinsäure) für bis zu vier Tage ohne medikamentöse Einlage belassen wurden (49, 185). Eine weitere interessante Arbeit von Byström *et al.* beschäftigte sich mit der Wirksamkeit einer einmonatigen $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage am Patienten. Während unmittelbar nach der Entfernung der Einlagen aus keinem der 35 untersuchten Zähne Mikroorganismen isoliert werden konnten, zeigte ein Zahn nach weiteren vier Tagen ohne Medikament erneut bakteriellen Befall durch die Arten *Fusobacterium nucleatum* und *Wolinella recta* (250). Die Ergebnisse der genannten Studien und der vorliegenden Untersuchung deuten darauf hin, dass es sich hier um ein wirkstoffunabhängiges Phänomen handelt. Offenbar erschließen sich die Mikroorganismen vereinzelt Rückzugsgebiete, in denen sie für das Desinfiziers und die verwendete Nachweismethode nicht bzw. nur in geringem Maße erreichbar sind. Von diesen Nischen aus erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt die Reinfektion des Wurzelkanalsystems. Als mögliche Refugien kommen im Einzelnen in Betracht: Unbearbeitete Kanalwandabschnitte insbesondere bei unteren Schneidezähnen infolge lingualer und bukkaler Ausläufer mit Pulparesten und Dentindebris (119), Seitenkanäle des koronalen und mittleren Wurzeldrittels (119, 126), apikale akzessorische Kanäle der *Regio ramificata* (130, 131) und die peripheren Abschnitte der Dentinkanälchen (77, 83).

Eine auffallend starke Zunahme anzüchtbarer Bakterien fand sich nach der einwöchigen Inkubation ohne Medikation (S3) bei fast allen Wurzeln der Gruppe „CH-GPS“. In den betreffenden S3-Proben konnten durchschnittlich sogar mehr Keime nachgewiesen werden, als in der positiven Kontrollgruppe. Vermutlich ist dieser Umstand auf die zur Kalziumhydroxid-Inaktivierung verwendete Zitronensäurelösung zurückzuführen. Im Zuge der Probengewinnung nach der Medikation (S2) wurden drei mit dieser Lösung getränkte Papierspitzen nacheinander für je 20 Sekunden in die Wurzeln eingebracht. Es ist denkbar, dass Reste der Inaktivierungslösung als bakterielles Substrat gedient haben könnten (425, 426). Die zweite Gruppe („CH-Suspension“), bei der die Zitronensäurelösung zu Anwendung kam, zeigte keinen vergleichbaren Anstieg. Infolge der Medikamentenwirkung waren bei 9 der 14 Wurzeln dieser Gruppe offenbar keinerlei lebensfähige Keime zurückgeblieben, denen das Zitrat als Substrat hätte dienen können.

8 Schlussfolgerungen

Bezugnehmend auf die Zielstellung können folgende Aussagen getroffen werden:

1. Das im Rahmen dieser Studie entwickelte Wurzelträger-Modell eignet sich für die mikrobielle Besiedlung extrahierter, aufbereiteter Zähne im Munde von Probanden. Es ermöglicht eine praktikable Testung antimikrobieller Substanzen direkt im Wurzelkanal unter standardisierten Bedingungen. Einschränkungen im Vergleich zur klinischen Situation ergeben sich aus der verhältnismäßig kurzen Inokulationsperiode, der zirkulären Abdichtung der Wurzelproben sowie der unterschiedlichen Abfolge von Maßnahmen der chemomechanischen Aufbereitung und der desinfizierenden Einlage.
2. Nach einer einwöchigen Inokulationsphase im Mundhöhlenmilieu lassen sich aus solchermaßen infizierten Wurzeln Anaerobier in einer Größenordnung von 10^6 - 10^8 KBE nachweisen.
3. Eine einwöchige medikamentöse Einlage in Form der weit verbreiteten Kalziumhydroxid-Suspension erzielte (selbst bei Verzicht auf begleitende weitere Maßnahmen der chemomechanischen Aufbereitung) sehr gute Ergebnisse bei der Bekämpfung endodontischer Mischinfektionen.
4. Ein 5%iges Chlorhexidin-Gel entwickelte unter den hier gewählten Bedingungen fast ebenso günstige Desinfektionsresultate wie eine Kalziumhydroxid-Suspension. Einen zwingenden Hinweis auf die verschiedentlich beschriebene Substantivität lieferte diese Studie nicht. Wenngleich Chlorhexidin nicht über die Fähigkeiten zur Gewebsmazeration und LPS-Detoxifikation verfügt, eignet es in Gelform als desinfizierende Wurzelkanaleinlage.
5. Sowohl Kalziumhydroxid als auch Chlorhexidin sind in der Darreichungsform entsprechend angereicherter Guttaperchaspitzen aufgrund ihrer signifikant schlechteren Ergebnisse für die Wurzelkanal desinfektion aus Sicht dieser Studie nicht zu empfehlen.

6. Eine Reinfektion nach Absetzen der Medikation kann trotz eines hermetischen Verschlusses des Wurzelkanals resultieren. Dieses von der Art des Wirkstoffs unabhängige Phänomen ist vermutlich den mikroanatomischen Besonderheiten des Wurzelkanalsystems geschuldet. Offenbar gelingt es Mikroorganismen vereinzelt, die endodontischen Desinfektionsmaßnahmen in medikamentös schwer zugänglichen Arealen zu überdauern.

Im Rahmen weiterer Studien an diesem neuen *In-situ*-Modell sollten verschiedene Aspekte näher untersucht werden:

1. Die Bestimmung der mikrobiellen Penetrationstiefen in Abhängigkeit von der Expositionsdauer im Mundhöhlenmilieu;
2. Die erforderlichen Rahmenbedingungen zur Erzielung eines strukturierten, intraradikulären Biofilms;
3. Eine mikrobiologische Feindiagnostik zur Feststellung der einzelnen Anaerobier-Spezies insbesondere in Hinblick auf ein möglicherweise unterschiedliche Sensitivität gegenüber einer Kalziumhydroxid-Suspension oder einem Chlorhexidin-Gel;
4. Der kombinierte Einsatz von Kalziumhydroxid-Suspension und Chlorhexidin-Gel in alternierender Anwendung oder als Mischpräparat.

9 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, die Desinfektionseigenschaften von Kalziumhydroxid und Chlorhexidin in je zwei Darreichungsformen im infizierten Wurzelkanal zu untersuchen. Außerdem sollte ein neu entwickeltes *In-situ*-Modell erprobt werden. Dazu wurden die Wurzeln extrahierter menschlicher Frontzähne chemomechanisch aufbereitet, sterilisiert und in prothesenähnliche Vorrichtungen eingearbeitet. Für die Dauer einer Woche trugen zwei Probanden die präparierten Zähne im Munde, um so den oralen Mikroorganismen eine Besiedlung der Wurzelkanäle zu ermöglichen. Nach dieser Inokulationsphase wurde für jede untersuchte Wurzel die initiale Keimzahl bestimmt. Während der anschließenden einwöchigen Medikationsperiode - ohne begleitende Maßnahmen chemomechanischer Aufbereitung - erhielt jede Wurzel eine der folgenden vier Einlagen: Kalziumhydroxid appliziert als frisch angemischte Suspension oder als Guttaperchastift mit einem Kalziumhydroxidanteil von 58 Gewichtsprozent, Chlorhexidin als 5%iges CHX-Digluconat-Gel oder als Guttaperchastift mit 5%igem Gehalt an CHX-Diacetat. Unmittelbar nach der Entfernung der Medikamente wurde für jede Wurzel die Keimzahl festgestellt. Abschließend wurden die Wurzeln für eine weitere Woche ohne Medikation inkubiert, gefolgt von einer erneuten mikrobiologischen Untersuchung.

Sowohl die Kalziumhydroxid-Suspension als auch das Chlorhexidin-Gel bewirkten nach einer siebentägigen Einwirkzeit eine derartige Keimreduktion, dass in 86% bzw. 71% der Fälle keine Bakterien mehr aus den Wurzelkanälen nachgewiesen werden konnten. Im Zuge einer zusätzlichen einwöchigen Nachuntersuchung ohne Medikation verringerte sich der Anteil von Proben ohne anzüchtbare Bakterien, betrug jedoch bei beiden Gruppen noch 64%. Die wirkstoffhaltigen Guttaperchaspitzen lieferten in der Medikationsperiode und der Nachuntersuchung signifikant schlechtere Ergebnisse.

Zusammenfassend kann mithin festgestellt werden, dass das in dieser Studie vorgestellte *In-situ*-Modell für die mikrobielle Besiedlung extrahierter, aufbereiteter Zähne im Munde von Probanden geeignet ist wie auch für die Testung antimikrobieller Substanzen unter standardisierten Bedingungen. Bei der Wurzelkanalbehandlung eines infizierten Zahnes können eine Kalziumhydroxid-Suspension und ein Chlorhexidindigluconat-Gel gleichermaßen als einwöchige medikamentöse Einlage empfohlen werden. Von Trägersystemen auf Basis von Guttaperchastiften ist dagegen aufgrund ihrer unzureichenden Desinfektionswirkung abzuraten.

10 Summary

In the present study, the antimicrobial effectiveness of either chlorhexidine or calcium hydroxide, was tested in a new *in-situ* model.

Human extracted incisors were chemo-mechanically debrided, sterilized and embedded into prosthetic devices. The subsequent growth experiment was designed in three phases: the *in-occlusion* period, the period of medication and the post-medication period. After every of these one week lasting phases, the bacterial counts (CFUs), were determined. Bacterial *in-occlusion* was obtained by carriage of the prosthetic devices in the oral cavity of two volunteers. After a first microbiological evaluation, teeth were dressed with calcium hydroxide as a freshly prepared suspension, a gutta-percha point (58% (w/w)), chlorhexidine in a CHX-digluconate gel (5% (w/w)) or a gutta-percha point (5% (w/w) CHX-diacetate) respectively. They were then incubated for one week. At the end of this stage test substances were totally removed and bacterial sampling was performed. In the post-medical period the teeth were incubated for one more week, however, without any medication.

Best disinfection results were obtained by both substances chlorhexidine and calcium hydroxide applied as a gel or suspension, respectively. Growth of anaerobic bacteria was inhibited by calcium hydroxide in 86% of the investigated teeth and by chlorhexidine in 71%. In the post-medical phase no colonies were detectable in 64% of the investigated teeth for both substances. Medications with the gutta-percha points resulted in a significantly higher bacterial cell count after medication and post-medical phase.

The present study established a new *in-situ* model. It was shown that antimicrobial drugs could be successfully tested in extracted, sterilized and recolonized teeth under standardized conditions. The data presented here support an effective treatment of infected root canals by calcium hydroxide suspension as well as chlorhexidine-digluconate gel applied for one week whereas medications incorporated in gutta-percha point systems did not show comparable antimicrobial effects.

11 Literaturverzeichnis

- 1 Klimm HW. Struktur- und molekularbiologische Grundlagen der Endodontie. In: Endodontologie: Grundlagen und Praxis. Klimm HW, Herausgeber. Dt. Zahnärz-
te-Verlag, Köln 2003: 211-35
- 2 Schäfer E. Struktur der Pulpa und ihre Erkrankungsformen. In: Endodontie. Hei-
demann D, Herausgeber. Urban & Fischer, München 2001: 2-24
- 3 Hoshino E, Ando N, Sato M, Kota K. Bacterial invasion of nonexposed dental
pulp. *Int Endod J* 1992; 25: 2-5
- 4 Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effect of surgical exposure of den-
tal pulps in germ-free and conventionell laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral
Patho* 1965; 20: 340-9
- 5 Klimm HW. Ätiologie und Pathogenese der Pulpitis und Parodontitis apicalis. In:
Endodontologie: Grundlagen und Praxis. Klimm HW, Herausgeber. Dt. Zahnärz-
te-Verlag, Köln 2003: 99-124
- 6 Ando N, Hoshino F. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of
root canal dentine. *Int Endod J* 1990; 23: 20-7
- 7 Meryon SD, Brook AM. Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and
their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990; 23: 196-202
- 8 Nair PNR, Pathology of apical periodontitis. In: Essential Endodontology. Preven-
tion and Treatment of Apical Periodontitis. Ørstavik D, Pitt Ford TR, Herausge-
ber. Blackwell Science, Oxford 1998: 68-105
- 9 Pitts DL, Williams BL, Morton TH. Investigation of the role of endotoxins in peri-
apical inflammation. *J Endod* 1982; 8: 10-8
- 10 Seltzer S, Farber PA. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med
Oral Patho* 1994; 78: 634-45
- 11 Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps (thesis). Umeå Uni-
versity, Umeå. Sweden. Odontological Dissertation 1976: 1-94
- 12 Klevant FJ, Eggink CO. The effect of canal preparation on periapical disease. *Int
Endod J* 1983, 16: 68-75
- 13 Katebzadeh N, Hupp J, Trope M. Histological periapical repair after obturation of
infected root canals in dogs. *J Endod* 1999; 25: 364-68
- 14 Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and mo-
lecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* 1998; 31: 311-25
- 15 Fish EW. Bone infection. *J Am Dent Assoc* 1939; 26: 691-712
- 16 Shindell E. A study of some periapical roentgenolucencies and their significance.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1961; 14: 1057-65
- 17 Brauner AW, Conrads G. Studies into the microbial spectrum of apical periodonti-
tis. *Int Endod J* 1995; 28: 244-8
- 18 Nair PNR. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapi-
cal lesions. *J Endod* 1987; 13: 29-39

- 19 Valderhaug JA. A histologic study of experimentally induced periapical inflammation in primary teeth in monkeys. *Int J Oral Surg* 1974; 3: 111-23
- 20 Iwu C, MacFarlane TW, MacKenzie D, Stenhouse D. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 502-5
- 21 Wasfy MO, McMahon KT, Minah DE, Falkler WA Jr. Microbiological evaluation of periapical infections in Egypt. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 100-5
- 22 Vigil GV, Wayman BE, Dazey SE, Fowler CB, Bradley DV. Identification and antibiotic sensitivity of bacteria isolated from periapical lesions. *J Endod* 1997; 23: 110-4
- 23 Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, Fowler CB. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J Endod* 1992; 18: 152-5
- 24 AbouRass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. *Int Endod J* 1998; 31: 39-47
- 25 Sunde PT, Olsen I, Lind PO, Tronstad L. Extraradicular infection: a methodological study. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 84-90
- 26 Klimm HW. Ätiologie und Pathogenese der Pulpitis und Parodontitis apicalis. Pathomorphologie der Pulpitis und Parodontitis apicalis. In: *Endodontologie: Grundlagen und Praxis*. Klimm HW, Herausgeber. Dt. Zahnärzte-Verlag, Köln 2003: 99-131
- 27 Nair PNR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodont* 2000 1997; 13: 121-48
- 28 Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996; 7: 104-33
- 29 Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 498-521
- 30 Ingle JI. Root canal obturation. *J Am Dent Assoc* 1956; 53: 47-55
- 31 Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int End J* 1997; 30: 297-306
- 32 Klimm HW. Ätiologie und Pathogenese der Karies. In: *Kariologie. Ein Leitfaden für Studierende und Zahnärzte*. Klimm HW, Herausgeber. Hanser Verlag 1997: 48-123
- 33 Miller WD. Gangränöse Zahnpulpen als Infektionsherde. In: *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*. Miller WD, Herausgeber. Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1892: 339-46
- 34 Miller WD. Pathogene Mundbakterien. In: *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*. Miller WD, Herausgeber. Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1892: 293-328
- 35 Perea EJ. Oral flora in the age of molecular biology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004; 9: suppl: S1-10
- 36 Collins MD, Hoyles L, Kalfas S, Sundqvist G, Monsen T, Nikolaitchouk N, et al. Characterization of *Actinomyces* isolates from infected root canals of teeth: description of *Actinomyces radicidentis* sp. nov. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3399-3403

- 37 Nakazawa F, Poco SE Jr, Sato M, et al. Taxonomic characterization of *Mogibacterium diversum* sp. nov. and *Mogibacterium neglectum* sp. nov. isolated from human oral cavities. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 115-22
- 38 Heuer MA, Miserendino LJ. Microbiology and Pharmacology. In: Pathways of the pulp. Cohen S, Burns RC, Herausgeber. Mosby, St. Louis 1987: 364-96
- 39 Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992; 18: 427-30
- 40 Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 91-6
- 41 Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP, Magalhães FAC, de Uzeda M. Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medications. *J Endod* 2003; 29: 501-4
- 42 Rauch B. Attempts to isolate a virus from infected root canals and periapical tissues using monkey cell cultures. *J Can Dent Assoc* 1958; 24: 404-10
- 43 Shindell E. Studies on the possible presence of a virus in subacute and chronic periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1962; 15: 1382-4
- 44 Slots J, Sabeti M, Simon JH. Herpesviruses in periapical pathosis: An etiopathogenic relationship? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 327-31
- 45 Sabeti M, Simon JH, Nowzari H, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Barrvirus active infection in periapical lesions of teeth with intact crowns. *J Endod* 2003; 29: 321-3
- 46 Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 307-12
- 47 Seeliger HPR. Allgemeine bakteriologische Technik. In: Medizinische Mikrobiologie: Labordiagnostik und Klinik. Seeliger HPR, Schröter G, Herausgeber. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1990: 13-54
- 48 Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Microbial growth. In: Biology of microorganisms. Madigan MT, Martinko JM, Parker J, Herausgeber. Prentice-Hall Inc., New Jersey 1997: 149-77
- 49 Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy, *Scand J Dent Res* 1981; 89: 321-328
- 50 Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LAB, Lopatin DE. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12: 66-9
- 51 Bae KS, Baumgartner JC, Shearer TR, David LL. Occurrence of *Prevotella intermedia* in infections of endodontic origin. *J Endod* 1997; 23: 620-23
- 52 Dougherty WJ, Bae KS, Watkins BJ, Baumgartner JC. Black-pigmented bacteria in coronal and apical segments of infected root canals. *J Endod* 1998; 24: 356-8
- 53 Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS, Xia T. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod* 1999; 25: 413-5

- 54 Kipioti A, Naklu M, Legakis N, Mitsis F. Microbiological findings of infected root canals and adjacent periodontal pockets in teeth with advanced periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 58: 213-20
- 55 Kerekes K, Olsen I. Similarities in the microfloras of root canals and deep periodontal pockets. *Endod Dent Traumatol* 1992; 61: 1-5
- 56 Dahlén G, Haapasalo M. Microbiology of apical periodontitis. In: *Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis*. Ørstavik D, Pitt Ford TR, Herausgeber. Blackwell Science, Oxford 1998: 106-130
- 57 Fisher LE, Russell RRB. The isolation and characterization of Milleri group streptococci from dental periapical abscesses. *J Dent Res* 1993; 72: 1191-3
- 58 Fabricius I, Dahlén G, Öhman AE, Möller ÅJR. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canal after varied times of closure. *Scand J Dent Res* 1982; 90: 134-44
- 59 Möller ÅJR, Fabricius I, Dahlén G, Öhmann AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue. An experimental study in monkeys. *Scand J Dent* 1981; 89: 475-484
- 60 Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiological analysis of teeth with failed endodontic treatment and outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1998; 85: 86-93
- 61 Bergenholtz G. Microorganisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *Odontol Rev* 1974; 25: 347-58
- 62 Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 257-62
- 63 Chávez de Paz LE, Dahlén G, Molander A, Moeller Á, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J* 2003; 36: 500-8
- 64 Hancock III HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a north american population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 579-86
- 65 Möller ÅJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. *Odontol Tidskr* 1966; 74: 1-380 (suppl.)
- 66 Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbial status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31: 1-7
- 67 Fabricius L, Dahlén G, Holm SE, Möller ÅJR. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. *Scand J Dent Res* 1982; 90: 200-6
- 68 Jung IY, Choi BK, Roh BD, Lee SJ, Lee CY, Park DS. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod* 2000; 26: 599
- 69 Gell GC, Arnold R, Metzger Z. Pathologic outcome of coinfection with *Porphyromonas gingivalis* und *Fusobacterium nucleatum*. *J Endod* 1998; 24: 297 (abstr. PR 29)
- 70 Van Winkelhoff AJ, Kippuw N, De Graaff J. Cross-inhibition between black-pigmented *Bacteroides* species. *J Dent Res* 1987; 66: 1663-7

- 71 Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 522-30
- 72 Ingham HR, Sisson PR, Tharagonnet D, Selkon JB, Codd AA. Inhibition of phagocytosis in vitro by obligate anaerobes. *Lancet* 1977; 1: 1252-4
- 73 Ingham HR, Sisson PR, Middleton RL, Narang HK, Codd AA, Selkon JB. Phagocytosis and killing of bacteria in aerobic and anaerobic conditions. *J Med Microbiol* 1981; 14: 391-9
- 74 Berkiten M, Okar I, Berkiten R. In vitro study of the penetration of *Streptococcus sanguis* and *Prevotella intermedia* strains into human dentinal tubules. *J Endod* 2000; 26: 236-9
- 75 Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66: 1375-9
- 76 Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungus in infected root canal and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* 1995; 11: 6-9
- 77 Gutiérrez JH, Jofré A, Villena F. Scanning electron microscope study on the action of endodontic irrigants on bacteria invading dentinal tubules. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 491-501
- 78 Nissan R, Segal H, Pashley D, Stevens R, Trowbridge H. Ability of bacterial endotoxin to diffuse through human dentin. *J Endod* 1995; 21: 62-4
- 79 Kouchi Y, Ninomiya J, Yasuda H, Fukui K, Moriyama T, Okamoto H. Location of *Streptococcus mutans* in the dentinal tubules of open infected root canals. *J Dent Res* 1980; 59: 2038-2046
- 80 Peters LB. Zur Frage der Infektion von Dentinkanälchen. *Endodontie* 1992; 2: 239-44
- 81 Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentine wall in vitro. *J Dent Res* 1982; 61: 435-8
- 82 Love RM. Regional variation in root dentinal tubule infection by *Streptococcus gordonii*. *J Endod* 1996; 22: 290-3
- 83 Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod* 1997; 23: 725-27
- 84 Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29: 170-5
- 85 Goracci G, Mori G. Micromorphological aspects of dentin. *Minerva Stomatol* 1995; 44: 377-87
- 86 Holland GR. Extensive and coincident side branching of dentinal tubules. *Anat Anz* 1982; 28: 171-78
- 87 Mjor IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 401-12
- 88 Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1991; 7: 226-9

- 89 Toda Y, Kageyama M, Nagai S, Miyazaki S, Tagaki H, Sigisawa H, Takehana S. Scanning electron microscopic observation of dentinal tubules in interglobular dentin. *J Nihon Univ Sch Dent* 1981; 23: 71-8
- 90 Adriaens PA, de Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentine of periodontally diseased teeth in humans. *J Periodontol* 1988; 59: 222-30
- 91 Ketterl W. Studie über das Dentin der permanenten Zähne des Menschen. *Stoma* 1961; 14: 1.Teil: 79-96, 2.Teil: 148-163
- 92 Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976; 21: 355-62
- 93 Tidmarsh BG, Arrowsmith MG. Dentinal tubules at the root ends of apicected teeth: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1989; 22: 184-9
- 94 Safavi KE, Spangberg LSW, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 1990; 16: 207-10
- 95 Leonardo MR, Rossi MA, Silva LAB, Ito IY, Bonifácio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod* 2002; 28: 815-8
- 96 Nakano-Hasegawa M, Yamazaki S, Kaned Y, Takizawa H, Maeda N, Nakamura J. The formation of biofilms by microorganisms isolated from infected root canals. *J Endod* 1999; 25: 299, Abstr. PR5
- 97 Deretic V, Schurr MJ, Boucher JC, Martin DW. Conversion of *Pseudomonas aeruginosa* to mucoidy in cystic fibrosis: environmental stress and regulation of bacterial virulence by alternative sigma factors. *J Bacteriol* 1994; 176: 2773-2780
- 98 Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EB. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280: 295-298
- 99 Davies DG, Chakrabarty AM, Geesey GG. Exopolysaccharide production in biofilms: substratum activation of alginate gene expression by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 1181-1186
- 100 Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell DE, Korber DR, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 1994; 176: 2137-42
- 101 Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-745
- 102 Barnett F, Axelrod P, Tronstad L, Slots J, Graziani A, Talbot G. Ciprofloxacin treatment of periapical *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 132-7
- 103 Cook GS, Costerton JW, Lamot RJ. Biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus gordonii*. *J Periodont Res* 1998; 33: 323-7
- 104 Chávez de Paz Villanueva LE. *Fusobacterium nucleatum* in endodontic flare-ups. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 179-83
- 105 Siqueira JF, Uzeda M, Fonseca MEF. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod* 1996; 22: 308-10

- 106 Siqueira JF, Uzeda M. Disinfection by Calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod* 1996; 22: 674-6
- 107 Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod* 2002; 28: 679-83
- 108 Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* 2000; 26: 593-5
- 109 Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J* 1996; 29: 235-41
- 110 Smith JJ, Wayman BE. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. *J Endod* 1986; 12: 54-8
- 111 Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2000; 26: 695-8
- 112 Watts CM, Baumgartner JC, Xia T. Detection of *Candida albicans* in infected root canals using PCR. *J Dent Res* 2000; 79: 157 (Spec. Iss. Abstr.110)
- 113 Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990; 16: 580-8
- 114 Weine FS. Endodontic therapy. In: *Endodontics*. Weine FS, Herausgeber. CV Mosby, St.Louis 1989: 222-382
- 115 Fischer G. Über die feinere Anatomie der Wurzelkanäle menschlicher Zähne. *Dtsch Monatsschr Zahnheilk* 1907; 25: 544-552
- 116 Fischer G. Der heutige Stand der Wurzelbehandlung mit Rücksicht auf die feinere Anatomie menschlicher Wurzelkanäle insbesondere am Foramen apicale. *Dtsch Monatsschr Zahnheilk* 1912; 30: 81-111
- 117 Hess WL. Zur Anatomie der Wurzelkanäle des menschlichen Gebisses. *Schweiz Vierteljahresschr Zahnheilk* 1917; 27: 1-53
- 118 Meyer W, Scheele E. Die Anatomie der Wurzelkanäle. *Dtsch Zahnärztl Z* 1954; 9: 497-500
- 119 Gutiérrez JH, García J. Microscopic and macroscopic investigation on results of mechanical preparation of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1968; 25: 108-116
- 120 Walton RE. Histological evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. *J Endod* 1976; 2: 304-311
- 121 Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1975; 1: 127-35
- 122 Çalışkan MK, Pehlivan Y, Sepetiçioğlu F, Türkün M, Tuncer SS. Root canal morphology of human permanent teeth in a Turkish population. *J Endod* 1995; 21: 200-4

- 123 Weller RN, Niemczyk SP, Kim S. Incidence and position of the canal isthmus. Part 1. Mesio Buccal root of the maxillary first molar. *J Endod* 1995; 21: 380-3
- 124 Burns RC. Access openings and tooth morphology. In: Pathways of the pulp. Cohen S, Burns RC, Herausgeber. Mosby, St. Louis 1987: 100-55
- 125 Metzler RS, Montgomery S. The effectiveness of ultrasonics and calcium hydroxide for the debridement of human mandibular molars. *J Endod* 1989; 15: 373-8
- 126 Mizrahi SJ, Tucker JW, Seltzer S. A scanning electron microscopic study of the efficacy of various endodontic instruments. *J Endod* 1975; 1: 324-33
- 127 Kirkham DB. The location and incidence of accessory pulpal canals in peridontal pockets. *J Am Dent Assoc* 1975; 91: 353-6
- 128 Schroeder HE. Die Auswirkungen der Furkationsmorphologie auf den Parodontitisbefall. *Dtsch Zahnärztl Z* 1991; 46: 324-7
- 129 Gutmann JL. Prevalence, location, and patency of accessory canals in the furcation region of permanent molars. *J Periodontol* 1978; 49: 21-6
- 130 Pineda F, Kuttler Y. Mesiodistal and buccolingual radiographic investigation of 7275 root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972; 33: 101-110
- 131 Chapman CE. A microscopic study of the apical region of human anterior teeth. *Br J Endod Soc* 1969; 3: 52-4
- 132 Marais JT. Cleaning efficacy of a new root canal irrigation solution: a preliminary evaluation. *Int Endod J* 2000; 33: 320-25
- 133 Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 142-9
- 134 Hobson P. An investigation into the bacteriological control of infected root canals. *Br Dent J* 1959; 106: 63-70
- 135 Nagaoka S, Miyazaki Y, Liu HJ, Iwamoto Y, Kitano M, Kawagoe. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. *J Endod* 1995; 21: 70-73
- 136 Pérez F, Rochd T, Lodter JP, Calas P, Michael G. In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 97-103
- 137 Koçkapan C. Die Bedeutung der Schmierschicht bei der Wurzelkanalbehandlung - eine Übersicht. *Endodontie* 1995; 4: 33-48
- 138 Mader C, Baumgartner JC, Peters D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 1984; 10: 477-83
- 139 Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial penetration of human dentin in vitro. *J Dent Res* 1980; 59: 1398-1403
- 140 Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: Effect of smearlayer. *J Endod* 1994; 20: 78-82
- 141 Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The Smearlayer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28: 141-48

- 142 Moodnik RM, Dorn SO, Feldman MJ, Levey M, Borden BG. Efficiency of biomechanical instrumentation: a scanning electron microscope study. *J Endod* 1976; 2: 261-6
- 143 Buck R, Eleazer PD, Staat RH. In vitro disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants. *J Endod* 1999; 25: 786-8
- 144 Oksan T, Aktener BO, Sen BH, Tezel H. The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 1993; 26: 301-5
- 145 Gençoğlu N, Samani S, Günday M. Evaluation of sealing properties of thermafil and ultrafil technique in the absence or presence of smearlayer. *J Endod* 1993; 19: 599-603
- 146 Wallhäußer KH. Desinfektion. In: *Praxis der Sterilisation, Desinfektion – Konservierung: Keimidentifizierung - Betriebshygiene*. Wallhäußer KH, Herausgeber. Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1995: 388-416
- 147 Pschyrembel, *Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter Verlag, Berlin 2004: 387
- 148 Pschyrembel, *Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter Verlag, Berlin 2004: 1732
- 149 Botzenhart, K. Heeg, P. Sterilisation und Desinfektion. In: *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*. Brandis H, Köhler W, Eggers HJ, Pulverer G, Herausgeber. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1994: 291-303
- 150 Bößmann K. Arbeitsmittel zur Infektionabwehr. In: *Kompandium der zahnärztlichen Hygiene*. Bößmann K, Heinenberg BJ, Herausgeber. Quintessenz Verlag, Berlin 1990: 19-43
- 151 Widmer HR. Desinfektion und Desinfektionsmittel. In: *Mikrobiologie und Infektologie für Ärzte und Apotheker. Prophylaxe und Antibiotikatherapie – Desinfektion und Sterilisation*. Widmer HR, Herausgeber. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1992: 141-179
- 152 Moritz A, Schoop U, Kluger W, Jakolitsch S, Speer W. Laser in der Endodontie. *Quintessenz* 2001; 52: 153-61
- 153 Gutknecht N, Van Gogswaardt D, Conrads G, Apel C, Schubert C, Lampert F. Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. *J Clin Laser Med Surg* 2000; 18: 57-60
- 154 Martin H, Cunningham W. Endosonic endodontics: the ultrasonic synergistic system. *Int Dent J* 1984; 34: 198-203
- 155 Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: A comparative SEM investigation. *J Endod* 1997; 23: 301-6
- 156 Lussi A, Nussbächer U, Grosrey J. A novel noninstrumented technique for cleaning the root canal system. *J Endod* 1993; 19: 549-53
- 157 Klimm W. Wurzelkanalbehandlung im bleibenden Gebiss. In: *Endodontologie: Grundlagen und Praxis*. Klimm W, Herausgeber. Dt. Zahnärzte-Verlag, Köln 2003: 211-35

- 158 Shih M, Marshall FJ, Rosen S. The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970; 29: 613-9
- 159 Ingle JI, Zeldow BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J Am Dent Ass* 1958; 57:471-6
- 160 Dalton BC, Orstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod* 1998; 24: 763-67
- 161 Seichter U, Van der Schelling D. Bakteriologische Untersuchungen zur desinfizierenden Wirkung von Chlorhexidin als Spülmittel bei der Wurzelkanalbehandlung. *Dtsch Zahnärztl Z* 1987; 42: 763-66
- 162 Ørstavik D, Kerekes K, Molven O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxid dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod J* 1991; 24: 1-7
- 163 Stewart GG, Kapsimalas P, Rappaport H. EDTA and urea peroxide for root canal preparation. *J Am Dent Assoc* 1969; 78: 335-8
- 164 Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg* 1982; 53: 518-23
- 165 Schäfer E, Bößmann K. Antimikrobielle Wirksamkeit von Chlorxylenol und Chlorhexidin zur Behandlung infizierter Wurzelkanäle. *Dtsch Zahnärztl Z* 2000; 55: 671-9
- 166 Spångberg L. Intracanal medications. In: *Endodontics*. Ingle JI, Bakland LK, Herausgeber. Williams and Wilkins, Baltimore 1994: 627-40
- 167 Coolidge ED. The diagnosis and treatment of conditions resulting from diseased dental pulps. *J Am Dent Assoc* 1919; 6: 337-49
- 168 Molander A, Reit C, Dahlén G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. *Endod Dent Traumatol* 1999; 15: 205-9
- 169 Klimm W, Krause L, Krause P, Waller H. Zur antimikrobiellen Wirksamkeit verschiedener Wurzelkanalantiseptika. *Stomatol DDR* 1989; 39:73-7
- 170 Takakazu Y, Shibata T, Shinohara T, Gomyo S, Sekine I. Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. *J Endod* 1995; 21: 592-3
- 171 Kühlfluck I. Untersuchungen zur Eignung von Peressigsäure zur Wurzelkanal-desinfektion. Dissertation. Universität Schwerin, Schwerin 1978
- 172 Walker A. A definite and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Dent Assoc* 1936; 23: 1418-25
- 173 Gutmann J, Dumsha T. Cleaning and shaping the root canal system. In: *Pathways of the pulp*. Cohen S, Burns RC, Herausgeber. Mosby, St. Louis 1987: 156-82
- 174 Pauling L. Sauerstoffsäuren und Oxyde des Chlors. In: *Chemie - Eine Einführung*. Pauling L, Helfferich F, Herausgeber. Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1964: 231-2
- 175 Hülsmann M. Die Aufbereitung des Wurzelkanals. In: *Endodontie*. Heidemann D, Herausgeber. Urban & Fischer, München 2001: 79-122

- 176 Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int End J* 1982; 15: 187-96
- 177 Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod* 1978; 4: 60-4
- 178 Thé SD. The solvent action of sodium hypochlorite on fixed and unfixed necrotic tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 47: 558-61
- 179 Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. *J Endod* 1981; 7: 466-9
- 180 Dychdala GR. Chlorine and chlorine compounds. In: *Disinfection, sterilization, and preservation*. Block SS, Herausgeber. Lea & Febiger, Philadelphia 1991: 133-5
- 181 Cvek M, Nord CE, Hollender L. Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root. A clinical and microbiologic study. *Odont Revy* 1976; 27: 1-10
- 182 Siqueira JF, Batista MMD, Fraga RC, Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod* 1998; 24: 414-6
- 183 Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod* 1995; 21: 513-5
- 184 Harrison JW, Hand RE. The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod* 1981; 7: 128-32
- 185 Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *J Endod* 1985; 18: 35-40
- 186 Olgart LG. Bacteriological sampling from root canals directly after chemomechanical treatment: A clinical and bacteriological study. *Acta Odontol Scand* 1969; 27: 91-103
- 187 Becker GL, Cohen S, Borer E. The sequellae of accidently injecting sodium hypochlorite beyond the root apex. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 38: 633-8
- 188 Harris WE. Unusual endodontic complication. Report of a case. *J Am Dent Assoc* 1971; 83: 358-63
- 189 Becking AG. Complication in the use of sodium hypochlorite during endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 346-8
- 190 Ehrich DG, Brian JD, Walker WA. Sodium hypochlorite accident; inadvertent injection into the maxillary sinus. *J Endod* 1993; 19: 180-2
- 191 Lamers AC, Van Mullem PJ, Simon M. Tissue reaction to sodium hypochlorite and iodine potassium iodide under clinical conditions in monkey teeth. *J Endod* 1980; 6: 788-92
- 192 Thé SD, Maltha JC, Plasschaert AJM. Reactions of guinea pig subcutaneous connective tissue following exposure to sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 49: 460-6
- 193 McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1: 238-42

- 194 Goldman M, Glodman LB, Cavadri R, Bogis J, Lin PS. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electronmicroscopic study: part.2. *J Endod* 1982; 8: 478-92
- 195 Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. *J Endod* 1983; 9: 137-42
- 196 Wayman BE, Kopp WM, Pinero GJ, Lazzari EP. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod* 1979; 5: 258-60
- 197 Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod* 1977; 53: 101-5
- 198 Nygaard-Östby B. Chelation in root canal therapy. Ethylenediaminetetraacetic acid for cleaning and widening of root canals. *Odontol Tidskr* 1957; 65: 3-11
- 199 O'Connell MS, Morgan LA, Beeler WJ, Baumgartner JC. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endod* 2000; 26: 739-43
- 200 Fraser JG. Chelating agents: Their softening effect on root canal dentin. *Oral Surg* 1974; 37: 803-11
- 201 Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML, Sinai IH. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *J Endod* 1984; 10: 359-63
- 202 Marion D, Jean A, Hamel H, Kerebel L, Kerebel B. Scanning electron microscopic study of odontoblasts and circumpulpal dentin in a human tooth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 473-8
- 203 Hottel TL, El-Refai NY, Jones JJ. A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. *J Endod* 1999; 25: 716-7
- 204 Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987; 13: 147-57
- 205 Hampson EL, Atkinson AM. The relation between drugs used in root canal therapy and the permeability of the dentine. *Br Dent J* 1964; 116: 546-50
- 206 Torneck CD. Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. *Oral Surg* 1961; 14: 730-47
- 207 Patterson SS. In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetraacetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1963; 16:83-103
- 208 Bence R, Madonia JV, Weine FS, Smulson MH. A microbiologic evaluation of endodontic instrumentation in pulpless teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973; 35: 676-83
- 209 Yoshida T, Shibata T, Shinohara T, Gomyo S, Sekine I. Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. *J Endod* 1995; 21: 592-3
- 210 Dewald W. Erdalkalimetalle: Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium, Barium, (Radium). In: *Lehrbuch der Chemie für Ingenieurschulen*. Dewald W, Herausgeber. Verlag R. Oldenburg, München, Wien 1967: 273-9
- 211 Pauling L. Die Erdalkalimetalle. In: *Chemie - Eine Einführung*. Pauling L, Helfferich F, Herausgeber. Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1964: 112-6

- 212 Henning H-G. II. Hauptgruppe (Magnesium, Calcium, Barium). In: Chemisches Grundwissen für Mediziner: Ein Praktikums-u.Übungsbuch. Henning H-G, Jugelt W, Herausgeber. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1987: 74-6
- 213 Porkaew P, Retief DH, Barfield RD, Lacefield WR, Soong S. Effects of calcium hydroxide paste as an intracanal medicament on apical seal. J Endod 1990; 16: 369-74
- 214 Foreman PC, Barnes IE. A review of calcium hydroxide. Int Endod J 1990; 23: 283-97
- 215 Leonardo CD, Leal JM, Filho APS. Pulpectomy: immediate root canal filling with calcium hydroxide. Oral Surg 1980; 49: 441-50
- 216 Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991; 24: 119-25
- 217 Heithersay GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J Br Endod Soc 1975; 8: 74-93
- 218 Rotstein I, Friedman S, Katz J. Apical closure of mature roots with the use of calcium hydroxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990; 70: 656-60
- 219 Granath LE. Några synpunkter på behandlingen av traumatiserade incisiver på barn. Odont Revy 1959; 10: 272-86
- 220 Martin DM, Crabb HSM. Calcium hydroxide in root canal therapy. A review. Br Dent J 1977; 142: 277-83
- 221 Frank AL, Weine FS. Nonsurgical therapy for the perforative defect of internal resorption. J Am Dent Assoc 1973; 87: 863-8
- 222 Andreasen JO. Treatment of fractured and avulsed teeth. J Dent Child 1971; 38: 29-48
- 223 Anthony DR, Gordon TM, Del Rio CE. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982; 62: 560-65
- 224 Pitt Ford TR, Rowe AHR. A new root canal sealer based on calcium hydroxide. J Endod 1989; 15: 286-9
- 225 Cvek M. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. IV Periodontal healing and closure of the root canal in the coronal fragment of teeth with intraalveolar fracture and vital apical fragment. A follow-up. Odontol Revy 1974; 25: 239-6
- 226 Proell F. Über die Eigenschaften des Calxyls und seine Vorzüge vor anderen in der zahnärztlichen Praxis angewandten Medikamenten. Zahnärztl Rundschau 1949; 58: 255-9
- 227 Gutmann JL. History. In: Pathways of the pulp. Cohen S, Burns RC, Herausgeber. Mosby, St. Louis 1987: 756-82
- 228 Nygren JA. Rådgivare angående bästa sättet att vårda och bevara tändernas friskhet. 1838; Stockholm
- 229 Hermann BW. Dentinobliteration der Wurzelkanäle nach Behandlung mit Calcium. Zahnärztl Rdsch 1930; 21: 888-99

- 230 Hu CC, Zhang C, Qian Q, Tatum NB. Reparative dentin formation in rat molars after direct capping with growth factors. *J Endod* 1998; 24: 744-51
- 231 Cvek M, Granath L, Cleaton-Jones P, Austin J. Hard tissue barrier formation in pulpotomized monkey teeth capped with cyanoacrylate or calcium hydroxide for 10 and 60 minutes. *J Dent Res* 1987; 66: 1166-74
- 232 Schröder U, Granath L. Early reaction of intact human teeth to calcium hydroxide following experimental pulpotomy and its significance to the development of hard tissue barrier. *Odont Revy* 1971; 22: 379-96
- 233 Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res* 1985; 64 (spec. iss.): 541-8
- 234 Pisanti S, Sciaky I. Origin of calcium in the repair wall after pulp exposure in the dog. *J Dent Res* 1964; 43: 641-4
- 235 Stewart G. Ca(OH)₂-induced root healing. *J Am Dent Assoc* 1975; 90: 793-800
- 236 Mitchell DF, Shankwalker GB. Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissue and bone wounds. *J Dent Res* 1958; 37: 1157-63
- 237 Tepel J, Darwisch M, Hoppe W. Reaction of inflamed periapical tissue to intracanal medicaments and root canal sealers. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10: 233-8
- 238 Cvek M, Sundström B. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. *Odont Revy* 1974; 25: 379-92
- 239 Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-25
- 240 Dahlén G, Möller AJR. Microbiology of endodontic infections. In: Contemporary oral microbiology and immunology. Slots J, Taubman MA, Herausgeber. CV Mosby, St. Louis 1992: 444-75
- 241 Siqueira JF, Uzeda M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. *J Endod* 1998; 24: 663-5
- 242 Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981; 7: 17-21
- 243 Nerwich A, Figdor D, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* 1993; 19: 302-6
- 244 Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod* 1988; 14: 125-7
- 245 Holland R, Murata SS, Dezan E, Garlipp O. Apical leakage after root canal filling with an experimental calcium hydroxide gutta-percha point. *J Endod* 1996; 22: 71-73
- 246 Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Decoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *J Dent* 1998; 26: 585-9
- 247 Kontakiotis EG, Wu MK, Wesselink PR. Effect of calcium hydroxide dressing on seal of permanent root filling. *Endod Dent Traumatol* 1997; 13: 281-4

- 248 Stuart KG, Miller CH, Brown CE, Newton CW. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 101-4
- 249 Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod* 2000; 26: 751-5
- 250 Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1: 170-5
- 251 Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. *J Endod* 1998; 24: 15-7
- 252 Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. *J Endod* 1999; 25: 416-8
- 253 Ruoff KL. Recent taxonomic changes in the genus enterococcus. *Eur J Clin Microbiol* 1990; *Inf. Dis.*9: 75-99
- 254 Stevens RH, Grossman LI. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. *J Endod* 1983; 9: 372-4
- 255 Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod* 2002; 28: 689-93
- 256 Han GY, Park SH, Yoon TC. Antimicrobial activity of Ca(OH)₂ containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* 2001; 27: 328-32
- 257 Almroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: An in vitro study. *J Endod* 2002; 28: 163-7
- 258 Morrison DC, Ryan JL. Endotoxins and disease mechanisms. *Ann Rev Med* 1987; 38: 417-32
- 259 Wang CY, Stashenko P. Kinetics of bone-resorbing activity in developing periapical lesions. *J Dent Res* 1991; 70: 1362-6
- 260 Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF- α release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *Escherichia coli* LPS. *Int Endod J* 1997; 30: 155-9
- 261 Olsen MH, DiFiore PM, Dixit SN, Veis A. The effects of calcium hydroxide inhibition on LPS induced release of IL-1 β from human monocytes in whole blood. *J Endod* 1999; 25: 289 (abstr. OR 30)
- 262 Levin LG, Trope M, Offenbacher S, Wang CY, Reisner HM, Baldwin AS. Inhibition of LPS-mediated NF- κ B activation by calcium hydroxide. *J Dent Res* 1997; 76: 306 (abstr. 2334)
- 263 Jiang J, Zuo J, Chen SH, Holliday LS. Calcium hydroxide reduces lipopolysaccharide-stimulated osteoclast formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95: 348-54
- 264 Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993; 19: 76-78
- 265 Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod* 1994; 20: 127-9

- 266 Tanomaru JMG, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Filho B, Silva LAB. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003; 36: 733-9
- 267 Produktkatalog 2001/2002 der Firma Roeko GmbH & Co.KG, D-89122 Lange-
nau: 3-4
- 268 Larsen MJ, Hörsted-Bindslev P. A laboratory study evaluating the release of hydroxyl ions from various calcium hydroxide products in narrow root canal like tubes. *Int Endod J* 2000; 33: 238-42
- 269 Distler W, Petschelt A. Über die Freisetzung von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ aus Guttaperchaspitzen. *Dtsch Zahnärztl Z* 1997; 57: 199-201
- 270 Economides N, Koulaouzidou EA, Beltes P, Kortsaris AH. In vitro release of hydroxyl ions from calcium hydroxide gutta-percha points. *J Endod* 1999; 25: 481-2
- 271 Ardeschna SM, Qualtrough AJE, Worthington HV. An in vitro comparison of pH changes in root dentine following canal dressing with calcium hydroxide points and a conventional calcium hydroxide paste. *Int Endod J* 2002; 35: 239-44
- 272 Schäfer E, Al Behaissi A. pH changes in root dentin after root canal dressing with gutta-percha points containing calcium hydroxide. *J Endod* 2000; 26: 665-7
- 273 Pérez F, Franchi M, Péli JF. Effect of calcium hydroxide form and placement on root dentine pH. *Int Endod J* 2001; 34: 17-23
- 274 Ho CH, Khoo A, Tan R, Teh J, Lim KC, Sae-Lim V. pH changes in root dentin after intracanal placement of improved calcium hydroxide containing gutta-percha points. *J Endod* 2003; 29: 4-8
- 275 Azabal-Arroyo M, Menasalvas-Ruiz G, Martín-Alonso J, Arroquia JJ, Vegadel Barrio JM. Loss of hydroxyl ions from gutta-percha points with calcium hydroxide in their composition: An in vivo study. *J Endod* 2002; 28: 697-8
- 276 Lueders AK, Werner VKE, Raab WHM. Alkaline properties and antimicrobial effect of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -containing guttapercha points and $\text{Ca}(\text{OH})_2$. *J Dent Res* 1999; 78: 385 (IADR-abstr. 2239)
- 277 Lueders AK, Raab WHM. Studies on the antibacterial activity of calcium hydroxide containing guttapercha points and $\text{Ca}(\text{OH})_2$. *J Dent Res* 1998; 77: 668 (IADR-abstr.296)
- 278 Podbielski A, Boeckh C, Haller B. Growth inhibitory activity of gutta-percha points containing root canal medications on common endodontic bacterial pathogens as determined by an optimized quantitative in vitro assay. *J Endod* 2000; 26: 398-403
- 279 Al-Nazhan S. Antimicrobial activity of extracts of calcium hydroxide points. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 593-5
- 280 Gjermo P, Rølla G, Årskaug L. Effect on dental plaque formation and some in vitro properties of 12 bis-biguanides. *J Periodont Res* 1973; 8: 81-88
- 281 Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidin. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57: 370-7
- 282 Foulkes DM. Some toxicological observations on chlorhexidine. *J Periodontol Res* 1973; 8: 55-7

- 283 Doebbeling BN, Stanley GL, Sheetz CT, Pfaller MA, Houston AK, Annis L, Li N, Wenzel RP. Comparative efficacy of alternative hand-washing agents in reduction nosocomial infections in intensive care units. *N Engl J Med* 1992; 327: 88-93
- 284 Beeuwkes H. The use of chlorhexidine. *Antonie van Leeuwenhoek* 1958; 24: 49-62
- 285 Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986; 112: 863-9
- 286 Nürnberg A. Technologie der Konservierungsmittel. *Acta Pharm Technol* 1977; 23: 111-35
- 287 Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973; 8: 68-75
- 288 Rølla G, Løe H, Rindom Schiøtt C. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodont Res* 1970; 5: 90-5
- 289 Magnusson B, Heyden G. Autoradiographic studies of ¹⁴C-chlorhexidine given orally in mice. *J Periodont Res* 1973; 8: 49-54
- 290 Winrow MJ. Metabolic studies with radiolabelled chlorhexidine in animals and man. *J Periodont Res* 1973; 8: 45-8
- 291 Haugen E, Johansen JR. Penetration of the oral mucosa by radiolabelled chlorhexidine in the guinea pig. *Acta Odontol Scand* 1975; 33: 365-72
- 292 Davies RM, Hull PS. Plaque inhibition and distribution of chlorhexidine in beagle dogs. *J Periodont Res* 1973; 8: 22-7
- 293 Klimm W, Janz S, Gabert A. Experimentelle Untersuchungen zur Genotoxizität verschiedener Wurzelkanalantiseptika im SOS-Chromotest. *Zahn Mund Kieferheilkd* 1989; 77: 128-30
- 294 Portenier I, Haapasalo H, Ørstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-1 collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod* 2002; 28: 634-7
- 295 Davies GE, Francis AR, Martin FL, Swain R, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyl-diguanido-hexane („Hibitane“). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Brit J Pharmacol* 1954; 9: 192-6
- 296 Hennessey TD. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973;8: 61-7
- 297 Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Løe H, Rindom Schiøtt C. Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. *J Periodont Res* 1970; 5: 177-8
- 298 Løe H, Rindom Schiøtt C, Glavind L, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man - I. General design and clinical effects. *J Periodont Res* 1976; 11: 135-44
- 299 Fløtra L, Gjermo P, Rolla G. Chlorhexidine mouthrinses: Four month study of 50 soldiers. *J Dent Res* 1971; 50: 706 (abstr.5)
- 300 Fløtra L. Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodont Res* 1973; 8: 41-44

- 301 Løe H. Does chlorhexidine have a place in the prophylaxis of dental diseases? *J Periodont Res* 1973; 8: 93-9
- 302 Davies RM, Børglum Jensen S, Rindom Schiøtt C, Løe H. The effect of topical application of chlorhexidine on the bacterial colonization of the teeth and gingiva. *J Periodont Res* 1970; 5: 96-101
- 303 Løe H, Rindom Schiøtt C. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res* 1970; 5: 79-83
- 304 Nordbø H. Discoloration of human teeth by combination of chlorhexidine and aldehydes or ketones in vitro. *Scand J Dent Res* 1971; 79: 356-61
- 305 Hjeljord LG, Rølla G, Bonesvoll P. Chlorhexidine-protein interactions. *J Periodont Res* 1973; 8: 11-6
- 306 Bonesvoll P, Lokken P, Rolla G, Paus PN. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 209-12
- 307 Suci PA, Tyler BJ. Action of chlorhexidine digluconate against yeast and filamentous forms in an early-stage candida albicans biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3522-31
- 308 Ferguson JW, Sarich SJ, Hatton JF, Gillespie MJ. Efficacy of common intracanal medicaments against candida albicans. *J Dent Res* 2000; 79: 568 (spec. iss. abstr. 3400)
- 309 Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1993; 9: 243-8
- 310 Parson GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Up-take and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 49: 455-9
- 311 Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedmann S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000; 26: 315-7
- 312 Hamp SE, Emilson CG. Some effects of chlorhexidine on the plaque flora of the beagle dog. *J Periodont Res* 1973; 8: 28-35
- 313 Wade WG. In vitro activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. *J Periodontol* 1989; 60: 521-5
- 314 Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod* 1994; 20: 276-8
- 315 Jung S, Mohorn S, Orstavik D. Bacterial colonization of dentin following short-term treatment with chlorhexidine. *J Endod* 1995; 21: 232 (PC 6)
- 316 Turesky S, Warner V, Lin PS, Soloway B. Prolongation of antibacterial activity of chlorhexidine adsorbed to teeth. *J Periodontol* 1977; 48: 646-9
- 317 White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod* 1997; 23: 229-31

- 318 Rindom Schiøtt C, Briner WW, Kirkland JJ, Løe H. Two years oral use of chlorhexidine in man - III. Changes in sensitivity of the salivary flora. *J Periodont Res* 1976; 11: 153-7
- 319 Barbosa CAM, Gonçalves RB, Siqueira JF, De Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated para-mono-chlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod* 1997; 23: 297-300
- 320 Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod* 1982; 8: 200-4
- 321 Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24: 472-6
- 322 Klimm W, Zeumer H, Kloss HJ, Wildführ W. Die Anwendung von Chlorhexidin bei der Behandlung problematischer Fälle von Periodontitis apicalis chronica. Vorläufige Mitteilung. *Stomatol DDR* 1985; 35: 388-95
- 323 Cervone F, Tronstad L, Hammond B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6: 33-36
- 324 Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res* 1977; 8: 255-65
- 325 Siqueira JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997; 23: 167-9
- 326 D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *J Endod* 1999; 25: 351-3
- 327 Denton GW. Chlorhexidine. In: Disinfection, sterilization, and preservation. Block SS, Herausgeber. Lea & Febiger, Philadelphia 1991: 276-7
- 328 Gjermo P, Baastad KL, Rølla G. The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J Periodont Res* 1970; 5: 102-9
- 329 Rindom Schiøtt C. Effect of chlorhexidine on the microflora of the oral cavity. *J Periodont Res* 1973; 8: 7-11
- 330 Gjermo P, Bonesvoll P, Hjeljord LG, Rolla G. Oral retention of chlorhexidine and plaque-inhibiting effect in vivo. *J Dent Res* 1974; 53: 145 (IADR abstr. 361)
- 331 Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, Ghannoum MA. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res* 2001; 80: 903-8
- 332 Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Filho PN, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2 % chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999; 25: 167-71
- 333 Kaufman AY, Keila S. Hypersensitivity to sodium hypochlorite. *J Endod* 1989; 15: 224-6

- 334 Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JAP. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J* 2004; 37: 38-41
- 335 Klimm W. Endodontische Therapie. In: *Endodontologie. Grundlagen und Praxis*. Klimm W, Herausgeber. Dt. Zahnärzte-Verl., Köln 2003: 179-294
- 336 Klimm W, Zeumer H, Kloss HJ, Natusch I, Wildführ W. Chlorhexidin in der therapeutischen Trias des infizierten Wurzelkanals und seiner Folgeerkrankungen. *Z Stomatol* 1989; 86: 131-8
- 337 Klimm W, Pfister W, Eick S, Koch R. Antimicrobial effect of low concentrations of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *J Dent Res* 2001; 80: 722 (abstr. 1565)
- 338 Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 618-24
- 339 Aibel K, Stevens R. Effect of chlorhexidine on IL-6 induction by LPS. *J Endod* 1999; 25: 282 (spec.iss. abstr.OK 1)
- 340 Buck RA, Cai J, Eleazer PD, Staat RH, Hurst HE. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J Endod* 2001; 27: 325-7
- 341 Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2003; 36: 267-75
- 342 Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedmann S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod* 2000; 26: 652-5
- 343 Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, Lawrence HP, Friedmann S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 240-5
- 344 Yamashita JC, Tanomaru M, Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root-canal irrigant. *Int Endod J* 2003; 36: 391-4
- 345 Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod* 2004; 30: 413-7
- 346 Podbielski A, Spahr A, Haller B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. *J Endod* 2003; 29: 340-5
- 347 Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003; 29: 338-9
- 348 Huang J, Grad HA, Komorowski R, Wong HL, Wu XY, Friedmann S. Development of chlorhexidine prolonged release devices for endodontic therapy. *J Dent Res* 1998; 77: 747 (IADR abstr. 927)

- 349 Lin S, Zuckerman O, Weiss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod* 2003; 29: 416-8
- 350 Lui JN, Lim-Sae V, Song KP, Chen NN. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta percha points on *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004; 37: 105-13
- 351 Wolfsohn BC. The role of hydrocortisone in the control of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1954; 7: 314-21
- 352 Marshall JG, Walton RE. The effect of intramuscular injection of steroid on post-treatment endodontic pain. *J Endod* 1984; 10: 584-8
- 353 Moskow A, Morse DR, Krasner P, Furst ML. Intracanal use of a corticosteroid solution as an endodontic anodyne. *J Endod* 1984; 58: 600-4
- 354 Sinkford JC, Harris SC. The case against topical use of adrenocorticosteroids in dentistry. *J Am Dent Ass* 1964; 68: 765-7
- 355 De Deus QD, Han SS. The fate of H³-cortisone applied on the exposed dental pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1967; 24: 404-18
- 356 Page DO, Trump GN, Schaefer LD. Pulpal studies. I. Passage of ³H-tetracycline into circulatory system through rat molar pulps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973; 35: 555-62
- 357 Abbott PV. Systemic release of corticosteroids following intradental use. *Int Endod J* 1992; 25: 189-91
- 358 Abbott PV, Heithersay GS, Hume WR. Release and diffusion through human tooth roots in vitro of corticosteroid and tetracycline trace molecules from Ledermix paste. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 55-62
- 359 Abbott PV, Hume WR, Heithersay GS. Barriers to diffusion of Ledermix paste in radicular dentine. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5: 98-104
- 360 Abbott PV, Hume WR, Heithersay GS. Effects of combining Ledermix and calcium hydroxide pastes on the diffusion of corticosteroid and tetracycline through human tooth roots in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5: 188-92
- 361 Baumann MA. Die Wurzelkanalfüllung. In: Endodontie. Heidemann D. Herausgeber. Urban & Fischer, München 2001: 123-64
- 362 Schroeder A. Corticosteroids in endodontics. *Journal of oral Therapeutics and Pharmacology* 1965; 2: 171-9
- 363 Blitzer MH. Root canal therapy: Use of a combination of antibacterial agents, hydrocortisone and hyaluronidase. *NY Dent J* 1956; 22: 503-8
- 364 Mata E, Koren LZ, Morse DR, Sinai ICH. Prophylactic use of penicillin V in teeth with necrotic pulps and asymptomatic periapical radiolucencies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 60: 201-7
- 365 Abbott PV, Hume WR, Pearman JW. Antibiotics and endodontics. *Aust Dent J* 1990; 35: 50-60
- 366 Barker GR, Qualtrough AJE. An investigation into antibiotic prescribing at a dental teaching hospital. *Br Dent J* 1987; 162: 303-6

- 367 Burke JH, Shipman C. Effect of systemic tetracycline on endodontic cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970; 30: 276-83
- 368 v. Bruchhausen F, Stahlmann R. Therapie mit Chemotherapeutika und Antibiotika (Infektionen). Bakterielle Erkrankungen. In: *Pharmakotherapie, klinische Pharmakologie*. Fülgraf G, Palm D, Herausgeber. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1997: 140-57
- 369 Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983; 54: 580-5
- 370 Bjorvatn K, Skaug N, Selvig KA. Tetracycline-impregnated enamel and dentin: duration of antimicrobial capacity. *Scand J Dent Res* 1985; 93: 192-7
- 371 Lin S, Levin L, Peled M, Weiss EI, Fuss Z. Reduction of viable bacteria in dentinal tubules treated with clindamycin or tetracycline. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 751-6
- 372 Molander A, Reit C, Dahlén G. Microbiological evaluation of clindamycin as a root canal dressing in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1990; 23: 113-8
- 373 Molander A, Dahlén G. Evaluation of the antibacterial potential of tetracycline or erythromycin mixed with calcium hydroxide as intracanal dressing against *Enterococcus faecalis* in vivo. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 744-50
- 374 Schroeder A. Zur Frage der konservativen und chirurgischen Behandlung der Pulpitis. *Zs Stomat* 1962; 59: 81-7
- 375 Abbott PV. In vitro studies of the pharmacodynamics of the active components of Ledermix paste, a corticosteroid-antibiotic root canal dressing material. Adelaide, Australia: University of Adelaide, 1985. MDS thesis
- 376 Sutter VL, Finegold SM. Susceptibility of anaerobic bacteria to twentythree antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1976; 10: 736-52
- 377 Taylor MA, Humen WR, Heithersay GS. Some effects of Ledermix paste and pulp dent paste on mouse fibroblasts and on bacteria in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5: 266-73
- 378 Heling I, Pecht M. Efficacy of Ledermix paste in eliminating *Staphylococcus aureus* from infected dentinal tubules in vitro. *Endod Dental Traumatol* 1991; 7: 251-4
- 379 Guldener PHA. Endodontie - eine Literaturübersicht. II. Teil: Die Wurzelfüllung. *Schweiz Mschr Zahnheilk* 1979; 89: 330-45
- 380 Schroeder A. Cortisone in dental surgery. *Int Dent J* 1962; 12: 356-73
- 381 Heithersay GS. Endodontic treatment in Australia. *Int Endod J* 1984; 17: 125-38
- 382 Ehrmann EH, Messer HH, Adams GG. The relationship of intracanal medications to postoperative pain in endodontics. *Int Endod J* 2003; 36: 868-75
- 383 Ehrmann EH. The effect of triamcinolone with tetracycline on the dental pulp and apical periodontium. *J Prosthet Dent* 1965; 15: 144-52

- 384 Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. *J Endod* 1985; 11: 454-6
- 385 Engström B. On duration of the antibacterial efficiency of four antiseptics used in root canal treatment in situ. *Svensk Tandl T* 1958; 51: 1-6
- 386 Shur AL, Sedgley CM, Fenno JC. The antimicrobial efficacy of "MGP" gutta percha in vitro. *Int Endod J* 2003; 36: 616-21
- 387 Dryden MT, Kim D, Huang GTJ. Antimicrobial effects of gutta percha on oral plaque. *J Endod* 2001; 27: 234 (abstr. PR 10)
- 388 Bruchmiller T, Glickmann GN, Suchina J. Comparative analysis of MGP and standard gutta percha using a bacterial leakage model. *J Endod* 2001; 27: 216 (abstr. OR 8)
- 389 Osetek EM. Endodontic medicaments and irrigating solutions. In: *Clinical pharmacology in dental practice*. Holroyd SV, Wynn RL, Requa-Clark B, Herausgeber. Mosby, St. Louis 1988: 505-19
- 390 Harrison JW, Madonia JV. Antimicrobial effectiveness of paramonochlorophenol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970; 30: 267-75
- 391 Grossman LI. Residual effect in culture medium of camphorated chlorphenol and PBSC. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 104-7
- 392 Wantulok JC, Brown JI. An in vitro study of the diffusibility of camphorated parachlorophenol and metacresylacetate in the root canal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972; 34: 653-60
- 393 Messer HH, Feigal RJ. A comparison of the antibacterial and cytotoxic effects of parachlorophenol. *J Dent Res* 1985; 64: 818-21
- 394 Koontongkaew S, Silapichit R, Thaweboon B. Clinical and laboratory assessments of camphorated monochlorophenol in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 65: 757-62
- 395 Soekanto A, Kasugai S, Mataka S, Ohya Kogura H. Toxicity of camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture. *J Endod* 1996; 22: 284-6
- 396 Chang YC, Huang FM, Cheng MH, Chou LSS, Chou MY. In vitro evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of root canal medicines on human pulp fibroblasts. *J Endod* 1998; 24: 604-6
- 397 Harrison JW, Madonia JV. The toxicity of parachlorophenol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 32: 90-9
- 398 Avny W, Heiman GR, Madonia JV, Wood NK, Smulson MH. Autoradiographic studies of the intracanal diffusion of aqueous and camphorated parachlorophenol in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973; 36: 80-9
- 399 Dankert J, 's-Gravenmade EJ, Wemes JC. Diffusion of formocresol and glutaraldehyd through dentin and cementum. *J Endod* 1976; 2: 42-6
- 400 Fager FK, Messer HH. Systemic distribution of camphorated monochlorophenol from cotton pellets sealed in pulp chambers. *J Endod* 1986; 12: 225-30

- 401 Block RM, Lewis R, Hirsch J, Coffey J, Langeland K. Systemic distribution of [¹⁴C]-labeled paraformaldehyde incorporated within formocresol following pulpotomies in dogs. *J Endod* 1983; 9: 176-89
- 402 Wemes JC, Jansen HWB, Purdell-Lewis D, Boering G. Histologic evaluation of the effect of formocresol and glutaraldehyd on the periapical tissues after endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 54: 329-32
- 403 Kawakami J, Muto T, Shigeo K, Takeda S, Kanazawa M. Tooth exfoliation and necrosis of the crestal bone caused by the use of formocresol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95: 736-8
- 404 Spångberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effect of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973; 36: 856-71
- 405 Vander Wall GL, Dowson J, Shipman CJR. Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972; 33: 230-41
- 406 Akpata S. Effect of endodontic procedures on the population of viable microorganisms in the infected root canal. *J Endod* 1976; 2: 369-73
- 407 Guess WL, Bruch MK. A review of available toxicity data on the topical antimicrobial chloroxylenol. *J Toxicol Cutaneous Ocul Toxicol* 1986; 5: 233-62
- 408 Holland R, Souza V, Nery MJ, Mello W, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA. A histological study of the effect of calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth of dogs. *J Br Endod Soc* 1979; 12: 15-23
- 409 Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS, Leonardo RT, Consolaro A. Effect of intracanal dressings on repair and apical bridging of teeth with incomplete root formation. *Endod Dent Traumatol* 1993; 9: 25-30
- 410 DGZMK-Stellungnahme: Anwendung aldehydfreisetzender zahnärztlicher Materialien. *Dtsch Zahnärztl Z* 1997; 52: 772-3
- 411 Brian JD, Ranly DM, Fulton RS, Madden RM. Reaction of rat connective tissue to unfixed and formaldehyde-fixed autogenous implants enclosed in tubes. *J Endod* 1980; 6: 628-35
- 412 Özgöz M, Yağiz H, Çiçek Y, Tezel A. Gingival necrosis following the use of a paraformaldehyde-containing paste: a case report. *Int Endod J* 2004; 37: 157-61
- 413 Lewis BB, Chestner SB. Formaldehyde in dentistry: a review of mutagenic and carcinogenic potential. *J Am Dent Assoc* 1981; 103: 429-34
- 414 Hata G, Nishikawa I, Kawazoe S, Tado T. Systemic distribution of ¹⁴C-labeled formaldehyde applied in the root canal following pulpectomy. *J Endod* 1989; 15: 539-43
- 415 Block RM, Lewis R, Hirsch J, Coffey J, Langeland K. Systemic distribution of N2 paste containing ¹⁴C paraformaldehyde following root canal therapy in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 50: 350-60
- 416 European Society of Endodontics: Qualitätsrichtlinien endodontischer Behandlung. Konsenspapier der Europäischen Gesellschaft für Endodontie. *Endodontie* 1994; 4: 263-76

- 417 Carlsson J, Nyberg G, Wrethen J. Hydrogen peroxide and superoxide radical formation in anaerobic broth media exposed to atmospheric oxygen. *Appl Microbiol* 1978; 36: 223-9
- 418 Loesche WJ. Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. *Appl Microbiol* 1969; 18: 723-7
- 419 Syed S, Loesche W. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972; 24: 638-44
- 420 Zamany A, Spangberg LS. An effective method of inactivating chlorhexidine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 617-2
- 421 Costerton JW, Stewart PS, Grennberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections *Science* 1999; 284: 1318-22
- 422 Wang JD, Hume WR. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentine. *Int Endod J* 1988; 21: 17-26
- 423 Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antibacterial activity of endodontic irrigants in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2000; 26: 555 (abstr. PR 10)
- 424 Roach RP, Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Intracanal medicament prevention of interappointment bacterial contamination. *J Dent Res* 2000; 79: IADR abstr. 3401
- 425 Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Organic acid metabolism. In: *Biology of microorganisms*. Madigan MT, Martinko JM, Parker J, Herausgeber. Prentice-Hall Inc., New Jersey 1997: 519-20
- 426 Seeliger HPR. Aerobe und fakultativ anaerobe gramnegative Stäbchenbakterien mit geringen Nährstoffansprüchen. In: *Medizinische Mikrobiologie: Labordiagnostik und Klinik*. Seeliger HPR, Schröter G, Herausgeber. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1990: 160-80
- 427 Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J* 1995; 28: 95-9
- 428 Schumacher GH. Morphologische Merkmale der Zähne. In: *Odontographie: Anatomie der Zähne und des Gebisses*. Schumacher GH, Gente M, Herausgeber. Hüthig Verlag, Heidelberg 1995: 23-32 (Bild 29)
- 429 Wallhäußer KH. Antimikrobielle Wirkstoffe. In: *Praxis der Sterilisation, Desinfektion – Konservierung: Keimidentifizierung - Betriebshygiene*. Wallhäußer KH, Herausgeber. Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1995: 465-652
- 430 Barthel CR, Zimmer S, West G, Roulet JF. Bacterial leakage along obturated root canals following the use of different intracanal medicaments. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 282-6

13 Materialliste

- 1 Diamant zylindrisch ($\varnothing = 2,5$ mm, $l = 6$ mm); Komet, Gebr. Brasseler, D-32631 Lemgo
- 2 Scaler M 23; Deppler, CH-1180 Rolle
- 3 Feilen und Reamer (ISO 10-60, 25 mm); VDW-Antaeos, D-81319 München
- 4 Calcinase; Lege artis Pharma GmbH & Co. KG, D-72135 Dettenhausen
- 5 Papierspitzen; Roeko GmbH & Co. KG, D-89129 Langenau
- 6 Thioglykolat; Nährbodenküche der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 7 Optibond FL; Kerr GmbH, D-76185 Karlsruhe
- 8 Guttapercha-Spitzen (ISO 60); Kerr GmbH, D-76185 Karlsruhe
- 9 Natriumhypochlorit 2,5%ig; Dr. Speier GmbH, D-48153 Münster
- 10 Supradent (ein Klebewachs); Chemisches Dental-Labor Oppermann-Schwedler, D-53225 Bonn
- 11 Knopfanker (Rusch-Anker); Scheu Dental GmbH, D-58642 Iserlohn
- 12 Dentaplast Kalt (ein streufähiges Polymethylacrylat); Bredent, D-89250 Senden
- 13 Zentrifugierröhrchen (2 ml) mit Schraubverschluß (micro tube); Sarstedt, D-51582 Nümbrecht
- 14 Reduced Transfer Medium (RTF) mit 25%iger Glucose; RTF besteht aus 1 mmol/l EDTA, 3,7 mmol/l Na_2CO_3 , 2,5 mmol/l K_2HPO_4 , 15 mmol/l NaCl, 6 mmol/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 mmol/l KH_2PO_4 , 1 mmol/l MgSO_4 ; hergestellt nach Quelle 419; Apotheke der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 15 Exstirpationsnadel; VDW-Antaeos, D-81319 München
- 16 Vortex-Schüttler; IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-79219 Staufen
- 17 Columbia-Blut-Agar-Platten; Nährbodenküche der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 18 Anaerobiertopf (Anaerobic Jar Gas Pack System); Merck, D-64271 Darmstadt
- 19 Anaerogen; Oxoid Ltd., UK-RG24 8 PW Basingstoke/Hampshire;
(Angaben zum Wirkungsmechanismus aus: Produktbeschreibung Anaerogen AN 35 und AN 25. Oxoid Ltd., UK-RG24 8 PW Basingstoke/Hampshire)
- 20 Chlorhexidindigluconat-Gel, 5%ig; Apotheke der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 21 Kalziumhydroxid; Merk GmbH, D-64271 Darmstadt

- 22 Lentulo; Dentsply Mailefer, D-78467 Konstanz
- 23 Guttaperchaspitzen (ISO 50) mit 5%igem Gehalt an CHX-Diacetat (activ points); Roeko GmbH & Co. KG, D-89129 Langenau
- 24 Guttaperchaspitzen mit Kalziumhydroxidanteil von ca. 58 Gewichtsprozent (Calciumhydroxid Plus), Roeko GmbH & Co. KG, D-89129 Langenau
- 25 Ethanol 70% Vol.; Alkohol Handelskontor GmbH & Co., D-59555 Lippstadt
- 26 Seitenschneider Standard; Dentaurum, D-75228 Ispringen
- 27 Endo-Einwegkanüle mit abgerundetem Ende nach Dr. Buquet; Vedefar, B-1700 Dilbeek
- 28 Wattekügelchen (Gr.0); Omnident Dentalhandelsgesell. mbH, D-63110 Rodgau
- 29 Physiologische Kochsalzlösung; Serum-Werk Bernburg AG, D-06406 Bernburg
- 30 CHX-Inaktivierungslösung (enthält 3%Tween 80, 0,1%Cystein, 0,1% Histidin und 3% Saponin in aq. dest.); Apotheke der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 31 Zitronensäurelösung (0,5%ig); Apotheke der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, D-13353 Berlin
- 32 Glasplatte; Becht, D-77601 Offenburg
- 33 Alginoplast; Heraeus Kulzer GmbH, D-63450 Hanau
- 34 Stone 4 Superhartgips; Omnident Dentalhandelsgesell. mbH, D-63110 Rodgau
- 35 Skalpelli Griff; Omnident Dentalhandelsgesellschaft mbH, D-63110 Rodgau / Skalpelli Klinge Nr.15; Otto Rüttgers GmbH & Co KG, D-42699 Solingen
- 36 Sonorex RK 100 H-Ultraschallgerät; Bandelin, D-12207 Berlin
- 37 Mulltupfer; Kent Dental, D-19258 Gallin
- 38 StatView 5.0; Abacus Concept, USA-Ca 94704-1038 Berkeley

14 Danksagung

Meiner langjährigen Betreuerin Frau PD Dr. Claudia R. Barthel danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas. Sie hat diese Arbeit durch ihr konstruktives und kritisches Engagement maßgeblich beeinflusst. Ich danke ihr für die angenehme Zusammenarbeit und das in mich gesetzte Vertrauen.

Herrn Prof. Dr. Jean-François Roulet (Abteilung für Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin, Charité, Humboldt-Universität zu Berlin) danke ich dafür, dass ich einige Abschnitte des experimentellen Teils in seiner Abteilung durchführen konnte.

Herrn OA Dr. Reinhold Schiller und Herrn Prof. Dr. Dr. Ulf B. Göbel (Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Charité, Humboldt-Universität zu Berlin) gilt mein Dank für ihre Unterstützung bei der Verwirklichung des mikrobiologischen Teils. Bei Frau Petra Wiedersatz möchte ich mich herzlich für ihre vorzügliche labortechnische Anleitung und gewissenhafte Erfassung der Bebrütungsergebnisse bedanken.

Herrn Thomas Kaltwaßer danke ich für seinen unermüdlichen Einsatz bei der computertechnischen Umsetzung der Dissertation.

Abschließend danke ich meiner lieben Frau, die mir stets hilfreich zur Seite stand und ohne die ich wohl kaum die notwendige Zeit gefunden hätte.

15 Lebenslauf

Sascha Zilliges

Geburtsdatum: 23. 04. 1975

Geburtsort: Berlin

Mutter: Dr. Ingrid Zilliges
Bundesministerium für Wirtschaft, Berlin
Referentin

Vater: Dr. Norbert Zilliges
SKET Handel GmbH, Magdeburg
Direktor für Vertrieb

Ehefrau: Yvonne Zilliges
Institut für Biologie/Genetik der Humboldt-Universität
Diplombiologin, Doktorandin

Kind: Christoph Zilliges, geb. am 16. 11. 2000

Schulbildung: 1981-1987 : Botschaftsschule der DDR in Prag
1987-1989 : 6. Polytechn. Oberschule „Arkadi Gaidar“
in Berlin
1989-1994 : „Heinrich-Schliemann-Oberschule“
(Gymnasium) in Berlin
Schulabschluß: Abitur

Zivildienst: Jan. 1995 – Mär. 1996 : Robert-Rössle-/Franz-Volhard-
Klinik, Charité

Studium: Okt. 1996 – Dez. 2002 : Studium der Zahnmedizin an der
Charité (Med. Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin)

Approbation: 19. Dezember 2002

Assistenzzeit: Januar 2003 - Januar 2005 in Berlin

Beruf: angestellter Zahnarzt seit Februar 2005 in Berlin

16 Erklärung an Eides statt

Ich, Sascha Zilliges, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift selbst und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst habe. Ich habe auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt und keine als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt.

Sascha Zilliges