Aus dem Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf Westdeutsche Kieferklinik Poliklinik für Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde Direktor: Univ.-Prof. Dr. W.H.-M. Raab

# Antimikrobielle Effekte des Er:YAG-Lasers bei Anwendung im infizierten Wurzelkanal und dabei auftretende laserinduzierte, morphologische Veränderungen des Wurzelkanaldentins

(eine mikrobielle und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung)

<u>Dissertation</u> zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität vorgelegt von

# **Babette Maria Stephan**

2006

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

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. W.H.-M. Raab Dekan
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. dent. W.H.-M. Raab
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. dent. A. Herforth

# Danksagung

Diese Arbeit wäre ohne die Unterstützung zahlreicher Personen nicht möglich gewesen.

Mein erster Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. W.H.-M. Raab für die Überlassung des Dissertationsthemas und seiner Unterstützung bei dieser Arbeit und während meiner zehnjährigen Tätigkeit in seiner Abteilung. Weiterhin möchte ich meinen beiden Kollegen Heide Wellings und Daniel Rothamel für ihre Mitarbeit im Bereich Mikrobiologie und Statistik danken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinen beiden Schwestern Kathrin und Sabine, die mich in allen Lebenssituationen stets ermutigt und mit viel Liebe unterstützt haben; ich habe euch alles zu verdanken.

Mein größter Dank gilt Max, der mich ausdauernd angetrieben und unermüdlich unterstützt hat und dem ich es zu verdanken habe, dass diese Arbeit fertig gestellt wurde.

# Widmung

All meinen Lieben

# <u>Inhaltsverzeichnis</u>

1.	Einleitung	1
1.1	Historische Übersicht	1
	<ul><li>1.1.1 Laser in der Zahnmedizin</li><li>1.1.2 Laser in der Endodontie</li></ul>	1 5
1.2	Problemstellung	11
2.	Material	13
2.1	Laserstrahlung	13
	<ul> <li>2.1.1 Lasergrundbegriffe</li> <li>2.1.2 Effekte von Laserstrahlung auf Gewebe</li> <li>2.1.3 Thermische Eigenschaften von Geweben</li> <li>2.1.4 Optische Eigenschaften von Geweben</li> </ul>	13 14 16 17
2.2	Er:YAG-Laser und Applikationssysteme	18
	<ul> <li>2.2.1 Key Laser 1242: Technische Daten und Wirkungsweise</li> <li>2.2.2 Handstück E 2055</li> <li>2.2.3 Faserstecker Gr. 40x28</li> </ul>	18 21 21
2.3	Wurzelkanalaufbereitungssysteme	23
2.4	Gammasterilisation der Versuchsobjekte (Zähne)	24
2.5	Nährmedien (Nährbouillon und Nähragar)	26
2.6	Bakterienauswahl	27
	<ul><li>2.6.1 Streptokokken</li><li>2.6.2 Streptokokkus oralis H1</li></ul>	27 28
2.7	Spüllösung: Natriumhypochlorit	29
2.8	Rasterelektronenmikroskop	31

<u>3.</u>	Methode	32
3.1	Wurzelkanalaufbereitung	32
3.2	Gammasterilisation der Versuchsobjekte (Zähne)	33
3.3	Laservorgang	34
3.4	Mikrobielle Plattenauswertung	37
3.5	Rasterelektronenmikroskopische Auswertung	38
3.6	Scoresystem zur Oberflächenbeschaffenheit des Wurzelkanaldentins	39

# 4. Ergebnisse ... 41

4.1	Ergeb	nisse der mikrobiellen Analyse	41	
	4.1.1	Gruppe A	41	
	4.1.2	Gruppe B	41	
	4.1.3	Gruppe C	41	
	4.1.4	Gruppe D	41	
	4.1.5	Gruppe E	42	
	4.1.6	Gruppe F	42	
	4.1.7	Gruppe G	42	
4.2	Ergeb	nisse der rasterelektronenmikroskopischen Auswertung	44	
	4.2.1	Scoreverteilung der Gruppe A	44	
	4.2.2	Scoreverteilung der Gruppe B	46	
	4.2.3	Scoreverteilung der Gruppe C	48	
	4.2.4	Scoreverteilung der Gruppe D	50	
	4.2.5	Score 1-8: Vergleich der Gruppen A-D	52	
	4.2.6	Kategorie I-III: Vergleich der Gruppen A-D	56	

5.	Disk	ussion	59
	5.1	Teil I	59
	5.2	Teil II	62
	5.3	Teil III	63

<u>6.</u>	Zusammenfassung	65

7.	Anhang		67
	7.1	Datenanalyse: Scoreverteilung der Gruppen A-D	67
	7.2	Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe A und C	68
	7.3	Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe B und D	68
	7.4	Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe A und B .	69
	7.5	Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe C und D	69
	7.6	Vergleich der Flächen apikal, mittig und koronal (Gruppe A-D)	70

# 8. Literaturverzeichnis ... 71

#### Lebenslauf und Abstract ... 87 <u>9.</u>

# <u>1. Einleitung</u>

# 1.1 Historische Übersicht

#### 1.1.1 Laser in der Zahnmedizin

Mit der Entdeckung und der experimentellen Umsetzung des Laserprinzips im Jahre 1960 von T.H. Maiman [135] begannen in der Mitte der 60er Jahre erste Bestrebungen, Laserstrahlung für die Zahnheilkunde nutzbar zu machen [124, 125, 144, 247]. Auf dem Gebiet der Zahnerhaltung versprach man sich von der Lasertherapie eine Alternative zur konventionellen, rotierenden Methode der Zahnhartsubstanzbearbeitung und Fortschritte bezüglich der Be- und Verarbeitung von Werkstoffen wie Edelmetallen, Kompositmaterialien bzw. Wurzelkanalsealern [6, 7, 10, 53, 124, 184, 185, 210]. Erste Publikationen befassten sich mit den Effekten der Laserstrahlung auf dentale Gewebestrukturen, den photothermischen und photoablativen Wirkungsmechanismen der Laserstrahlen auf Schmelz und Dentin [74, 77, 103, 123, 132, 179, 222, 234]. Im Vordergrund stand der Wunsch, die Wirkungsweise des Lasers zur schonenden, selektiven und vor allem schmerzreduzierten Entfernung von kariös veränderten dentalen Strukturen zu nutzen [60, 74, 140, 163, 205, 206, 233, 244]. Weitere Studien zielten in die Richtung, nicht nur kariös verändertes Gewebe zu entfernen oder zu modifizieren, sondern zu untersuchen, ob und inwieweit eine laserinduzierte, minimalinvasive Kavitätenpräparation von Dentin möglich ist [106, 111, 243].

Gleichfalls stellte man Überlegungen bezüglich der Effekte verschiedenartiger Lasertypen unter Anwendung unterschiedlicher Energiemengen auf die Schmelzoberfläche an. Bestrebungen gingen in die Richtung, die Zahnhartsubstanz mittels Laserstrahlung durch Verschmelzen der Prismen unter hohen Temperaturen (1200-1500°C) zu konditionieren [58, 126, 131, 221]. Zahlreiche Studien beschäftigten sich seitdem mit der Wirkung von Laserstrahlung auf die Oberflächenmorphologie des Schmelzes, wobei Begriffe wie laserinduzierte Schmelzätzung, Schmelzablation, Schmelzvergütung, laserbedingte Mikrohärtenveränderung, Verlust bzw. Inhomogenisierung von Prismenstrukturen nur einige der untersuchten Themen umschreiben sollen [52, 54, 95, 121, 207].

Stern et al. [220, 222] und Yamamoto et al. [252] stellten Anfang der 70er Jahre Überlegungen bezüglich der Nutzung von Lasern unter kariesprophylaktischen und kariesprotektiven Gesichtspunkten an. Ziel der Studien war es, zu untersuchen, inwieweit eine CO<sub>2</sub>-Laser Bestrahlung von gesundem Schmelz bzw. von "caries-like lesions" den Schmelz widerstandsfähiger gegenüber kariogenen Noxen machen könnte [107, 253]. Ziel dieser Studien war es, durch das Verschmelzen der Schmelzoberfläche die Säurelöslichkeit bzw. Penetrationsfähigkeit derselben zu reduzieren, um einen Angriff durch kariogene Noxen zu limitieren; Begriffe wie Schmelzversiegelung oder Schmelzvergütung wurden geprägt [19, 54, 56, 57, 95]. Weiterführend schlossen sich Untersuchungen an, welche sich nicht nur mit der Modifikation von Schmelz auseinandersetzten, sondern sich auch mit der laserinduzierten Verschmelzung von Dentin und Zement<sup>1</sup> beschäftigten [11, 38, 164].

Als problematisch stellte sich die auftretende Wärmeentwicklung bei der Bestrahlung dentaler Strukturen besonders bei der Präparation des pulpennahen Dentins dar. Über mögliche thermische Nebenwirkungen der Laser bei der Bestrahlung von Schmelz, Dentin, desmodontalen Strukturen und Anteilen des Dentin-Pulpa-Komplexes [34, 36, 127, 149, 217, 230, 251] und deren Vermeidung, entstanden zahlreiche weitere Studien [2, 8, 13, 101, 128, 129, 139, 218]. Richtlinien zur Vermeidung thermischer Nebenwirkungen (z. B. durch die konsequente Nutzung von Wasserspray oder Luftkühlung), Sicherheitsbestimmungen für Patient und Behandler, und die Erstellung von vorgeschriebenen Benutzerwerten für die sichere Anwendung der unterschiedlicher Lasertypen wurden von zahlreichen Studiengruppen gefordert [70, 93, 146, 147, 167, 186, 188, 193, 237, 241].

Durch oben erwähnte Diskussionen ausgelöst, versuchte man die Vorteile der antimikrobiellen Effekte der Laserbestrahlung zur Erhaltung der Pulpa z.B. bei der Pulpaamputation [102] oder bei der direkten Überkappung zu nutzen [159, 160, 250]. Hierbei wurden abhängig von der jeweiligen Studie stark gegensätzliche Ergebnisse über die durch Laser verstärkten Heilungs- bzw. verursachten Nekroseprozesse erzielt [242].

In den 80er Jahren begannen Bestrebungen, die in der diagnostischen Medizin bewährten Messverfahren wie die Laser-Doppler-Flussmessung und spektroskopische Methoden in den zahnmedizinischen Bereich zu übertragen [169, 229]. Edwall 1987 [46] und Raab 1989 [189, 190] veröffentlichten erste Studien über die Messung der pulpalen Blutzirkulation oder von Zirkulationsveränderungen der Pulpa auf thermische, elektrische oder chemische Reize; weitere Arbeiten anderer Autoren folgten [66, 73, 90, 156]. Ergebnisse bezüglich der Blutdruckregulation der Pulpa [68, 199], über die Beurteilung und das Monitoring nach Laser-Doppler-Flussmessung bei vitalen, wurzelgefüllten bzw. nekrotischen Zähnen [97, 98, 170, 171, 200] oder über die Überprüfung der Sensitivität nach Luxationsverletzungen oder

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Z.B. zum Verschluss apikaler Strukturen nach Resorption (apical plugging) oder zur Fusion von Wurzellängsfrakturen.

Replantation schlossen sich an [45, 69]. Bei den laserinduzierten Verfahren wie der Fluoreszenzspektroskopie oder der Reflektionsspektroskopie bestanden die Bestrebungen diese Verfahren zur Karies- bzw. Wurzelkanaldiagnostik zu nutzen [4, 5, 16, 183, 223]. Bezüglich der Einflussnahme von Lasern auf Nervenstrukturen schlossen sich Studien über die stimulierenden und/oder analgesierenden Effekte bei der Bestrahlung von nervalen Strukturen an [99, 141, 173, 174, 175]. Die Effektivität von Laserbestrahlung auf die Reduzierung von thermisch und taktil auslösbaren Dentinhypersensitivitäten im Bereich der Klasse-V-Defekte fanden ausführliche Diskussionsgrundlage [23, 32, 50, 71, 72, 156, 195, 206, 214, 260].

Als ein ergiebiges Forschungsfeld stellte sich die Einsatzmöglichkeit der Lasertherapie im Themenkomplex der endodontischen Mikrochirurgie dar. Zahlreiche Studien über die Anwendung von Lasern als minimalinvasives und gering traumatisierendes Therapieverfahren z.B. bei der Wurzelspitzenresektion und in diesen Komplex hereinreichende Fragen (retrograde Präparation, periapikale Desinfektion) wurden vorgelegt [17, 59, 63, 64, 65, 80, 116, 117, 119, 134, 145, 151, 153, 166, 176, 194, 201, 212, 213].

Weiterhin fand der Laser bezüglich seiner Nutzbarkeit auf dem Gebiet der Parodontologie und der zahnärztlichen Chirurgie vielfältige Anwendung. Die Effekte von Laserstrahlung auf Strukturen des Desmodontes und auf die mechanische Entfernung von Belägen und Konkrementen standen in obengenannten Forschungsprojekten im Mittelpunkt [62, 142, 143, 191, 192, 248]. Auf dem Gebiet der zahnärztlichen Chirurgie wurden die CO<sub>2</sub>-Laser anfangs für die mikrochirurgische Exzision benigner Mundschleimhauttumoren und Entfernung prämaligner Schleimhautveränderungen genutzt [1, 118]. Wobei ersichtlich wurde, dass sich die Laserchirurgie im Vergleich zu konventionellen Schnitttechniken postoperativ positiv auf die Wundheilungsprozesse auswirkte [134, 166, 181].

Heutzutage erstreckt sich das Einsatzspektrum der Laser in der zahnärztlichen Chirurgie über einen weiten therapeutischen Bereich, der von der Implantologie, endodontischen Mikrochirurgie, kieferorthopädischen Begleittherapie (Frenulumexzision) bis zu ästhetischen Chirurgiemaßnahmen (Gingivamodellationen) reicht.

Im Bereich der konservierenden Zahnheilkunde spielten werkstoffkundliche Aspekte, wie die Verbesserung der adhäsiv vermittelten Haftung von Schmelz und Dentin zu zahnfarbenen Füllungswerkstoffen (Komposite, Kompomere) eine große Rolle. Als zentrales Thema stand im Vordergrund, inwieweit eine Oberflächenbehandlung mittels Laserbestrahlung eine Alternative zur konventionellen Methode der Zahnhartsubstanzkonditionierung mittels Säureätzung darstellen oder sogar eine Verbesserung der Haftmechanismen erbringen könnte [91, 168, 209, 236, 245, 256, 257]. Weiterhin erfolgten Untersuchungen über die Auswirkung der Laserstrahlung auf intakte bzw. kariös veränderten Oberflächen mit entsprechenden morphologischen Oberflächen- bzw. Strukturveränderungen [37, 224, 246, 249].

Bezüglich mikrobieller Gesichtspunkte stand die Nutzung der keimreduzierenden Eigenschaften der Laserstrahlung im Bereich der Instrumentendesinfektion, der Kavitätendesinfektion und der Endodontie im Vordergrund. Erste Veröffentlichungen beschäftigten sich mit der Leistungsfähigkeit von Lasern zur Sterilisation von zahnärztlichen Instrumenten, z.B. Wurzelkanalfeilen, welche sich als durchaus effektive Methode auszeichnete, solange die zu bestrahlenden Areale für die Laserquelle gut zugänglich waren [94, 187]. Leider ließen sich diese Ergebnisse nicht auf morphologisch schlecht zugängliche Bereiche, z.B. das Wurzelkanalsystem, übertragen, so dass eine Keimfreiheit in den unbestrahlten Regionen nicht erreicht wurde. Dieses beschrieben Zakariasen et al. mit der Veröffentlichung ihrer Studienergebnisse über die bakteriziden Eigenschaften von CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung bei der Behandlung infizierter Wurzelkanäle [258]. Sie stellten fest, dass es zu einer Reduzierung der Mikroorganismen im Wurzelkanal kam, eine vollständige Eliminierung der Bakterien jedoch nicht möglich war. Es ergaben sich Probleme bezüglich der limitierten Applikationsmöglichkeit des Laserlichtes in die apikalen Bereiche des Wurzelkanals. Seitdem fanden immer wieder Bestrebungen statt, die antibakteriellen Eigenschaften unterschiedlicher Lasertypen auf spezielle Keime zu untersuchen und für die endodontische Therapie sowie auch für die Reduktion von Keimen innerhalb kariöser Läsionen nutzbar zu machen [21, 81, 89, 92, 157, 198, 211]. Mit der Entwicklung flexibler optischer Fasersysteme in den 90er Jahren bei Nd:YAG- und Er:YAG-Lasern wurde die Instrumentierbarkeit während des Laservorganges zunehmend erleichtert und sicherer [172]. Dies ermöglichte eine gleichmäßige Bestrahlung auch apikaler Areale im morphologisch ungünstig gestalteten Kanalsystem, was sich als vorteilhaft bezüglich der Reduzierung von Mikroorganismen im infizierten Wurzelkanal herausstellte [51, 138, 161] bzw. in manchen Studien sogar zum Erreichen absoluter Keimfreiheit führte [154].

# 1.1.2 Laser in der Endodontie

Ende der 60er und Anfang der 70er Jahre begannen die ersten Untersuchungen zur Nutzung von Laserenergie in der Endodontie. Im Mittelpunkt standen Bemühungen, die unterschiedlichsten Typen von Lasern unter Auswahl im biologischen Milieu vertretbarer Parameter im Bereich der Wurzelkanalbearbeitung (Kanalpräparation, Modifizierung von Kanaldentin und Kanalauflagerungen) und der Wurzelkanalsterilisierung einzusetzen.

# Wurzelkanalaufbereitung:

Erstmals 1989 beschäftigten sich Forschungsarbeiten mit der Überlegung, ob eine Aufbereitung von Wurzelkanälen via Laseranwendung möglich sein könnte. Liesenhoff et al. veröffentlichten eine entsprechende Studie unter Verwendung des Excimer-Lasers [130]. Ihren Ergebnissen zufolge war es möglich, unter Zuhilfenahme laseroptischer Quarzglasfasern nekrotisches Pulpagewebe vollständig von Gewebe und Debris<sup>2</sup> zu befreien und eine glatte, Smear-Layer<sup>3</sup> freie Wurzelkanaloberfläche zu schaffen. Bei der Laserbehandlung ergaben sich bei keiner der Proben Aufbereitungsmisserfolge wie z.B. Perforationen (Via falsa), Überinstrumentierungen, Verlegungen oder Obstruktionen des ursprünglichen Wurzelkanalverlaufes (Ellbow-Zip-Effekt). Andere Studien kamen jedoch zu gegensätzlichen Ergebnissen. Frentzen et al. veröffentlichten 1991 Untersuchungsergebnisse, welche nicht von der Kanalaufbereitung des Excimer-Lasers als mögliche Alternative zur manuellen Aufbereitung überzeugt waren [61]. Auch Farge et al. überprüften 1998, ob a) die solitäre Anwendung des Nd:YAP-Lasers oder b) eine kombinierte Technik aus konventionellen Aufbereitungsmaßnahmen (Feilen, Spüllösungen) plus der Laserpräparationstechnik zu einer adäquaten Reinigung des Kanals führen kann bzw. ob sich diese modifizierte Technik auch für die Entfernung insuffizienter Wurzelfüllungen (Revisionen) eignen könnte [49]. Zahlreiche Studien befassen sich bis heute mit den Möglichkeiten der Wurzelkanalsäuberung, -glättung oder -aufbereitung [84, 104, 108, 109, 110, 137, 208]. Zusammenfassend sei erwähnt, dass die Aufbereitung von Wurzelkanälen mittels eines Dentallasers in vielen Fällen keine zufriedenstellenden Ergebnisse erzielte; dass

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> <u>Debris</u>: locker und schollenartig in oder auf dem Wurzelkanal liegende inhomogene Brocken aus organischen und anorganischen Bestandteilen (Pulpagewebereste und Dentinabrieb). Liegt im Gegensatz zum Smear-Layer nicht als homogene Schicht der Kanalwand direkt auf.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> <u>Smear-Layer</u>: (syn.: adhärenter Debris); 1-2 μm dicker, homogener Belag aus organischen und anorganischen Bestandteilen, welcher sich bei der Bearbeitung von Dentin (Exkavation, Kanalaufbereitung) bildet. Der Smear-Layer setzt sich zusammen aus Dentinspänen, Pulpageweberesten, Bakterien, Prädentin und Odontoblastenfortsätzen (Pashley, 1992 [177]).

jedoch eine Kombination aus konventioneller Präparationstechnik und nachfolgender Laserinanspruchnahme durchaus die bei der Standardaufbereitung erzielten Ergebnisse verbessern und die Verwendung von Lasern besonders bei der Abtragung von echten und unechten Dentikeln oder bei der Entfernung von Kanalobliterationen geeignet sein kann [162, 196].

## Modifikation der Wurzelkanaloberfläche:

Ende der 60er Jahre beschäftigten sich erste Publikationen von Stern [219], Scheinin [202] und Weichman [238, 239] mit den laserinduzierten Effekten bei intrakanalärer Bestrahlung des Wurzelkanaldentins. Sie stellten fest, dass es aufgrund der thermischen Nebeneffekte oftmals zu Karbonisierungen, oberflächlichen horizontalen ('ablations') und vertikalen Abtragungen ('craters') sowie zu Rissbildungen ('cracks') kam und Verschmelzungen des Wurzelkanaldentins unter Bildung einer glasartigen, homogenen Schicht auftraten [22].

Dederich et al. berichteten 1984 [39], 1986 [40] und fortführend 1988 [41] in rasterelektronenmikroskopischen Studien über strukturelle Oberflächenveränderungen des Wurzelkanaldentins nach Bestrahlung mittels des Nd:YAG-Lasers (Verschmelzen und Rekristallisieren von Kanaldentin). Basierend auf dem Sichtbarwerden einer glatten, glasartigen Kanaloberfläche, stellten sie zur Diskussion, inwieweit eine reduzierte bzw. erhöhte Permeabilität des exponierten Dentins auf dem Gebiet der Endodontie von Vorteil sein könnte.

Ziel der intrakanalären Laseranwendung war es, die bakteriell besiedelten Auflagerungen (Debris und Smear-Layer) durch die photoablativen Effekte des Lasers zu entfernen [20, 55, 87, 88, 231]. Andererseits erkannte man, dass sich durch die photothermischen, indirekten Effekte der Laserbestrahlung eine Modifikation der verunreinigten Dentinoberfläche wie z.B. das Verdampfen von Dentinauflagerungen mit Eröffnung von Dentinkanälchen oder das Verschmelzen der Dentinoberfläche mit Verschluss der Tubuli ('dentinplugs') ergaben. Aus beiden relativ gegensätzlichen Versuchsbeobachtungen (Eröffnung oder Verschluss von Dentintubuli) entwickelten sich zwei noch heute diskutierte Thesen bezüglich der Nutzung der laserinduzierten Veränderung der Dentinpermeabiltät. Eine Eröffnung der Dentinkanälchen ermöglicht die Penetration geeigneter bakterizider Spüllösungen (Permeabilitätssteigerung des Dentins); ein Verschmelzen der Tubuli verhindert eine Reinfektion des sterilisierten Kanals durch die aus den Kanälchen emigrierenden Bakterien. Ferner wurde untersucht, ob die glatte, glasartig versiegelte Kanalwand die definitive Füllung mittels plastischer Materialien positiv beeinflussen und zu einem optimalen Verschluss des

Kanalsystems führen könnte. Es folgten zahlreiche Untersuchungen, welche sich mit Effekten unterschiedlichster Lasertypen (CO<sub>2</sub>-, Nd:YAG-, Ho:YAG-, Argon-, Er:YAG-Laser, u.w.m.) auf den intrakanalären Smear-Layer beschäftigten [9, 15, 165, 214, 215]. Zum Nachweis von Permeabilitäts-veränderungen setzte sich die Methode der Tintenpenetration und die rasterelektronenmikroskopische Auswertung durch [31, 48, 79, 148, 154, 216].

Als nachteilig stellte sich heraus, dass die Laserbestrahlung für die Entwicklung von Temperaturanstiegen im Wurzelkanal verantwortlich war, welches zu einer Beeinträchtigung des behandelten sowie des benachbarten Gewebes führte. Die Wärmeentwicklung trocknete zunächst das bestrahlte Zahnhartgewebe aus; durch die Schrumpfung des Dentins kam es zur Rißbildung und bei weiterem Temperaturanstieg zu Karbonisierungen, großflächigen Verschmelzungen und Absprengungen von Wurzelkanaldentin [12, 105, 259]. Es bestanden Befürchtungen, inwieweit die bei der Laserbehandlung entstehenden temporären Temperaturerhöhungen zu langfristigen Schädigungen apikaler und parodontaler Strukturen (Resorptionen oder Knochennekrosen) führen könnten [191, 192, 248]. Die Voraussetzung zur Verwendung von Lasern war es nun, die Aufbereitung, Säuberung oder Modifikation des Wurzelkanaldentins unter der Prämisse der minimalsten Schädigung von Dentin und benachbarten Strukturen zu gewährleisten. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden weitere Studien zur Bestrahlung interkanalärer Strukturen unter gleichzeitiger Messung der Temperatur und Testung geeigneter Kühlmethoden vorangetrieben [10, 26, 35, 44, 133, 193]. Visuri et al. berichteten 1996 über den Effekt einer kontinuierlichen Wasserkühlung auf die ablativen und photothermischen Effekte des Er:YAG-Lasers [237]. Ihre Studie bestätigte die sichere und auch effektivere Nutzbarkeit des Lasers bei der Bearbeitung von Zahnhartsubstanzen, solange eine ausreichende Kühlung mit Wasser gewährleistet wurde. Zusammenfassend wurde festgelegt, dass eine kurzzeitige Temperatursteigerung von bis zu 7°C keinen schädigenden Effekt auf periapikale und parodontale Strukturen hat ("thermal injury threshold level for periodontal tissue"), aber eine über diesen Wert ansteigende Temperaturentwicklung bei anhaltender Dauer zur Denaturierung von Proteinen und Kollagenstrukturen und damit zur Nekrose von Gewebe führt.

Weiterhin ist festzustellen, dass die Anwendung eines wasser- oder luftgekühlten Er:YAG-Lasers zufriedenstellende Ergebnisse bezüglich der schonenden Entfernung von Smear-Layer und Debris im Wurzelkanal erzielt, ohne dass die Dentinoberfläche durch Karbonisierung, Rissbildung oder Einschmelzung zu stark geschädigt wird und benachbarte Gewebe durch spontan auftretende Temperaturspitzen beeinträchtigt werden [105, 136, 180, 225, 226, 227, 228].

#### Wurzelkanalsterilisierung:

Die erfolgreiche Eliminierung von Mikroorganismen und infiziertem Pulpagewebe aus dem Wurzelkanalsystem stellt ein Hauptproblem bei der endodontischen Behandlung bezüglich der Chancen eines Langzeiterfolges dar, da die Anwesenheit und Ausbreitung von Bakterien im nekrotischen Pulpagewebe und die Freisetzung ihrer toxischen Stoffwechselprodukte ursächlich für die Entstehung periapikaler Prozesse verantwortlich ist [28, 75].

Ziel der Wurzelkanalbehandlung ist es diese Keime und ihre Produkte zu entfernen, Kanalwand und Lumen zu reinigen und das Kanalsystem vor Reinfektion zu schützen. Zur Therapie von Wurzelkanalinfektionen bedient man sich konventioneller Maßnahmen wie dem Ausräumen des vitalen oder nekrotischen Pulpagewebes mittels manueller oder maschineller Aufbereitungssysteme unter Erhalt steriler Kautelen und der Spülung des Kanals mit desinfizierenden Lösungen [85, 100, 242]. Im Bedarfsfall sollte der Wurzelkanal mit temporären, antibakteriellen Wurzelkanalpasten versorgt werden, bevor es nach Abklingen der klinischen und röntgenologisch nachweisbaren Entzündungsparametern zu einer definitiven endodontischen Versorgung kommen kann. Morphologische und anatomische Verhältnisse im Wurzelkanal wie Wurzelkanalverlauf und Krümmungsgrad, das Vorliegen von Dentin- und Markkanälchen, gehäuft apikal lokalisierte Seitenkanälchen und die periapikale Region können aufgrund dieser schlecht zugänglichen Bereiche als Reinfektionsdepot dienen. Zusätzlich bietet der durch die Aufbereitung erzeugte wandständige Smear-Layer ein reichhaltiges Repertoire an Mikroorganismen und kann nicht zufriedenstellend durch Spüllösungen wie NaOCl-, H2O2-, EDTA- oder Chlorhexidin-Lösungen entfernt werden [14, 29, 43, 136].

Aufgrund der oben beschriebenen Problematik wurde der Ruf nach therapeutischen Maßnahmen laut, welche allein oder in Kombination mit konventionellen Methoden eine wirkungsvollere Reduktion von Mikroorganismen bzw. das Erreichen einer absoluten Keimfreiheit innerhalb des Wurzelkanals bewirken könnten.

1986 berichteten erstmalig Zakariasen et al. über die bakterizide Wirkung des CO<sub>2</sub>-Lasers bei der Bestrahlung infizierter Wurzelkanäle [258]. Hierbei wurden Wurzelkanalmodelle mit sechs Bakterientypen beimpft und nachfolgend bestrahlt. Die Untersuchung ergab, dass lediglich eine Reduzierung der Keimbesiedlung nicht aber die Sterilisation des Wurzelkanals erreicht werden konnte. Zakariasen et al. schlussfolgerten daraus, dass insbesondere die verwendeten Laserparameter und eine ungünstige Wurzelkanalgeometrie für das nicht zufriedenstellende Ergebnis verantwortlich waren. Da die Entwicklung geeigneter Lichtleitungssysteme zur interkanalären Applikation in den folgenden Jahren nicht wesentlich vorangetrieben wurde, erschienen weitere Veröffentlichungen erst wieder zu Beginn der 90er Jahre. Rooney et al. berichteten 1994 über die Effektivität des gepulsten Nd:YAG-Lasers bei der Eliminierung von Bakterien in Anwesenheit absorptionsverstärkender Medien in experimentellen Wurzelkanälen [198]. Hierbei wurde festgestellt, dass der antimikrobielle Effekt des Lasers von der Energieleistung sowie der Bestrahlungsdauer abhängig ist. Hardee et al. beimpften 1994 erstmals einwurzelige menschliche Zähne und bestrahlten diese mittels des Nd:YAG-Lasers [89]. Die gelaserten und weitere zusätzlich mit NaOCI-Spülungen behandelte Versuchsgruppen zeigten eine deutliche Keimreduktion, wobei jedoch keine absolute Keimfreiheit erreicht wurde. Im Gegensatz zu dieser Studie erzielten Untersuchungen von Blum [21], Fegan [51] und Moshonov [161] eine Sterilisation von Wurzelkanälen, wobei die solitär mit NaOCI-Spülung behandelten Referenzgruppen ebenfalls eine absolute Keimfreiheit aufwiesen.

Weitere Arbeiten folgten, welche sich mit der Thematik der Wurzelkanalsterilisation beschäftigten, wobei sich die Studien in der Auswahl der Laserparameter (Pulsdauer, Wellenlänge, Energie, Leistung, bestrahlte Fläche, Energiedichte, Leistungsdichte), Einsatz unterschiedlicher Lasertypen (Argonlaser, Diodenlaser, CO<sub>2</sub>-, Nd:YAG-, Nd:YAP-, Holmium:YAG-Laser), der Auswahl geeigneter Mikroorganismen (gram-negativ, grampositiv, anaerob, aerob), der Verwendung verschiedener Referenzspülmedien (NaOCl, EDTA, Zitronensäure) und Anwendung unterschiedlicher Referenzmethoden (Ultraschallaktivierung: ja/nein) unterschieden [81, 82, 112, 113, 114, 115, 122, 152, 154, 155]. Es zeigte sich, dass der Aufbau der Bakterienwand entscheidend für die individuelle Empfindlichkeit des jeweiligen Keimes war; grampositive Bakterien benötigten im Gegensatz zu den gramnegativen Vertretern eine wiederholte Applikation von Laserstrahlung, um im gleichen Maße reduziert zu werden (Moritz et al. [152, 157]).

Ende der 90er Jahre wurden die ersten Studien zur Sterilisation von infizierten Wurzelkanälen unter der Anwendung des Er:YAG-Lasers veröffentlicht. Ziel einer Untersuchung von Mehl 1999 [138] war es, die bakterizide Wirkung des Er:YAG-Lasers unter Verwendung zweier Bakterienarten (Escherichia coli und Staphylokokkus aureus) bei unterschiedlicher Bestrahlungsdauer zu überprüfen. Die Ergebnisse bestätigten die antimikrobielle Potenz des Er:YAG-Lasers, wobei es in beiden Gruppen erst bei der Verlängerung der Bestrahlungsdauer zu einer signifikanten Reduzierung von Keimen kam; eine absolute Keimfreiheit wurde bei dieser Studie nicht erreicht. Bei einem Vergleich zwischen Nd:YAG-, Er:YAG- und Ho:YAG-Lasern von Moritz et al. 1999 [158] bestätigte sich diese Aussage; es kam hierbei jedoch schon zu einer über 99%igen Keimreduzierung. Studien von Takeda 1998 [225], Haffner 1999 [83], Dostalova 2002 [42] und Schoop 2002 [203] zeigten schließlich, dass eine vollständige Keimfreiheit im vormals infizierten Wurzelkanal durch adäquate Bestrahlung zu erreichen ist.

Grundsätzlich ist erkennbar, dass der Er:YAG-Laser bei der Wahl geeigneter Parameter in der Lage ist, Sterilität zu gewährleisten und sich gleichzeitig aufgrund der minimal auftretenden Temperaturspitzen durch seinen gewebeschonenden Charakter auszeichnet.

# 1.2 Problemstellung

Untersuchungen zur Anwendung des Er:YAG-Lasers in der Endodontie erstrecken sich in der Literatur auf zwei Hauptforschungsgebiete: Versuche zur Bearbeitung von Dentinoberflächen und Untersuchungen zur Eliminierung von Mikroorganismen aus infizierten Wurzelkanälen. Bei der Verwendung des Er:YAG-Lasers zur Oberflächenbehandlung von Dentin steht der schonende Charakter im Vergleich zur Bestrahlung mittels anderer Lasertypen (Nd:YAG-, CO<sub>2</sub>-Laser) im Vordergrund, jedoch gehen die Aussagen über den Grad der laserbedingten Modifikationen und strukturmorphologischen Veränderungen der Dentinoberfläche auseinander. Die Untersuchungsergebnisse sind von vielfältiger Natur; einige Studien zeigen völlige Unversehrtheit von Dentinauflagerungen und Dentinstrukturen nach Bestrahlung [138], andere Untersuchungen berichten über die Entfernung von Debris und Smear-Layer [76], über flache, schollenartige Dentinablationen [182] bis hin zu Karbonisierungsprozessen, tiefer Kraterbildung, Einschmelzen und Rekristallisieren von Dentin [39]. Weiterhin wird dem Er:YAG-Laser die Potenz zugesprochen, ohne parallel angewendete konventionelle Behandlungsmethoden (antibakterielle Spüllösungen, medikamentöse Wurzelkanaleinlagen) solitär für das Erreichen von Keimfreiheit im infizierten Wurzelkanal verantwortlich sein zu können [42, 83, 203, 225]. Auch hierzu ist anhand vielfältiger Studien keine einheitliche Aussage zu machen, da die Ergebnisse stark von der Auswahl der geeigneten Laserparameter und der optischen Instrumentierungshilfen abhängig sind.

Aufgrund dieser Überlegungen wurden drei Fragestellungen entwickelt, welche in einem mikrobiellen und einem strukturmorphologischen Teil untersucht werden sollten:

- Ist der Er:YAG-Laser unter Auswahl geeigneter Parameter in der Lage, eine Reduktion von Mikroorganismen bzw. eine absolute Keimelimination im infizierten Wurzelkanal zu erreichen?
- II) Kommt es bei der Bestrahlung der Wurzelkanaloberflächen unter Veränderung der Versuchsparameter zu unterschiedlichen morphologischen Oberflächenveränderungen des Dentins?
- III) Ist das Auftreten spezieller morphologischer Dentinveränderungen für das Erreichen von Keimfreiheit im Wurzelkanal verantwortlich?

Zu diesem Zweck wurden die Wurzelkanäle einwurzeliger, oberer Frontzähne (n=85) maschinell aufbereitet. Für Teil I unserer Studie wurden 65 Proben mit Streptokokkus oralis,

Typ H1 (gram-positiv, gering thermophil) beimpft, mittels des Er:YAG-Lasers bestrahlt und anschließend die Kanalinhalte ausgewertet<sup>4</sup>. Als Laserparameter wurden die vom Hersteller empfohlenen Einstellungen verwandt.

Für die Oberflächenanalyse des Wurzelkanaldentins wurden in Teil II der Studie die Proben separiert, jede Hälfte in drei Flächen aufgeteilt (koronal, mittig, apikal) und diese rasterelektronenmikroskopisch untersucht (n=345)<sup>5</sup>. Die Ergebnisse der Oberflächenauswertung wurden mit Hilfe eines zu unseren Versuchszwecken entwickelten Scoringsystems der Kategorien 1-8 ausgewertet, wobei die Zuordnung der Flächen zu der jeweiligen Kategorie durch das Auftreten des höchst möglichen Scores erfolgte (qualitative Analyse). Hierbei modifizierten wir den von Bramante et al. 1987 [24] entwickelten <u>5-Score-Index für Debris und Smear-Layer<sup>6</sup></u> und erweiterten ihn auf acht Auswertungsparameter, welche nicht nur die Veränderungen von Dentinauflagerungen, sondern auch Veränderungen des Wurzelkanaldentins wiedergeben sollen.

# Scoringsystem zur Einteilung laserinduzierter Veränderungen von Wurzelkanalauflagerungen und Wurzelkanaloberflächen (siehe auch Tabelle 5, Seite 41-42):

1: homogener Smear-Layer-Belag und Debris

2: Smear-Layer und freie Dentinkanälchen im Verhältnis 3:1

- 3: Smear-Layer und freie Dentinkanälchen im Verhältnis 1:1
- 4: freies, sauberes Dentin
- 5: flache Dentinablationen
- 6: tiefe Kraterbildung
- 7: Perlen- und Blasenbildung
- 8: Schmelzkonfluate

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> sterile Kontrollgruppe: n=6; positive Kontrolle: n=6; NaOCl-Kontrolle: n=8 Proben

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Angelehnt an eine Studie von Barbakow et al. 1999 [15], wobei jede Probenhälfte in drei Sektionen (2mm, 6mm und 10mm vom Apex entfernt) geteilt wurde, und diese Flächen in Bezug auf Smear-Layer, Debris und rekristallisiertes Dentin überprüft wurden.

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Weiterführend modifiziert von Gambarini und Laszkiewicz 2002 [67], Rodig et al. 2002 [197], Versumer et al. 2002 [235], und Hülsmann 2003 [96].

## 2. Material

# 2.1 Laserstrahlung

#### 2.1.1 Lasergrundbegriffe

Ein Laser ist eine spezielle Lichtquelle, deren Strahlung im Sichtbaren (400-750nm), Infraroten (750-10µm) oder ultravioletten Bereich (250-400nm) des Lichtspektrums liegen kann. Das Wort Laser steht für "Light Amplifcation by Stimulated Emission of Radiation" und man versteht darunter die Verstärkung von Licht durch eine gesteuerte, stimulierte Aussendung von Strahlung. Bei der stimulierten Emission wird ein zuvor angeregtes Elektron von seiner Position auf einem höheren Energieniveau auf ein Tieferes gezwungen. Die frei werdende Energie wird in Form eines Lichtquants abgestrahlt. Alle Lichtquanten der so entstandenen Strahlung haben die gleiche Frequenz, die Phase, Polarisation und die Richtung. Diesen Entstehungsprozess bezeichnet man als Mechanismus der Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Photonen. Die Lichtverstärkung kann nur erfolgen, wenn einem Medium (Lasermedium) Energie zugeführt wird, so dass ein Pool an stimulierten Elektronen vorhanden ist. Die Auswahl des optischen Mediums bestimmt hierbei den Lasertyp. Man unterscheidet vier verschiedene Typen: Gas- und Edelgaslaser, Festkörperlaser (z.B. Neodym:YAG-Laser, Erbium:YAG-Laser, Rubinlaser), Farbstofflaser und Halbleiterlaser (Diodenlaser). Die Auswahl der entsprechenden Laser umfasst einen Wellenlängenbereich von 20nm bis 10µm. Bei den Festkörperlasern besteht das aktive Medium aus Atomen z.B. der Gruppe der Lanthanoide, welche ionisiert und in ein YAG-Kristall eingebracht werden. "Yttrium Aluminium Garnet" ist ein harter synthetischer Kristall mit Granatstruktur, dessen mechanische, optische und thermische Eigenschaften den Kristall zu einem geeigneten Lasermaterial machen. In der Kristallstruktur wird je nach Lasertyp das Yttrium ersetzt; z.B. durch Neodym oder Erbium. Die Anregung des Lasers erfolgt durch Lichtquellen (Blitzlampen), welche ein breites Lichtspektrum aussenden, das von dem Lasermedium gut absorbiert wird. Der Er:YAG-Laser emittiert Licht im Infrarotbereich mit einer Wellenlänge von 2,94µm. Die Eindringtiefe von Strahlung dieser Wellenlänge in Gewebe misst circa 1µm [47].

Laserlicht ist elektromagnetische Strahlung, die sich durch Kohärenz, Monochromasie und Konvergenz auszeichnet. Atome des normalen Lichts strahlen ihr Licht unregelmäßig, ungerichtet und in verschiedenen Wellenlängen (nicht phasengerecht) aus; es entsteht inkohärente, nicht zusammenhängende Strahlung. Im Gegensatz dazu verläuft Laserstrahlung

als gleichmäßige, zusammenhängende und gleichgerichtete Welle, d.h. phasengleich oder kohärent. Die Monochromasie ist eine Konsequenz der Kohärenz; sie drückt den einfarbigen Charakter des Laserlichtes aus. Ein weiterer Vorteil des Laserlichtes ist die geringe Divergenz aufgrund dessen sich der Laserstrahl nahezu parallel und gerichtet ausbreitet.

Abhängig vom Lasertyp kann der verstärkte Lichtstrahl in verschiedenen Modi ausgesandt werden; man unterscheidet Dauerstrichlaser (continuous-wave laser) und gepulste Laser. Im Dauerstrichmodus die Energie kontinuierlich und gleichmäßig emittiert; bei gepulsten Lasern wird die Energie in Einzelimpulsen in einer entsprechenden Wiederholungsrate emittiert und die Aussendung von Energie zwischen den Laserpulsen gestoppt. Weiterhin können Laser fokussiert oder defokussiert angewandt werden, wobei die Bestrahlung dann entweder punktförmig (hot spot) oder flächenhaft erfolgt und einen schneidenden oder ablativen Effekt zur Folge hat. Nicht alle Wellenlängen lassen sich über optische Fasersysteme übertragen, so dass die Anwendung bei diesen Lasern dann im Nicht-Kontaktmodus (punktförmig) oder Nicht-Kontaktmodus (defokussiert, flächenhaft) gearbeitet werden. Weiterhin können Kühlsysteme angeschlossen werden, welche durch Luft- oder Wasserkühlung die thermischen Effekte während der Bestrahlung reduzieren können.

Laserenergie und bestrahltes Gewebe interagieren in charakteristischer Art und Weise über vier verschiedene physikalisch-optische Mechanismen miteinander. Wenn Laserlicht auf Weichgewebe bzw. Hartgewebe (Knochen, Zähne) auftrifft, kann es reflektiert (keine Wirkung), gestreut, absorbiert oder an das umgebende Gewebe weitergeleitet werden (Transmission). Absorption kontrolliert zu einem großen Teil das Ausmaß in dem Reflektion, Streuung und Transmission auftritt; die Wellenlänge ist die bestimmende Größe der Absorption. Die Er:YAG- und CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung wird von den meisten Geweben und Materialien sehr gut absorbiert, da die Absorption vom Vorhandensein von Wasser bestimmt wird (Eindringtiefe im Wasser: ca. 10µm).

## 2.1.2 Effekte von Laserstrahlung auf Gewebe

Je nach einstrahlender Leistungsdichte treten bei der Interaktion von Gewebe und Laserstrahlung unterschiedliche Wirkungsmechanismen auf. Das reicht von photochemischen Effekten, die schon bei den kleinsten Leistungsdichten auftreten, über photothermische Wirkungen bis zu thermomechanisch ausgelösten photoablativen Prozessen bei den höchsten Leistungsdichten. Bei der Bestrahlung von Geweben wird das Licht gestreut und absorbiert. Es entsteht eine bestimmte räumliche Lichtverteilung im Gewebe, die durch seine optischen Eigenschaften bestimmt wird. Durch Absorption wird die Laserenergie im Gewebe hauptsächlich in Wärme umgewandelt (photothermische Effekte). Die Ausbreitung der Wärme wird entscheidend durch die Wärmeleitfähigkeit des Gewebes bestimmt. Wird das Gewebe soweit erhitzt, dass es zur Denaturierung von Proteinen und Kollagen kommt, so spricht man von Photokoagulation. Bei Steigerung der Energiedichte kommt es zum Verdampfen und Schrumpfen des Gewebes, weiterhin zur Karbonisation bis zur Pyrolyse<sup>7</sup>, die dann zur Abtragung auch der festen Gewebekomponenten führen kann (thermische Ablation).

Weiterhin können Moleküle in den Zellen des bestrahlten Gewebes durch dort eingebrachte Farbstoffmoleküle mittels Lichtabsorption angeregt werden. Dieses nennt man photochemische Wechselwirkung. Photochemische Prozesse sind Bestandteil lebenserhaltender Prozesse des Körpers, wie z.B. die UV-gestützte Vitamin-D-Synthese in der Haut, und werden auch ursächlich für die Entstehung von Photodermatosen oder Hautkanzerosen verantwortlich gemacht. In der Medizin nutzt man photochemische Prozesse für die photodynamische Therapie<sup>8</sup> und die Biostimulation<sup>9</sup>; hierfür sind extrem lange Bestrahlungszeiten bei niedriger Energiedichte erforderlich.

Als dritte Möglichkeit finden verschiedene nichtlineare Wechselwirkungen zwischen Strahlung und Gewebe statt. Besondere Bedeutung haben dabei die Photoablation und optomechanische, photodisruptive Effekte [78]. Es zeigt sich, dass die Mechanismen der Wechselwirkungen in der Praxis an verschiedene Pulsdauern und Leistungsdichten gebunden sind. Nichtlineare Prozesse treten bei kurzen Pulsen mit extrem hoher Leistungsdichte auf. Voraussetzung für diese Art der Abtragung von Gewebe ist ein hoher Absorptionskoeffizient. Wird die Energie bei der Bestrahlung in hoher Dichte extrem schnell zugeführt, wird sie verbraucht, ohne dass ein merklicher Anteil an Wärme auf das benachbarte Gewebe einwirkt. Das bestrahlte Gewebsvolumen wird dabei explosionsartig weggeschleudert. Dieser nicht thermisch bedingt Effekt wird als Photoablation oder "kaltes Schneiden" bezeichnet. Bei

<sup>4</sup> photodynamische Therapie:

<sup>5</sup> Biostimulation:

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Als Pyrolyse bezeichnet man die Zersetzung von festen oder flüssigen Stoffen bei hohen Temperaturen (400-700°C) unter Sauerstoffausschluss.

Tumore werden z.B. mit Farbstoffen angereichert, die durch die Strahlung aktiviert werden; ihre Reaktionsprodukte zerstören den Tumor. Bei der Photosensibilisierung soll rotes Licht im Tumor absorbiert werden und dabei photochemische Reaktionen auslösen.

Biostimulation (Einsatzgebiet: Dermatologie, Orthopädie, Akupunktur): Therapieform bei der extrem schwache Laserbestrahlung (Softlaser) genutzt wird, um z.B. Wundheilungsprozesse zu begünstigen und zu verbessern.

weiter gesteigerter Leistungsdichte kommt es zur Bildung eines oberflächlich aufliegenden Gases (ionisiertes Gas oder Plasma). Es schließen sich photodisruptive Prozesse an, die verbunden sind mit einem plötzlichen Druckanstieg. Die Folge ist das Auftreten einer Stoßwelle, die sich mit großer Geschwindigkeit ausbreitet. Es kommt dann zu explosionsartigen, das Gewebe förmlich zerreißenden Ablationen.

#### 2.1.3 <u>Thermische Eigenschaften von Geweben</u>

Der Vorgang des Aufheizens von Gewebe und daraus sich entwickelnde Mechanismen (Photokoagulation) wird durch die thermischen Eigenschaften des Gewebes beeinflusst. Hierbei sind wiederum zahlreiche Parameter für die individuelle Antwort des entsprechenden bestrahlten Gewebes verantwortlich: z.B. Temperaturleitfähigkeit, Dichte, Wärmekapazität, Phasenübergangstemperaturen und Wärmekoeffizient der Gewebes.

Bei Bestrahlung von Gewebe mittels Laserlicht, kommt es immer zu einer Umwandlung von Lichtenergie in Wärmeenergie. Es entsteht eine räumliche Temperaturverteilung; die Temperatur steigt während der Bestrahlung an und abklingt danach wieder ab. Bei einer Temperaturerhöhung um maximal 5°C (von Körpertemperatur auf ca. 42-45°C) sind keine irreversiblen Gewebeschäden zu erwarten. Eine Erhöhung auf bis zu 60°C führt definitiv durch Koagulation des Gewebes (Denaturierung von Proteinen; Schädigung der organischen Matrix im Dentin) zur Nekrose (Pulpanekrose), sofern die Temperatur über einige Sekunden wirkt. Bei weiterer Wärmezufuhr bleibt die Temperatur im Gewebe am Siedepunkt des Wassers bei 100°C solange konstant, bis das Gewebswasser verdampft ist. Es kommt zur extremen Austrocknung, Schrumpfung und im Hartgewebe zu Rissbildungen. Erst nach der Austrocknung ist ein weiterer Anstieg der Temperatur zu verzeichnen. Ab 100°C kommt es dann zur Verfärbung und ab 150°C zum Verkohlen (Karbonisierung, Verschmelzung) des Gewebes. Ab 300°C wird das Gewebe verdampft; die Laserbestrahlung führt dann bei flächenhafter, defokussierter Anwendung zum extendierten Substanzabtrag bzw. kann mittels punktförmig fokussierter Strahlung schneidend verwandt werden.

Um thermische Nebenwirkungen im Gewebe zu reduzieren, um hitzebedingten Materialverschleiß an den empfindlichen optischen Glasfasern zu vermeiden und auch zur Säuberung der Optik, können Laserfasern und Laserendoskope individuell über Kühlsysteme mit Gasen oder Flüssigkeiten gespült werden. Für Laser im ultravioletten und fernen infraroten Spektralbereich (CO<sub>2</sub>-Laser) wird die Strahlung im Wasser zu stark absorbiert, so dass eine Flüssigkeitsspülung nicht möglich ist.

## 2.1.4 Optische Eigenschaften von Geweben

Die optischen Eigenschaften von Geweben legen fest, in wie weit Laserlicht charakteristisch einwirken, d.h. absorbiert werden kann. Farbe und Struktur des Gewebes beeinflussen stark die Effektivität der eingesetzten Lasertypen, was sich besonders auffällig in der Ausprägung der Wirksamkeit bei der Bestrahlung von Schmelz- und Dentinstrukturen bemerkbar macht. Pigmentiertes Gewebe (z.B. kariöses Dentin) absorbiert in weit höherem Maße Nd:YAG-Laserstrahlung als nicht pigmentiertes Gewebe; sauberes, gesundes, opakes Dentin absorbiert wenig Nd:YAG-Strahlung, während sklerotisches, transluzentes Dentin fast überhaupt keine Strahlung dieser Wellenlänge aufnehmen kann. Wenn sich Dentin somit während der Bestrahlung erhitzt und verfärbt, dann steigt auch der Absorptionsgrad von Nd:YAG-Laserstrahlung an.

Insbesondere im infraroten Spektralbereich (CO<sub>2</sub>- und Er:YAG-Laser) wird die Absorption im Gewebe durch Wasser bestimmt. Im Dentin ist der hohe Wasser- und Hydroxylapatitgehalt (14%) des Hartgewebes verantwortlich. Das Absorptionsmaximum von Dentin liegt bei 2,9µm; die Wellenlänge des Er:YAG-Lasers (2,94µm) kommt dem nahe. Die Pigmentierung oder die Farbe des Gewebes spielt bei der Bestrahlung mittels des Er:YAG-Lasers (im Gegensatz zu der Nd:YAG-Behandlung) keine Rolle. Zur Kennzeichnung der optischen Eigenschaften von Geweben benötigt man Definitionen für Absorptions- und Streukoeffizienten. Die Intensität eines parallelen Laserstrahls nimmt beim Eindringen in das Gewebe mit zunehmender Tiefe ab. Die effektive Intensitätsverteilung der gesamten Laserstrahlung im Gewebe setzt sich aus der Intensität des Primärstrahls plus der Intensität der Streustrahlung aus der Umgebung zusammen.

Faktoren, welche die erzeugten Gewebeeffekte verantworten und beeinflussen, sind Wellenlänge, Pulsdauer, Energie, Leistung, Wellenart, die optischen und thermischen Eigenschaften des Absorptionsmediums, Energiedichte und Leistungsdichte. Die Wellenlänge bestimmt die Qualität der Reaktion zwischen Laser und Gewebe; Energieintensität und Gewebeeigenschaften geben die Quantität oder die Ausprägung an, mit der die Gewebeantwort erfolgt. Optische Eigenschaften verändern sich jedoch bei wechselnden Temperaturbedingungen, z.B. bei einer Temperaturerhöhung aufgrund des Wasserverlustes des Gewebes. Es gibt eine unbegrenzte Anzahl von Kombinationen dieser oben genannten Faktoren; einige Kombinationen resultieren in einer nicht zu verantwortenden Zerstörung des Gewebes. Das unterstreicht den Bedarf gründlichen Testung der jeweiligen Parameter und ihrer Kombinationen, bevor ein Einsatz am Patienten in Erwägung gezogen werden darf und kann.

# 2.2 Er:YAG-Laser und Applikationssysteme

Wir verwandten bei unseren Versuchen den Erbium-YAG-Laser "Key Laser 1242" der Firma KaVo Dental GmbH (Bieberach, Deutschland).

Es handelt sich hierbei um einen Festkörperlaser der Laserklasse 4<sup>6</sup>.

# 2.2.1 Key Laser 1242: Technische Daten und Wirkungsweise

Wellenlänge	2,94 µm
Pulsenergie	60-500 mJ
Pulsfrequenz	1-15 Hz
Transmissionsfaktor	0,42.
Pilotstrahl	635 nm/mW
Leistungsaufnahme	max. 1,5 kW
Anschluß	230 V; 50/60 Hz; 10 A
Abmessungen	1000 x 380 x 640 mm
Handstück:	E 2055
Applikationssystem:	Faserstecker Gr. 40/28

Der Er:YAG-Laser "Key 1242" findet seinen Einsatz auf dem zahnärztlichen Gebiet vor allem im Bereich der präventiven und konservierenden Zahnheilkunde. Hierbei stehen die Schmelzkonditionierung ("Laserätzen" der Fissuren vor Versiegelung), die selektive, schmerzreduzierte Entfernung von Dentin (Kariesexkavation), die Dentinkonditionierung und die Wurzelkanaltherapie im Vordergrund. Im Bereich der Endodontie wird die Anwendung des Er:YAG-Lasers in Kombination mit konventionellen keimreduzierenden Maßnahmen zur Behandlung infizierter Wurzelkanäle empfohlen.

Zur lasertechnischen Keimabtötung<sup>7</sup> sind laut Herstellerangaben bereits einzelne Laserpulse wirksam; die Wirkung der Einzelimpulse summiert sich kumulativ. Für eine effiziente

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Laser-Klasse 4: Diese Laser können diffuse Reflexionen erzeugen, Verletzungen der Haut und Schleimhaut hervorrufen und zu Brandgefahr führen. Ihre Anwendung erfordert äußerste Vorsicht. (DIN EN 60825-1)

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Im infraroten Spektralbereich wird die Absorption von Laserstrahlung im Gewebe besonders durch den Wasseranteil des Gewebes bestimmt. Durch die hohe Absorption von Laserlicht bei einer Wellenlänge von 2,94µm (Er:YAG- und CO<sub>2</sub>-Laser) wird der Feuchtigkeitsanteil in den Zellen in verdampft; die Zellmembran platzt auf und die Bakterien werden zerstört.

Keimabtötung ist eine Gesamtdosis von 100 J/cm<sup>2</sup> notwendig. Um bakteriell stark kontaminierte Wurzelkanäle zu behandeln, empfiehlt es sich, die kumulative Wirkung des laserinduzierten bakteriziden Effektes auszunutzen und gegebenenfalls die Anzahl der Laserbehandlungsdurchgänge zu erhöhen. Die für die Keimreduktion erforderliche Energie steigt mit der Vergrößerung der Kanaloberfläche, d.h. mit dem Wurzelkanaldurchmesser (steigender Iso-Größe) an; hierbei ist dann zum Erreichen der notwendigen Gesamtdosis eine grössere Anzahl von Behandlungsdurchgängen erforderlich. Bei abnehmender Stärke der Dentinschicht zwischen Wurzelkanal und Desmodont (Restdentinstärke) verringert sich die maximal zulässige Pulsfolgefrequenz und/oder die minimale Rückzugsgeschwindigkeit; d.h. die Bestrahlungsparameter (Rückzugsgeschwindigkeit, Laserparameter, Anzahl der Bestrahlungsdurchgänge) richten sich nach der Restdentinstärke, welche aus dem Röntgenbild abzuschätzen ist. Zur Orientierung bei der Parameterwahl werden vom Hersteller Leitwerte vorgegeben, welche einer entsprechenden Tabelle zu entnehmen sind<sup>8</sup>.

Die durch die Laserbestrahlung bedingte Erwärmung des Zahnes und des umgebenden Gewebes wird im Wesentlichen durch die in einem einzelnen Bestrahlungsdurchgang zugeführte Energie bestimmt. Um eine Erwärmung des Desmodonts und des Alveolarknochens über 7°C zu verhindern, darf die Pulsfrequenz nicht zu hoch bzw. die Rückzugsgeschwindigkeit der Faser nicht zu klein gewählt werden. Um eine zu starke Temperaturerhöhung während des Laservorganges zu verhindern, kann intern über das Handstück eine Luft- oder Wasserkühlung erzielt werden oder extern über eine Spritze das Faserinstrumente gekühlt werden. Der Wirkungsbereich des Laserlichtes liegt bis zu 3mm von der Faserendfläche entfernt. Der Hersteller empfiehlt deswegen das Kreisen der Faser im Wurzelkanal während des Faserrückzuges, welches den Zweck verfolgt, den Umfang der Kanalwandung möglichst gleichmäßig zu bestrahlen. Befindet sich die Faser apikal, so ist der Abstand zu verschiedenen Stellen des Umfanges aufgrund der engen Führung relativ gleichmäßig. Erreicht die Faser die koronalen Bereiche, so wird der Umfang zum Teil groß

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Empfohlene Parameterwahl bei folgender Restdentinstärke D:

D	f	v	1	1
mm	Hz	mm/sek	Iso 50	Iso 30
0,5-0,7	6	2	10	6
0,8-0,9	10	2	6	4
1,0-1,5	15	2	4	3
> 1,5	15	1,50	3	2

und mäanderförmig. In diesen Bereichen ist es angebracht, am Umfang des Mäanders entlangzufahren, um alle Regionen der Kanalwand zu erreichen.

Bei der Auswahl der optischen Fasern sollte jeweils das Instrument ausgewählt werden, welches dem Iso-Wert der Kanalaufbereitung entspricht. Bei Auswahl einer zu großen Faser besteht die Gefahr von Verkeilung und Bruch des optischen Instrumentes. Falls das kontinuierliche Herausziehen der Faser durch Einhaken behindert werden sollte, so ist die Auslösung mittels Fußschalters zu stoppen, bis die Faser wieder frei beweglich ist.

Über das Display des Key-Laser-Monitors sind obengenannte Daten zu überprüfen bzw. einzustellen. Da die verschiedenen Lasersysteme (Handstücke und Applikationsinstrumente) mit unterschiedlichen optischen Komponenten zur Fokussierung und Lichtleitung aufgebaut sind, bestehen zwischen den verschiedenen Lasersytemen Transmissionsunterschiede.

Der im Display für die Pulsenergie angezeigte Wert entspricht der Energie, welche bei der Verwendung des jeweiligen Winkelstückes am Austrittsfenster auftritt. Um die real austretende Pulsenergie am Ende der entsprechend verwandten Applikatiosfaser zu ermitteln, muß die Pulsenergieanzeige mit dem jeweiligen Transmissionsfaktor: "T" multipliziert werden. Entsprechende Transmissionsfaktoren können dem technischen Handbuch des Gerätes entnommen werden. In unserer Studie kommt das Handstück E 2055 mit dem Faserstecker Gr. 40/28 zur Verwendung; hierbei ist der Transmissionsfaktor 0,42.



(1) Pulsenergie am Austrittsfenster

Abbildung 1: Monitor-Display Key-Laser

# 2.2.2 <u>Handstück E 2055</u>



- (1) Handstück
- 2) Faserstecker
- (3) Faser (Applikationsmedium)
- (4) Röhrchen mit Silikonschlauch
- (5) Ringkennzeichnung

Abbildung 2: optische Faser, KaVo Key Laser

# 2.2.3 Faserstecker Gr. 40x28



- (6) Austrittsfläche
- (7) Einkoppelfläche

Abbildung 3: optische Faser, KaVo Key Laser

Die Fasern sind beim Hersteller in vier verschiedenen Ausführungsarten erhältlich; unterschieden werden können die optischen Faserstecker durch entsprechende Ringkennzeichnung am Faserschaft. Hierbei liegen die Unterschiede in Faserdurchmesser und Faserlänge, was mit einem jeweils unterschiedlichen Transmissionsfaktor korreliert<sup>9</sup>. Es sollte der Fasersteckers zur Anwendung kommen, welcher mit seinem Durchmesser annähernd der Iso-Grösse der Wurzelkanalaufbereitung entspricht. In unserem Fall findet der Faserstecker Größe 40x28 Verwendung, welcher mit seinem Durchmesser bei einer Aufbereitung der Proben von Iso 45 geeignet ist.

Die optische Faser Gr. 40/28 weist folgende Charakteristika auf:

Faser-Außendurchmesser0,375 mmFaserüberstand (freie Länge)28 mmTransmissionsfaktor0,42Kennzeichnung2 Ringe



Die Faserstecker sind drehbar, können einfach ausgewechselt und autoklaviert werden. Da durch die Sterilisation im Fasermaterial versprödete Fehlstellen entstehen können, welche die Bruchgefahr des Instruments erhöhen, wurde auf die Verwendung von sterilisierten Instrumenten verzichtet und für jede Applikation eine neue Faser verwendet. Die Endfläche der Faser wird bei zunehmendem Gebrauch, insbesondere bei der Bestrahlung von Hartgeweben und bei Bestrahlung mit geringem Applikationsabstand unter senkrechter Ausrichtung der Faser zur Oberfläche, relativ stark beansprucht, welches eine Abnutzung der Faser zur Folge hat. Eine Leistungsbeeinträchtigung durch eine beschädigte Faseraustrittsfläche ist daran zu erkennen, daß der Pilotstrahl gegenüber dem Neuzustand etwas stärker gestreut wird oder der Abtragseffekt des Arbeitsstrahls nachläßt. In diesem Falle kann jedoch die abgenutzte Austrittsfläche mit Hilfe von feinstkörnigem Schleifpapier problemlos wieder aufgearbeitet werden. Hierbei wird die Faserspitze senkrecht zur Oberfläche des Schleifpapiers gehalten und durch zehnmaliges Hin- und Herbewegen des Schleifpapiers überschliffen. In unseren Versuchsreihen wurde auf eine Aufarbeitung der Spitze verzichtet und diese nach dreimaliger Benutzung (entspricht drei Bestrahlungsdurchgängen) stets durch einen neuen Faserstecker ersetzt, um einer mögliche Leistungsbeeinträchtigung des Lichtsystems und damit der Verringerung der Energieleistung entgegenzuwirken.

Faserstecker Größe	30/28	40/28	50/28	50/10
Kennzeichnung	1 Ring	2 Ringe	3 Ringe	3 Ringe
Außendurchmesser	0,285 mm	0,375 mm	0,470 mm	0,470 mm
Faserlänge	28 mm	28 mm	28 mm	10 mm
Transmissionsfaktor	0,34	0,42	0,46	0,54

# 2.3 Wurzelkanalaufbereitungssysteme

Für die Wurzelkanalpräparation wurde das maschinelle Aufbereitungssystem ProFile<sup>®</sup>.04 der Fa. Maillefer<sup>10</sup> (Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Schweiz) ausgewählt. Bei diesen Wurzelkanalinstrumenten handelt es sich um Feilen einer Nickel-Titan-Legierung (56% Nickel; 44% Titan; Anteile von C, O, Fe, N und H), welche verantwortlich für eine hohe Flexibilität der Feilen ist. Der Vorteil dieser Legierung liegt darin, dass sich die Instrumente nach mechanischer Auslenkung sofort wieder in ihre ursprüngliche Position zurückstellen. Aufgrund der hohen Elastizität und Flexibilität folgen die Feilen während des Präparationsvorganges dem natürlichen Weg des Wurzelkanals. Dieses soll ein Abweichen oder Verlassen des Instrumentes vom regulären Wurzelkanalverlauf verhindern. Wesentliches Merkmal des ProFile<sup>®</sup>.04-Systems ist die Konizität der Instrumente von 4% (taper.04), was dem Doppelten der Konizität herkömmlicher Iso-Wurzelkanalinstrumente entspricht (taper.02). Aufgrund der konischen Gestaltung der Feilen wird das koronale Kanaldrittel verstärkt erweitert und damit ein Klemmen der initialen Feilen in diesem Bereich vermieden. Dadurch soll ein druckloses Aufbereiten nach apikal mit Verminderung der Gefahr der Instrumentenfraktur sichergestellt werden. Die konische Aufbereitung des Wurzelkanales mit ProFile<sup>®</sup>.04 ist auch für das Spülen des Kanales von Vorteil. Das Spülmedium lässt sich mit weniger Druck in das apikale Drittel applizieren, wodurch die antimikrobielle Eigenschaft der Spüllösung in der Region massivster Keimbesiedelung besser zur Wirkung kommt und auch das Herausspülen der bei der Kanalaufbereitung entstandenen Dentinspäne begünstigt wird.



Abbildung 4: ProFile<sup>®</sup>.04-Feilensystem



Abbildung 5: ProFile<sup>®</sup>.04 Iso-Größe 45

<sup>&</sup>lt;sup>10</sup> Im Bereich der mechanischen Wurzelkanalaufbereitung unterliegen die auf dem Markt erhältlichen Aufbereitungssysteme einer raschen Fluktuation. ProFile<sup>®</sup>.04 ist als Systemsatz nicht mehr erhältlich und kann jetzt mit Systempaletten wie ProFile<sup>®</sup>.06, ProFile<sup>®</sup>.04/.06 & Orfice Shapers und GT<sup>®</sup> individuell zusammengestellt werden.

Die ProFile<sup>®</sup>-Instrumente haben einen U-förmigen Querschnitt mit einer Abrundung im Bereich der Schneidekante (sog. radial-land), welches ein effektives, jedoch schonendes Schneiden gewährleistet. Die Wurzelkanalinstrumente weisen zusätzlich eine Instrumentenspitze ohne Übergangswinkel auf. Die Spitze ist damit weniger aktiv und dient eher als Führungsspitze als als Schneide. Beide Eigenschaften sollen die Gefahr einer Kanalverlagerung (sog. elbow-zip), bzw. einer Kanalperforation (sog. via falsa) reduzieren und dienen der Erhaltung der natürlichen Morphologie des Wurzelkanals. Bei der maschinellen Aufbereitung des Wurzelkanals mittels ProFile<sup>®</sup>.04 liegt die empfohlene Arbeitsgeschwindigkeit bei 250 U/min.

# 2.4 Gammasterilisation der Versuchsobjekte (Zähne)

Unter Sterilisation versteht man die vollständige Abtötung aller lebensfähigen Mikroorganismen einschließlich hochresistenter Dauerformen sowie die Inaktivierung von Viren. Ist nach dem Sterilisationsvorgang die Elimination der Keime erreicht bzw. sind diese in ihrer Teilungsfähigkeit limitiert worden und ist eine Rekontamination des sterilisierten Gutes ausgeschlossen, so spricht man von Sterilität.

Die Verfahren der thermischen Sterilisation wie der Dampfsterilisation (Autoklavierung) bzw. der Sterilisation der Versuchsobjekte durch trockene Hitze (Heißluft) scheiden für unsere Versuchszwecke aus, da es bei diesen Methoden zu extrem hohen Temperaturen (120°C bzw. 250°C) kommt, welche ein Austrocknen der Zahnhartsubstanzen mit Craquele-Bildung bzw. Frakturbildung zur Folge haben können. Die alternativ zur thermischen Sterilisation zu wählende Gassterilisation mittels Ethylenoxid scheidet aufgrund der schlechten Diffusionsfähigkeit des Gases in innere Schichtbereiche aus.

Zur Sterilisation dentaler Hartgewebe bieten sich Verfahren mittels ionisierender Strahlung (Röntgen-,  $\alpha$ -,  $\beta$ - bzw.  $\gamma$ -Strahlung) an, welche zur Sterilisation thermolabiler Materialien (z.B. Lebensmittelsterilisation, medizinische Einwegmaterialien, Medikamente) dienen. Diese Methoden gewährleisten eine enorme Durchdringungstiefe, ohne das bestrahlte Material zu erhitzen, so dass es, wie für unsere Versuchszwecke notwendig, beim Sterilisationsverlauf nicht zu einer Veränderung oder irreperablen Schädigung der Zahnstrukturen kommen kann. Für unsere Zwecke wählten wir das Verfahren der  $\gamma$ -Sterilisation. Es handelt sich hierbei um kurzwellige, elektromagnetische Strahlung ( $\gamma$ -Quanten). Bei Zerfall instabiler Atomkerne spezieller Isotope kommt es auf der einen Seite zur Aussendung von Elektronen ( $\beta$ -Strahlung), auf der anderen Seite zur Entstehung von  $\gamma$ -Quanten, welche beide zur Sterilisation von temperatursensiblen Produkten genutzt werden.

Die Absorption dieser ionisierender Strahlung zerstört dosisabhängig strahlensensible, biologische Strukturen (Erzeugung von Enzym- bzw. DNA-Defekten), wodurch es zur Beeinträchtigung der Zellfunktion und/oder zum Zelltod kommen kann und sorgt somit für die Keimfreiheit des bestrahlten Materials<sup>11</sup>. Untersuchungen von White et al. ergaben 1994, dass bei diesem Verfahren eine vollständige Sterilisation der Zahnhartsubstanzen gewährleistet wird, ohne diese zu schwächen oder zu zerstören [242]. Negative Effekte der Strahlung auf die Härte des Wurzeldentins, auf Wurzelkanalauflagerungen bzw. die Dentindurchlässigkeit können somit ausgeschlossen werden.

Zur Überprüfung der Wirksamkeit von Sterilisationsmethoden werden Bioindikatoren eingesetzt, bei welchen es sich um ausgewählte Mikroorganismen handelt, die besonders resistent gegen die jeweiligen Sterilisationsverfahren sind. Als Testkeime für die Sterilisation mittels ionisierender Strahlung werden Sporen des Bacillus pumilus für einen entsprechenden Dosisrichtwert empfohlen. Bestimmend für die Strahlensterilisation ist die Letaldosis für Mikroorganismen aus dem sich der Strahlendosis-Richtwert für medizinisches Sterilisationsgut ergibt [18]; er liegt bei 25 kGy [3, 25].

<sup>&</sup>lt;sup>11</sup> Durch die Gammabestrahlung werden Primärdefekte im Bereich der DNS induziert, welche sich in Fehlleistungen und Störungen im Bereich der Stoffwechsel- oder Zellphysiologie bemerkbar machen (z.B. Verminderung der Transkription).

# 2.5 Nährmedien (Nährbouillon und Nähragar)

Nährmedien sind für die Kultivierung, Isolierung oder zum Nachweis tierischer und menschlicher Zellen erforderliche Nährlösungen. Da Bakterien solitär nicht zu allen Stoffwechselvorgängen befähigt sind, müssen die Nährmedien mit organischen Nährstoffen angereichert sein. Unterschieden wird bei den Nährmedien zwischen flüssiger Nährbouillon, halbfesten oder festen Substraten (Nähragar) zur Bakterien- und Pilzzüchtung. Flüssige Nährbouillon wird meist zur Gewinnung von Bakterien genutzt; feste Nährböden werden zum Bakteriennachweis bzw. zur Bakterienselektion verwendet. Bakterienkolonien lassen sich bei der Plattenauswertung nicht nur durch ihre Form, ihr Aussehen oder ihr Wachstumsverhalten differenzieren, sondern unterscheiden sich auch in vielen Fällen durch Farbe und Geruch. Nach der Zusammensetzung unterscheidet man komplexe oder nichtsynthetische, halbsynthetische und vollsynthetische Nährböden. Grundlage komplexer Nährböden sind Substanzen natürlicher Herkunft wie Bouillon, Blut, Hirnbrei, Serum, und Peptone. Halbsynthetische Nährböden bestehen aus einem chemisch definierten, synthetischen Grundmedium mit Zusätzen komplexer organischer Substanzen, wie z.B. Fleisch- oder Hefeextrakt. Vollsynthetische Nährböden sind chemisch genau definierte Substrate. Hauptbestandteile dieser Nährmedien sind gepufferte isotonische Salzlösung, essentielle und zum Teil auch nicht essentielle Aminosäuren, L-Glutamin, Vitamine und Glukose.

Die <u>Nährbouillon</u> stellt die Grundlage der am häufigsten in der bakteriellen Diagnostik verwandten nichtsynthetischen Nährböden dar und/oder kann auch als alleiniges Nährmedium dienen. Sie besteht aus Fleischwasser mit Zusatz von 1% Pepton (gewonnen aus Fleisch bzw. Soja), 0,3% NaCl und 0,2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> bzw. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. <u>Nähragar</u> besteht aus Agar (10-15%) und Trockennährbouillon, die Pepton, Eiweisshydrolysat, Hefeextrakt und NaCl als Substrat enthält. Universalnährböden wie z.B. Blutagar erlauben aufgrund des hohen Nährstoffangebotes die Aufzucht vieler verschiedener Mikroorganismen.

Zur Gewinnung von Streptokokkus oralis diente uns als Nährbouillon sterile gepufferte Soja-Broth, in welcher die Streptokokken vom Typ H1 (Strep. oralis) kultiviert wurden. Zum Nachweis und zur Identifizierung der Streptokokken verwandten wir Columbia Blutagarplatten (Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland), welche mit Glukose angereichert wurden. Die Columbia-Agar-Basis in der typischen Zusammensetzung (g/l) besteht aus Nährsubstrat (23,0), Stärke (1,0), NaCl (5,0) und Agar-Agar (13,0). Der pH-Wert des Agar sollte im Bereich von 7,2-7,8 liegen. Das Temperaturoptimum für Streptokokken liegt bei 37°C.

# 2.6 Bakterienauswahl

# 2.6.1 Streptokokken

Bei der Familie der Streptococcaceae handelt es sich um Mikroorganismen, welche den Enterobakterien angehören. Zu den klinisch am wichtigsten gehören die Enterokokken und Streptokokken, wobei es sich bei letzteren um charakteristische Schleimhautparasiten handelt, welche bei Mensch und Tier typische Infektionen hervorrufen können.

Die Streptokokken sind kugelige oder ovale, gram-positive, unbewegliche, sporenlose Mikroorganismen, welche sich zu gewundenen Ketten zusammenlagern. Nach klinischer Bedeutung kann man sie in vier Gruppen unterteilen:  $\beta$ -hämolytische, orale Streptokokken, Pneumokokken und Enterokokken. Die oralen Streptokokken beinhalten die sogenannten  $\alpha$ hämolysierenden Viridans-Streptokokken und die nicht-hämolysefähigen Strepto-kokken, welche beide wichtige Bestandteile der physiologischen Rachenflora sind. Zuerst besiedeln jedoch vergrünende, alpha-hämolytischen Streptokokken kurz nach der Geburt die zu dieser Zeit noch sterile Mundschleimhaut des Neugeborenen; daraus entwickelt sich dann später eine vielgestaltige Mundflora [33].

Die Einteilung der Streptokokken gestaltet sich schwierig. Die Zuordnung erfolgt entweder nach dem Hämolyseverhalten oder nach der Antigenstruktur der Zellwand (Lancefield-Gruppen oder Sero-Typ). Die Einteilung der Erreger nach Hämolyseverhalten und serologischer Gruppe macht es möglich, die Pathogenität des Bakteriums zu bestimmen.

Die β- oder echte Hämolyse zeichnet sich dadurch aus, dass die Bakterienkolonien von einem großen, scharfbegrenzten hellen Hof umgeben sind. Der Grund dafür ist, dass das Hämoglobin der Erythrocyten im Blutagar von den Hämolysinen der Streptokokken vollständig abgebaut wird. Zu den β-hämolysierenden Streptokokken gehört Streptococcus pyogenes (Sero-Gruppe A). Bei der α-Hämolyse sind die Kolonien von grünen Höfen unterschiedlicher Farbintensität umgeben; man spricht dann von Vergrünung. Hierbei kommt es zu der Reduktion des Hämoglobins zu Biliverdin (Methämoglobin); unter Freisetzung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kommt es zu einem entsprechenden Farbwechsel. Zu den α-hämolysierende Streptokokken gehören z.B. Streptokokkus salivarius und Streptokokkus sanguis. Die γ-hämolysierende Streptokokken, z.B. Streptokokkus mutans, lösen keine Hämolyse-Reaktion aus.

Die Zellwand der Streptokokken zeichnet sich durch einen besonders hohen Gehalt an Polysacchariden aus, die mit dem Peptidoglykan eine sehr feste Struktur bilden und somit die Zelle entscheidend vor einem enzymatischen Abbau schützt. Gruppenspezifische Polysaccharid-Ketten (C-Substanz/C-Protein) sorgen für den Antigencharakter des Bakteriums und sind somit Träger der typenspezifischen Antigenität (sog. Lancefield-Antigene). Alle Stämme mit gleichem Antigen (C-Protein) werden einer Lancefield-Gruppe, auch Sero-Gruppe genannt, zugeordnet. Es gibt jedoch auch Streptokokken ohne Gruppenantigene, welche sich nicht anhand der Lancefield-Nomenklatur differenzieren lassen.

# 2.6.2 <u>Streptokokkus oralis H1</u>

Das von uns für die Versuchsreihen verwendete Bakterium Streptokokkus oralis vom Typ H1 zählt zu den in der Mundhöhle vorkommenden oralen Streptokokken vom Viridans-Typ. Es handelt sich hierbei um vergrünende,  $\alpha$ -hämolysierende Streptokokken, welche Hydrolyse verursachen. H1 zeigt eine spezifische Adhärenz für das den Zahnschmelz überziehende Schmelzhäutchen und spielt somit eine Rolle bei der Entstehung der Karies.

H1 kann als anspruchsloser Keim bezeichnet werden, der ständig wechselnde Laborbedingungen schadlos überstehen kann. Weiterhin stellt er niedrige Ansprüche an das ihn umgebende Milieu und den verwendeten Nährboden. Aus diesen Gründen ist er anderen, anspruchsvolleren Keimen, welche in ähnlichen Versuchsabläufen Anwendung finden, vorzuziehen.

# 2.7 Spüllösung: Natriumhypochlorit

Ziel der Behandlung infizierter Wurzelkanäle ist es, Mikroorganismen und die von ihnen freigesetzten toxischen Stoffwechselprodukte aus dem Kanallumen und von der Kanalwandoberfläche zu entfernen, um das Kanalsystem zu reinigen. Die alleinige Aufbereitung mittels konventioneller oder maschineller Wurzelkanalinstrumente ist nicht ausreichend, um ein keimreduziertes Milieu im Bereich des Wurzelkanalsystemes zu erhalten [232]. Somit werden bei der Wurzelkanaltherapie zusätzlich zur Kanalpräparation Spüllösungen verwendet, welche antimikrobielle Eigenschaften aufweisen, eiweißdenaturierend wirken und in der Lage sind, vitales und nekrotisches Pulpagewebe aufzulösen ohne im periapikalen Bereich von toxischer Eigenschaft zu sein [240, 254, 255]. Weiterhin verfolgt die Spülung den Zweck, die bei der Aufbereitung anfallende Dentinspäne nach koronal zu spülen, um ein apikales Kondensieren des gefeilten Dentinmaterials zu verhindern.

Für die Wurzelkanaltherapie stehen grundsätzlich verschiedene Spüllösungen in unterschiedlichen Konzentrationen zur Verfügung. Darunter wären als wichtigste zu nennen: Natriumhypochlorit, Wasserstoffperoxid, Zitronensäure, EDTA (Ethylen-Diamin-Tetra-Essigsäure) und eine Kombination aus EDTA plus Harnstoffperoxid, welche unter dem Produktnamen RC-Prep<sup>®</sup> bekannt ist.

Produkte auf EDTA-Basis besitzen einen relativ neutralen pH-Wert von 7,3. Eine Neutralisierung des durch die Bakterien verursachten sauren Kanalmilieus und damit ausreichende toxische Wirksamkeit der Spüllösung ist bei diesem pH-Wert nicht gegeben. EDTA-Lösungen besitzen die Eigenschaft, die Dentinoberfläche leicht anzulösen (Herauslösen von Kalziumionen aus dem Hydroxylapatitmolekül), welches bei dem Versuch, apikale Obliterationen zu entfernen, von Vorteil ist. Weiterhin wird dadurch der Feilungsvorgang bei der Kanalpräparation begünstigt, da durch die Bildung einer durch EDTA provozierten Schmierschicht ein druckärmeres Aufbereiten besonders bei stark gekrümmten Kanälen möglich ist und dies eine Reduzierung der Instrumentenbruchhäufigkeit bedeutet.

Wasserstoffperoxid ist eine schwache Säure und besitzt somit bakterizide Eigenschaften. In einer exothermen Reaktion zersetzt sich H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu Wasser und elementarem Sauerstoff, welches ein Aufschäumen der Lösung während des Spülvorganges bewirkt und ein Herausspülen der Dentinspäne während der Kanalaufbereitung leistet. Auf der anderen Seite kommt es durch den naszierenden Sauerstoff zum Abtrag von organischen Auflagerungen (Smear-Layer, Debris), welche der Wurzelkanaloberfläche anhaften. Einzelne Anwender favorisieren eine Wurzelkanalspülung mit kombinierter Anwendung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- und NaOCl. Nachteilig kann jedoch der Gebrauch von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösungen sein, wenn die Spüllösung über den Apex verdrängt wird, da der elementare Sauerstoff zu Druck-beschwerden oder Emphysemen führen kann. Aufgrund der Nachteile der oben erwähnten Produkte, wählten wir für unsere Versuchszwecke die konventionelle NaOCI-Spülung. Es handelt sich hierbei um das Natriumsalz der unterchlorigen Säure mit einem pH-Wert von 8,9. NaOCl wirkt gewebsauflösend, inaktiviert Endotoxine, ist eiweißdenaturierend, besitzt kanaltrocknende, bleichende Eigenschaften und ist von bakterizider Wirkung. NaOCI-Lösungen sind in Konzentrationen von 0,5-5,25% erhältlich. Mit zunehmender Konzentration nimmt allerdings lediglich die gewebsauflösende und damit gewebstoxische Eigenschaft zu [86]; die antibakterielle Wirksamkeit zeigt bei Konzentrationen über 3% keine weitere Steigerung [30]. Die klinische Anwendbarkeit unserer Ergebnisse im Auge behaltend, favorisierten wir die Anwendung von NaOCl mit einer Konzentration von 3%, bei der eine toxisch-bedingte Schädigung des periapikalen Gewebes nicht zu befürchten ist [178]. Bei der Lagerung der basischen Lösung muss unbedingt darauf geachtet werden, dass die NaOCl-Flaschen vor Licht und vor Temperaturveränderungen geschützt werden, da durch falsche Lagerung die Lösung an Wirksamkeit verliert. Aus diesen Gründen sollte NaOCl unbedingt in lichtundurchlässigen Flaschen aufbewahrt und im Kühlschrank bei 6-8°C gelagert werden [204].

# 2.8 Rasterelektronenmikroskop

Zur Auswertung der Wurzelkanaloberfläche bedienten wir uns der Rasterelektronenmikroskopie. Hierbei werden anstelle des Lichtes Elektronenstrahlen zur Abbildung von Strukturen genutzt. Die von der Glühkathode im Hochvakuum ausgesandten und durch Hochspannung beschleunigten Elektronen werden durch Magnetfeldlinsen gebündelt und bilden das Objekt auf einem Bildschirm ab. Da schnelle Elektronen eine sehr viel kleinere Wellenlänge als sichtbares Licht haben und die Auflösung eines Mikroskopes durch die Wellenlänge begrenzt ist, kann mit einem Elektronenmikroskop eine deutlich höhere Auflösung (derzeit etwa 0,1 nm) erreicht werden als mit einem Lichtmikroskop (etwa 200 nm).

Die Hauptbestandteile eines Elektronenmikroskopes sind:

- a) Die Elektronenkanone, die die freien Elektronen in einer Kathode erzeugt und in Richtung einer ringförmig um die Strahlachse liegenden Anode beschleunigt. Zwischen Anode und Kathode liegt eine Hochspannung, die je nach Mikroskop von wenigen kV bis zu 3 MV variieren kann.
- b) Elektronenlinsen, die die Flugbahnen der Elektronen ablenken können. Es werden magnetische Linsen oder elektrostatische Elektronenlinsen verwendet; Diese haben die gleiche Funktion wie die Glaslinsen im Lichtmikroskop; während die Brennweite der Glaslinsen festliegt, ist sie bei Elektronenlinsen regelbar. Deshalb enthält ein Elektronenmikroskop im Gegensatz zu einem Lichtmikroskop auch keine austauschbaren oder verschiebbaren Linsen(systeme) wie etwa das Objektiv beziehungsweise das Okular eines Lichtmikroskopes.
- c) Das Vakuumsystem, das dafür sorgt, dass die Elektronenquelle arbeiten kann und die Elektronen auf ihrem Weg nicht durch Kollision mit Luftmolekülen behindert werden.

Für unsere, Versuchzwecke verwandten wir das Rasterelektronenmikroskop DSM 950 (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland).

Zum besputtern diente der Sputter Coater S 150B von BOC Edwards (Edwards Hochvakuum GmbH, Marburg, Deutschland).
#### 3. Methode

#### 3.1 Wurzelkanalaufbereitung

#### Probenauswahl:

Für unsere Versuchzwecke wurden 85 extrahierte, einwurzelige, menschliche Zähne mit geradem Wurzelkanal verwandt. Nach der Extraktion wurden diese Zähne zur Entfernung organischer Bestandteile für 48 Stunden in 3%iger NaOCI-Lösung gelagert und danach in isotone Kochsalzlösung überführt. Es erfolgte die Entfernung der klinischen Kronen an der Schmelz-Zement-Grenze und eine einheitliche Kürzung der Wurzeln auf 14 mm.

#### Koronale Aufbereitung:

Die Erweiterung des koronalen Wurzelanteils erfolgte mit der vom Hersteller für dieses System empfohlenen Crown-Down-Technik. Beginnend mit der Feile #25 (rot) erfolgte die primäre koronale Aufbereitung; hierbei wurde das Instrument bis zu einer Tiefe von einem bis zu zwei Dritteln der Kanallänge eingeführt. Nachfolgend kam das Instrument #30 (blau) unter gleicher Anwendungsweise zum Einsatz. Mit der Feile #20 (gelb) wurde weiter nach apikalwärts präpariert ohne über dreiviertel der geschätzten Kanallänge hinauszugehen. Als Spüllösung verwandten wir 3%-ige NaOCl-Lösung (Fa. Hedinger, Stuttgart, Deutschland), mit welcher nach jeder Feilenbenutzung der Kanal gespült wurde. Beim Spülvorgang verwandten wir Einmalkanülen mit einem Kanülenkaliber von 25, welches bei einer Aufbereitung der Kanäle bis Iso 30 eine Spülwirkung bis an den apikalen Stop gewährleistet.

#### Apikale Aufbereitung:

Nach Abschluss der koronalen Präparation wurde mittels Kerr-Feilen der Iso-Grösse 15 der Wurzelkanal katheterisiert und die Arbeitslänge einen Milimeter vor dem anatomischen Apex festgelegt (Mizutani 1989 [150]). Die finale Aufbereitung auf Arbeitslänge erfolgte maschinell beginnend mit der Feile #15 bis zur Feile #45 (apikale Masterfeile). Nach jedem maschinellen Aufbereitungsschritt schloßen sich jeweils eine Kanalspülung und die Kanalrekapitulation mit Kerr-Feilen der ISO-Größe 15 an. Nach Abschluss der Präparation wurden die Foramina apicales mit einem Kompomermaterial verschlossen (Prime+Bond<sup>®</sup>, Dyract<sup>®</sup>AP; Fa. Dentsply/DeTrey, Konstanz, Deutschland) und die Zähne bis zur Weiterbehandlung in isotoner Kochsalzlösung gelagert.

## 3.2 Gammasterilisation der Versuchsobjekte (Zähne)

Ziel der Sterilisation der als Versuchsobjekt dienenden Zähne vor Beginn unserer Versuchsreihen war es, eine Verunreinigung der Wurzelkanäle mit Mikroorganismen vor dem Beimpfen der Kanäle mit Streptokokkus oralis auszuschließen, um nach der Laserbehandlung korrekte Aussagen über die entstandene Keimsituation machen zu können.

Die aufbereiteten Versuchsobjekte wurden hierfür in Eppendorf-Caps mittels einer Silikonabdruckmasse (Optosil<sup>®</sup>, Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) plaziert, die Hütchen wurden verschlossen und zweifach in Sterilisationsfolie (Melafol<sup>®</sup>502, Melag Medizintechnik, Berlin, Deutschland) eingeschweißt.

Danach wurden die Proben für fünf Minuten mit Hilfe der Cobalt-60-Bestrahlungseinheit mit der Bestrahlungsdosis von 25 kGy gammasterilisiert.

Nach erfolgter γ-Sterilisation wurden die Versuchsobjekte unter sterilen Bedingungen aus der Verpackung entfernt und bis zu Versuchsbeginn in steriler Kochsalzlösung gelagert.

Für unsere Untersuchungen nutzten wir eine Cobalt-60-Gamma-Sterilisationsanlage, welche uns von der Firma Roeko GmbH + Co KG (Langenau, Deutschland) zur Verfügung gestellt wurde.

#### 3.3 Laservorgang

Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
Ansetzen der	Gruppe A-D	Bestrahlung	Ultraschall	
Bakteriensuspension	Beimpfen mit H1	+	+	Auswertung
		Füllen: sterile Broth	Ausstrich auf Agar	
Ansetzen der	Gruppe F	Ultraschall		
Verdünnungsreihe	Beimpfen mit H1	+	Auswertung	
		Ausstrich auf Agar		
Kontrollausstriche	Gruppe G	Spülung mit NaOCl	Ultraschall	
	Beimpfen mit H1	+	+	Auswertung
		Füllen: sterile Broth	Ausstrich auf Agar	
	Gruppe E	Ultraschall		
	Füllen mit steriler	+	Auswertung	
	Broth	Ausstrich auf Agar		A: Laser; 3x; ohne Kühlung B: Laser; 3x; mit Kühlung
				C: Laser; 6x; ohne Kühlung
				D: Laser; 6x; mit Kühlung E: sterile Kontrolle
	Inkubation: 24h	Inkubation: 24h	Inkubation: 24h	F: positive Kontrolle
L	l	I	I	G: NaOCI-Spülung

**Tabelle 1:**Zeitschema: Versuchsablauf

#### Versuchstag 1:

Es erfolgte das Ansetzten der Bakteriensuspension, das Ansetzen einer Verdünnungsreihe und der Kontrollausstrich der Verdünnungsreihe auf Agarplatten, um Aussagen über die Konzentration der zu Versuchszwecken angewandten Verdünnung treffen zu können.

Zum Beimpfen der Kanäle benutzten wir eine Bakterienkonzentration von  $10^3$  /ml.

#### Versuchstag 2:

Die Wurzelkanäle der zu bestrahlenden Gruppen (A-D), die als positive Kontrolle fungierende Gruppe F und die NaOCl-Gruppe G wurden mit jeweils 10µl der Bakteriensuspension beimpft. Die Kanäle der Gruppe E wurden mit steriler Soja-Broth entsprechender Menge gefüllt, da diese Gruppe als sterile bzw. negativ-Kontrolle eingesetzt wurde. Danach schloss sich für alle Versuchsgruppen die Inkubation im Brutschrank für 24h bei 37 °C und 1013 mbar an.

Versuchstag 3:

a)

Die Proben der Gruppen E (n=6) und F (n=6) wurden für zehn Minuten sonomechanisch behandelt. Danach wurde der Kanalinhalt mit Hilfe von Mikrospritzen auf den Nähragar aufgebracht und die Platten für weitere 24h im Inkubator bebrütet.

b)

Bei Gruppe G (n=8) erfolgte die Spülung der Wurzelkanäle mit 3% NaOCl für zwei Minuten mit jeweils einem Gesamtspülvolumen von 20ml pro Kanal. Die Kanäle wurden danach getrocknet, mit steriler Nährbouillon aufgefüllt und für weitere 24h inkubiert.

## c)

Bei den Proben der Gruppen A-D erfolgte an Tag 3 die Laserbehandlung:

Gruppe	mJ	Hz	Vorschub	Durchgänge	Kühlung	Anzahl der
(n)						Fasern
А	50	15	0,5mm/s	3	nein	1
(16)						
В	50	15	0,5mm/s	3	ja	1
(17)						
С	50	15	0,5mm/s	6	nein	2
(15)						
D	50	15	0,5mm/s	6	ja	2
(17)						

 Tabelle 2:
 Parameter der Gruppen A, B, C und D bei enstprechendem Laserdurchlauf

Zuerst wurde die festgelegte Arbeitslänge (13mm) mittels eines Silikonstoppers am Faserstecker markiert und das Instrument 1mm vor dem anatomischen Apex in dem Wurzelkanal positioniert. Mittels eines Fußschalters wurde der Laservorgang ausgelöst. Die Bestrahlung pro Durchlauf erfolgte unter oben aufgeführten Parametern:

Energie:	50 mJ (Displayanzeige: 120mJ)
Frequenz:	15 Hz
Vorschubgeschwindigkeit v:	0,5 mm/s

Nach Einsetzen der Laserimpulse wurde die Faser von apikal nach koronal unter kreisenden Bewegungen in einer Vorschubgeschwindigkeit "v" von 0,5mm/s herausgeführt. Der Bestrahlungsvorgang bei einer Kanallänge von 13mm dauerte somit 26s. Der Vorgang wurde je nach Versuchsgruppe drei- bzw. sechsmal wiederholt, wobei jeweils immer zwischen zwei Durchgängen eine Pause von 10s eingelegt wurde. Zur Kühlung der optischen Faser bedienten wir uns bei zwei Gruppen (B + D) der Methode der externen Kühlung, in dem die Faser unter Zuhilfenahme einer Spritze und einer stumpfen Spülkanüle mittels sterilem Aqua iniectabile stetig gekühlt wurde. Die Gruppen A und C wurden ohne Wasserkühlung gelasert. Aufgrund der Abnutzungserscheinung des Faserendes wurde nach jeweils drei Durchgängen eine neue optische Faser eingesetzt.

Direkt nach dem Laservorgang wurde die Oberfläche des Silikonmantels innerhalb des Eppendorf-Caps und die Wurzeloberfläche mittels Applikationsbürstchen mit Desinfektionslösung (Spitacid<sup>®</sup>, Henkel-Ecolab, Düsseldorf, Deutschland) gereinigt, da es während des Laservorganges zum Verspritzen des infektionsreichen Kanalinhaltes nach außen kam, welches dann ein Zurückbleiben von Bakterien im Bereich des Silikonmantels und eine Reinfizierung des Kanallumens zur Folge hätte haben können. Danach wurden die Wurzelkanäle mit sterilem Nährmedium gefüllt, verschlossen und für 24 Stunden erneut inkubiert.

#### Versuchstag 4:

Die Proben der Gruppen A-D und G wurden dann sonomechanisch behandelt, die Kanalinhalte auf Agarplatten ausgestrichen und für weitere 24h inkubiert. Auswertung der Platten der Gruppen E (sterile Kontrolle) und F (positive Kontrolle).

## Versuchstag 5:

Auswertung der Platten der Gruppen A-D und G.

#### 3.4 Mikrobielle Plattenauswertung

Das im Kanallumen befindliche Medium wurde auf die Oberfläche der Agarplatten aufgebracht und nach Bebrütung die Zahl der vorhandenen Mikroorganismen durch Auszählen der entstandenen Bakterienkolonien ermittelt. Es wird davon ausgegangen, dass jede Kolonie aus einer einzelnen Bakterienzelle hervorgeht. Da jedoch einzelne Bakterien noch in Diploform oder kleinen Ketten vorliegen, stimmt diese Annahme nicht immer und man spricht dann bei der Auszählung von koloniebildenden Einheiten (CFUs= colony forming units).

Je nach Generationszeit (Verdoppelungszeit) der Bakterien können die CFUs nach Stunden oder erst nach Tagen ausgelesen werden. Die Generationszeit von Streptokokkus oralis unter den gegebenen Kulturbedingungen beträgt 20 Minuten; die CFUs sind nach 24h zählbar. Streptokokken wachsen fakultativ anaerob und zeigen diskusförmige Koloniebildung nach 24-48 Stunden.

Als Auswertungsmodus diente uns die "Semiquantitative Analyse für Bakterienwachstum" nach Burckhardt 1992 [27].

	Wachstum	Auswertungsparameter					
+	Wachstum	>	ab 50% positive Reaktion	>	250 CFUs		
(+)	reduziertes Wachstum	>	10-50% positive Reaktion	>	50-250 CFUs		
((+))	stark reduziertes Wachstum	>	4-10% positive Reaktion	>	20-50 CFUs		
(-)	einzelne lebende Bakterien vorhanden	>	2-4% positive Reaktion	>	10-20 CFUs		
-	kein Wachstum	>	0-2% positive Reaktion	>	0-10 CFUs		

**Tabelle 3:**Semiquantitative Analyse nach Burckhardt

#### 3.5 Rasterelektronenmikroskopische Auswertung

Die Wurzeln wurden aus den Eppendorf-Caps entfernt und longitudinal mittels einer Säge unter Wasserkühlung geteilt. Danach wurden die Proben vom Schleifstaub gereinigt, mit Druckluft abgesprüht und in der aufsteigenden Alkoholreihe<sup>12</sup> getrocknet. Im folgenden wurden die Versuchsobjekte (jeweils zwei Längsschnitte pro Probe) besputtert und elektronenmikroskopisch untersucht. Beide Probenhälften wurden in jeweils drei Bereiche unterteilt (koronales, mittleres und apikales Wurzeldrittel), so dass maximal sechs Areale pro Probe bei der Auswertung zur Verfügung standen. Aufgrund der individuell dreidimensionalen, nicht gerade verlaufenden Anatomie der Wurzelkanäle ist der zentral angelegte Sägeschnitt nicht immer in der Lage, die beiden Kanalhälften exakt symmetrisch zu teilen, was bedeutet, dass bei einigen Proben der Kanal nicht genau getroffen wurde und aus diesen Gründen einige Areale nicht zu beurteilen waren. Aufgrund dessen sind nicht beurteilbare Anteile in den Tabellen mit n.b. (nicht beurteilbar) gekennzeichnet. Die Oberflächenmorphologie wurde mittels des Rasterelektronenmikroskops analysiert, nach den unten aufgeführten Oberflächenbeschaffenheiten bzw. Oberflächendefekten untersucht und dem jeweiligen Score des Bewertungssystems zugeordnet.

Score	Oberflächenbeschaffenheit des Dentins	Defekte im Dentin
1	dicker Smear-Layer-Belag (Filz)	
2	Krater im Smear-Layer-Belag	
	<ul> <li>vereinzelt freiliegende Dentinkanälchen</li> </ul>	
	Lumendurchmesser klein	
3	• smear-layerbedeckte Areale und freiliegendes Dentin 1:1	
	• Steigerung des Lumendurchmessers der eröffneten Tubuli	
4	<ul> <li>Smear-Layer fast bzw. vollständig entfernt</li> </ul>	
	• Dentin freiliegend, glatt und unversehrt	
	Dentinkanälchen weit eröffnet	
5	Schollenstruktur (plaques)	oberflächlige Ablation
6	Kraterbildung (crater)	tiefliegende Ablation
7	• Perlenstruktur	Ablation und
	• Blasenstruktur	Verkohlung
8	konfluierende Blasenbereiche (patches)	Ablation und
	• Rissbildung (cracks)	Verkohlung

 Tabelle 4: Düsseldorfer Scoringsystem zur Einteilung der Oberflächenbeschaffenheit von Dentin und Dentinauflagerungen

<sup>&</sup>lt;sup>12</sup> aufsteigende Alkoholreihe: Die Proben werden jeweils in 10%, 20%, 30%, ..., bis hin zu 99%igem Ethanol für 1h eingelegt. Danach folgt eine weitere Stunde in 99%igem Ethanol und das Trocknen über 8h.

Score	Oberflächenbeschaffenheit des Wurzeldentins								
1	<ul> <li>dicker Smear-Layerbelag (Filz) bedeckt das Wurzelkanaldentin</li> <li>Debris-Brocken teilweise zu finden</li> </ul>	<ul> <li>unversehrte Smear-Layer Oberfläche (undisturbed smear-layer)</li> <li>keine Laser Effekte</li> </ul>	РОС 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10						
2	<ul> <li>Ablationen im Smear-Layer Belag</li> <li>vereinzelt freiliegende Dentin- kanälchen mit kleinen Lumen- durchmessern</li> </ul>	<ul> <li>inhomogene Ablation des aufliegenden Smear-Layers (patchy zones of smear-layer)</li> </ul>	и 20 LU 20 LU						
3	<ul> <li>Vorliegen von Smear-Layer Arealen und freiliegenden Dentinkanälchen im Verhältnis 1:1</li> <li>Steigerung des Lumendurchmessers der eröffneten Dentintubuli (increase of tubuli diameter)</li> </ul>	<ul> <li>großflächige Ablation des aufliegenden Smear-Layers (vaporized smear-layer)</li> <li>keine Ablation von Dentinhartgewebe</li> </ul>	10: 10: 10: 10: 20 μm 20 μm 240τ0: 9 2€Γ18€Ε 3€Λ8350						
4	<ul> <li>Smear-Layer fast bzw. vollständig entfernt</li> <li>Dentin freiliegend, glatt und unversehrt</li> <li>Dentinkanälchen weit eröffnet</li> </ul>	<ul> <li>Ablation von oberflächlichem aufliegenden Smear-Layer</li> <li>keine Ablation von Hartgewebe</li> </ul>	10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10.						

Score	Oberflächenbeschaffenheit des Wurzeldentins							
5	<ul> <li>Schollenstruktur (Plaques)</li> <li>- schollige, schuppige Dentinoberfläche</li> <li>- stufenartiger Abtrag des Dentins</li> </ul>	<ul> <li>breitflächige, plaque-artige Ablation von Hartgewebe</li> <li>nur oberflächliche Ablation</li> </ul>	НО. 200 200 55 ула 200 55 ула					
6	<ul> <li>Kraterbildung         <ul> <li>rund oder oval; in die Tiefe konisch verlaufend             <li>scharfer Randsaum             <li>schuppige, schollige Kraterwand</li> </li></li></ul> </li> </ul>	<ul> <li>gehäufte auftretende, inhomogene, kleinflächige Ablation in die Tiefe</li> <li>vereinzelt auftretende, homogene, großflächige Ablation in große Tiefe</li> </ul>	10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10.					
7	<ul><li>Perlenstruktur</li><li>Blasenstruktur</li></ul>	<ul> <li>sporadisch vorkommende Regionen mit kleinen geschmolzenen und rekristallisierten Dentinbereichen</li> <li>Ansammlung größerer, rekristallisierter Bereiche mit charakteristischer zentraler Porenbildung</li> </ul>	10 - 20 EU 10 - 20 10 - 20					
8	<ul><li>konfluierende Blasenbereiche (patches)</li><li>Rissbildung (cracks)</li></ul>	<ul> <li>konfluieren von Dentinblasen zu glatten, leicht porösen eingeschmolzenen Flächen (glaze-like surface)</li> </ul>	10: 20 kU 10: 7 mm 16: 1000 100 100 100 100 100 100 100 100 1					

Tabelle 5:Düsseldorfer Scoringsystem zur Einteilung von Oberflächenveränderungen des Wurzelkanaldentins nach Er:YAG-Laserbestrahlung

# 4. Ergebnisse

# 4.1 Ergebnisse der mikrobiellen Analyse

## 4.1.1 Gruppe A:

Laserbehandlung (3x) ohne parallele Wasserkühlung der Kanäle

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 4:

Vierzehn Versuchsobjekte zeigten absolute Keimfreiheit (keine Anwesenheit von CFUs). In zwei Fällen waren Spuren positiver Reaktion zu sehen; die Agarplatten wiesen hierbei jeweils drei colony-forming-units auf. Nach den Auswertungskriterien der modifizierten, semiquantitativen Analyse nach Burckhardt stellt jedoch das Vorhandensein von bis zu zehn CFUs eine zu vernachlässigende Größe dar, so dass die Kanalinhalte aller Versuchsobjekte (n=16) laut Definition 'kein Wachstum' von Streptokokkus oralis aufwiesen.

## 4.1.2 Gruppe B:

Laserbehandlung (3x) mit paralleler Befeuchtung der Wurzelkanäle

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 4:

Alle Agar-Platten zeigten kein Bakterienwachstum; die Kanalvolumina aller Versuchsobjekte (n=17) wiesen absolute Keimfreiheit auf.

## 4.1.3 Gruppe C:

Laserbehandlung (6x) ohne Hydratation der Kanäle

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 4:

Vollständiges Fehlen von colony-forming-units auf den Agar-Platten; d.h. absolute Keimfreiheit in den Kanalvolumina der belaserten Kanäle (n=15).

## 4.1.4 Gruppe D:

Laserbehandlung (6x) mit Hydratation der Kanäle

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 4:

Es war kein Bakterienwachstum auf den Agar-Platten feststellbar; d.h. absolute Eliminierung von Streptokokkus oralis aus den Wurzelkanälen (n=17).

## 4.1.5 Gruppe E:

Sterile Kontrollgruppe

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 3:

Die Wurzelkanalvolumina aller Versuchobjekte der Gruppe E (n=6) zeigten bei mikrobieller Untersuchung eine hundertprozentige Keimfreiheit.

## 4.1.6 Gruppe F:

Positive Kontrollgruppe

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 3:

In allen Fällen zeigte sich bei der mikrobiellen Auswertung eine unzählbare Anzahl an CFUs (> 250 CFUs). Alle Versuchsobjekte dieser Gruppe wiesen ein massives Bakterienwachstum auf und zeigten positive Reaktion (n=6).

# 4.1.7 Gruppe G:

NaOCl-Gruppe

Ergebnisse der Plattenauswertung an Tag 4:

Die Platten zeigten in allen Fällen völlige Abwesenheit von Streptokokkus oralis; d.h. die Proben wiesen absolute Keimfreiheit auf (n=8).



Diagramm 1: Ergebnisse der antimikrobiellen Auswertung der Gruppen A-G

## Verarbeitete Fälle

	Fälle						
	Gültig		Fehlend		Gesamt		
	Ν	Prozent	Ν	Prozent	Ν	Prozent	
Versuchsobjekte	85	100,0%	0	0,0%	85	100,0%	

## Gruppen A-G

				Versuchsobjekte der Gruppen						
			А	В	С	D	Negativ- kontrolle	Positiv- kontrolle	NaOCl	
CFU	kein Wachstum	Anzahl	14	17	15	17	6		8	
		Spalten %	87,5	100,0	100,0	100,0	100,0		100,0	
	<10cfus	Anzahl	2							
		Spalten %	12,5							
	unzählbar	Anzahl						6		
		Spalten %						100,0		

Tabelle 6: statistische Auswertung der mikrobiellen Analyse

Vierzehn Versuchsobjekte der Gruppe A zeigten hundertprozentige Keimfreiheit (keine CFUs). In zwei Fällen waren Spuren positiver Reaktion zu sehen; die Agarplatten wiesen hierbei jedoch lediglich drei colony-forming-units auf. Laut Auswertung mittels der semiquantitative Analyse nach Burckhardt stellt das jedoch einen vernachlässigbaren Anteil dar, so dass hierbei das Ergebnis auch einem Erreichen von Keimfreiheit gleichkommt. In den drei weiteren experimentellen, mit Laserbestrahlung behandelten Versuchsgruppen B, C und D zeigte sich nach mikrobieller Analyse und Auswertung ein völliges Fehlen von Streptokokkus oralis Bakterieneinheiten, d.h. es herrschte in den Wurzelkanälen absolute Keimfreiheit.

Die mit H1 infizierte und nachfolgend mit Natriumhypochloritspülungen behandelte Kontrollgruppe G wies ebenfalls eine völlige Elimination von Streptokokkus oralis auf.

Die negative Kontrollgruppe E zeigte sterile Verhältnisse; die positive Kontrollgruppe F wies eine unzählbare Anzahl von koloniebildenden Einheiten auf (cfus > 250).

Unsere Versuchsergebnisse zeigen somit, dass der Er:YAG-Laser unter den von uns verwendeten Parametern der Gruppen A-D in der Lage ist, sterile Bedingungen im Wurzelkanal zu erreichen.

## 4.2 Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Auswertung

Mittels der rasterelektronenmikroskopisch erfolgten Untersuchung der Wurzelkanäle auf Oberflächenveränderungen von Dentin und Dentinauflagerungen nach Er:YAG-Laserbestrahlung und Zuordnung der Resultate in ein Scoringsystem der Kategorien 1-8 kamen folgende strukturmorphologische Ergebnisse<sup>1</sup> innerhalb der Behandlungsgruppen zustande:

#### 4.2.1 <u>Scoreverteilung der Gruppe A</u>



Gruppe A: 3 Laserdurchgänge; ohne Wasserkühlung (n= 84 Flächen)

Diagramm 1: rasterelektronenmikroskopische Analyse der Gruppe A

Die Hälfte aller untersuchten Areale der Proben der Lasergruppe A zeichneten sich durch die Anwesenheit eines homogenen, dicken Smear-Layer-Filzes aus (Score 1= 51,2%). Daraus lässt sich schließen, dass große Anteile der Wurzelkanaloberfläche trotz des Versuches, die Faser während des Bestrahlungsvorganges zu rotieren, nicht durch den Laser im Kontaktmodus bestrahlt worden bzw. mit der Faser in näheren Kontakt gekommen sind, so

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Statistische Auswertung siehe Datenanalyse: Scoreverteilung der Gruppen A-D (7.1 im Anhang)

dass direkte photoablative oder indirekte photothermische Effekte nicht in der Lage waren, Oberflächenveränderungen bzw. Modifikationen von Dentinauflagerungen zu induzieren. Score 2 (große Smear-Layer-Anteile, Krater im Smear-Layer, wenige freiliegende Dentinkanälchen) ist bei 11,9% der untersuchten Wurzelkanalareale nachzuweisen. Oberflächenveränderungen der Kategorien 3 und 5 sind in Gruppe A geringgradig vorhanden; Oberflächenareale des Score 4 (freie, von Smear-Layer befreite Dentinflächen mit weit eröffneten Dentintubuli) hat die Gruppe A nicht vorzuweisen.

Strukturen der Kategorie 6 (13,1%) und 7 (14,3%) sind stark vertreten; diese findet man an Kanalwandbereichen, welche a) im Kontaktmodus bestrahlt wurden (photoablative Effekte), wobei schon makroskopisch der Verlauf der Faser in Form einer Spurrille zu erkennen ist (Abb. 1) und b) an denen die optische Faser in so geringem Abstand im Nicht-Kontaktmodus vorbeigefahren ist, dass extreme Temperaturspitzen zu vielfältigen Oberflächenveränderungen geführt haben (thermischen Effekte). Charakteristisch für diese stark bestrahlten Dentinbereiche sind tiefe Abtragungsphänomene (Kraterbildung, Score 6) und Dentineinschmelzungs- und Rekristallisationsprozesse von globulärem Charakter (Perlen, Blasen mit zentraler Porenbildung; Score 7). Der Score 8 (Blasenkonfluate) ist im ungekühlten Modus der Gruppe A in geringem Ausmaß (2,4%) zu finden.

Rasterelektronenmikroskopische Dokumentation:



- vertikaler Verlauf einer Spurrille, welche die optische Faser trotz rotierender Bewegung auf der Wurzelkanal-wand hinterlassen hat
- → Ablation von Smear-Layer (Score 2)
- SL homogener Smear-Layer-Belag (Score 1)

Abbildung 6: Wurzelkanaloberfläche bei 200facher Vergrößerung



- → Blasen-und Perlenstruktur (Score 6 und 7)
- → schollenartiger, flacher Abtrag von Dentin (Score 5)
- W Wurzelkanal im Längsschnitt
- **D** Dentin

Abbildung 7: Blasen- und Perlenstruktur nach Laserkontakt bei 200facher Vergrößerung

- → Perlen- und Blasenbildung
- W Wurzelkanal im Längsschnitt

Abbildung 8: Perlen- und Blasenbildung nach Laserkontakt bei 500facher Vergrößerung

## 4.2.2 <u>Scoreverteilung der Gruppe B</u>

Gruppe B: 3 Laserdurchgänge; mit Wasserkühlung (n=94)



Diagramm 2: rasterelektronenmikroskopische Analyse der Gruppe B

Den größten Anteile nimmt Score 1 ein (42,6%). Da dieses Ergebnis ähnlich zu dem der Gruppe A (ungekühlter Bestrahlungsmodus) ist, unterstützt dies die Aussage, dass nicht der "schonendere" Behandlungsmodus der Gruppe B für das Bestehen von großflächigen Smear-Layerauflagerungen verantwortlich ist, sondern dass diese Bereiche den Arealen entsprechen, die nicht mit Laserlicht bestrahlt wurden, d.h. unveränderte Bereiche entsprechen ungelaserten Bereichen (Score 1).

Modifizierte bzw. veränderte Bereiche (Score 2-8) entsprechen den Arealen, welche der Laserstrahlung mit den je nach Gruppenzugehörigkeit variierenden Parametern ausgesetzt wurden. Charakteristisch für diese Gruppe ist das Fehlen der Kategorie 7 und 8, d.h. massive mechanische Beeinträchtigungen (destruierende Dentinveränderungen) treten in Gruppe B nicht in Erscheinung. Lediglich flache schollenartige Dentinablationen der Kategorie 5 und 6 (5,3% und 1,1%) sind zu erkennen.

Charakteristisch für die Gruppe B ist der hohe Anteil der Scores 2 bis 4, welche säubernde Effekte des Lasers auf die Smear-Layer-Schicht in unterschiedlicher Ausprägung darstellen (>50%). Jeweils 19,1% der ausgewerteten Flächen zeigen entweder inhomogene, reduzierte Smear-Layer-Auflagerungen (Score 2) oder zur Hälfte vom Smear-Layer befreite, gesäuberte Dentinflächen (Score 3). Weiterhin schließen sich Areale an, in denen saubere Dentinflächen mit weit eröffneten, plugfreien Tubuli zu finden sind (12,8%). D.h. charakteristisch für diese Gruppe ist das Fehlen von destruierender Veränderungen und die äußerst schonende, lediglich reinigende Bearbeitung der Dentinoberfläche.

#### 4.2.3 <u>Scoreverteilung der Gruppe C</u>



Gruppe C: 6 Laserdurchgänge; ohne Wasserkühlung (n=79)

Diagramm 3: rasterelektronenmikroskopische Analyse der Gruppe C

Bei der Gruppe C handelt es sich um die Versuchsgruppe, welche mit den aggressivsten Parametern behandelt wurde. Aufgrund dessen sind die Kategorien, welche für einen laserinduzierten, aktiven Abtrag von Dentin stehen (Score 6-8) hier in hohem Ausmaß vertreten. Bereiche mit tiefen Kratern (7,6%) werden noch flächenmäßig übertroffen von der Anwesenheit von Perlen- und Blasenarealen (12,7%).

Den zweitgrößten Stellenwert neben der Anwesenheit unberührter, ungelaserter Dentinflächen nimmt die Kategorie 8 mit 20,3% ein. Damit wird ersichtlich, dass unter den Parametern dieser Gruppe, die bestrahlte Fläche in starkem Maße durch destruierende Lasereffekte verändert wird. Weiterhin ist festzustellen, das auch hier in hohem Maße unberührte, unbestrahlte Areale vorhanden sind; 46,8 Prozent der ausgewerteten Oberfläche sind mit unmodifiziertem Smear-Layer-Filz bedeckt.



- → makroskopisch erkennbare, charakteristische Oberflächenveränderungen des Wurzelkanaldentins nach Lasertherapie
- Zuordnung in eine bestrahlte und eine unbestrahlte Kanalhälfte; ein Rotieren der optischen Faser ist offensichtlich nicht möglich
- → aufgrund der photothermischen Effekte kommt es zu starken Karbonisierungen in den bestrahlten Bereichen

#### Abbildung 9:

charakteristische Oberflächenveränderung nach Lasertherapie (Probe 32)



- → Kraterbildung nach Lasertherapie
- → Ausschnitt aus einem Bereich starker Karbonisation

Abbildung 10: rasterelektronenmikroskopische Darstellung eines Kraters (200x)



- $\rightarrow$  Dentinblasen fließen zu Konfluaten zusammen
- → unterhalb der Konfluate kommt es zur Rissbildung des basalen Dentins

#### Abbildung 11:

Zusammenfliessen von Perlen und Blasen zu Konfluaten (1000x)

#### 4.2.4 <u>Scoreverteilung der Gruppe D</u>



Gruppe D: 6 Laserdurchgänge plus Wasserkühlung (n=88)

Diagramm 4: rasterelektronenmikroskopische Analyse der Gruppe D

Den größten Anteile nimmt ganz deutlich wiederum Score 1 ein (61,4%); unbelaserte Bereiche zeigen unmodifizierte, homogene Smear-Layer-Auflagerungen. Auch für Gruppe D ist das Fehlen (Score 8) bzw. der minimale Anteil der Kategorie 7 (1,1%) charakteristisch. Starke mechanische Beeinträchtigungen treten in Gruppe D nicht in Erscheinung.

Flache schollenartige Dentinablationen der Kategorie 5 sind in 3,4% der ausgewerteten Flächen zu erkennen. Charakteristisch für die Gruppe B ist der minimale Anteil von destruierenden Dentinveränderungen, jedoch das starke Auftreten von Score-2 Arealen (23,9%), welche für eine leichte Säuberung der Wurzelkanalwand mit reduzierten Smear-Layer-Auflagerungen stehen und den Kategorien 3 (5,7%), 5 (3,4%) und 6 (4,5%), welche für eine schonende Säuberung der Dentinflächen stehen.

Areale der Kategorie 4 (freie Dentinflächen mit maximal eröffneten, plugfreien Tubuli) sind nicht zu finden.



Score 3:

- → die Dentinoberfläche ist zum größten Teil vom Smear-Layer befreit
- → die Dentintubuli sind jedoch noch nicht maximal eröffnet
- → keine Ablation von Hartgewebe

Abbildung 12: Score 3 (500x Vergrößerung)



Score 5:

- $\rightarrow$  sauberes, Smear-Layer freies Dentin
- → flacher, scholliger Oberflächenabtrag

Abbildung 13: Score 5 (200x)



Score 6:

- → Kraterbildung; Ansicht von der Seite
- → schuppige Kraterwandung
- → runde oder ovale Krateranatomie mit scharfem Randsaum
- → längsgeschnittene Dentintubuli —>

Abbildung 14: Score 6 (200x)

51

## 4.2.5 Score 1-8: Vergleich der Gruppen A-D

Score in %	100% - 90% - 80% - 70% - 60% - 50% - 40% - 30% - 20% - 10% -				
		A (n=84)	B (n=94)	C (n=79)	D (n=88)
	■ 8: Schmelzkonfluate	2,4	0	20,3	0
	■ 7: Blasenbildung	14,3	0	12,7	1,1
	6: Kraterbildung	13,1	1,1	7,6	4,5
	■ 5: Dentinablationen	4,8	5,3	2,5	3,4
	4: freie Dentinflächen	0	12,8	2,5	0
	■ 3: SL/fDK (1:1)	2,4	19,1	0	5,7
	■ 2: SL/fDK (3:1)	11,9	19,1	7,6	23,9
	□ 1: Smear-Layer+Debris	51,1	42,6	46,8	61,4
			Grup	open	

Bei dem Vergleich der Gruppen A-D ergibt sich folgendes Bild:

Diagramm 5: Vergleich der Scores 1-8 der Gruppen A, B, C und D

Bei dem Vergleich der Verteilung der Scores 2-8 wird deutlich, dass charakteristische Oberflächenveränderungen ursächlich von der erfolgten bzw. nicht erfolgten Kühlung der optischen Faser und der Anzahl der Laserwiederholungen abhängen. Score 1 erscheint unabhängig vom Behandlungsmodus in allen Gruppen in extrem hohem Maße.

<u>Vergleich der Gruppe A und C<sup>1</sup></u>: Bei ungekühltem Behandlungsmodus kommt es zum Auftreten von Temperaturspitzen und damit zu laserinduzierten Effekten wie Dentinablationen (Score 6) und Einschmelzungen (Score 7 und 8). In beiden Gruppen sind aufgrund dessen die Scores 6-8 stark vertreten. Hierbei ist die Anzahl der Laserdurchgänge für die Häufigkeit und die Ausprägung der auftretenden Scores verantwortlich. In Gruppe A (drei Laserwiederholungen) werden Temperaturbereiche erreicht, welche zur Bildung von Dentinkratern und globulären Einschmelzungen führen. Bei sechsfachem Laserdurchgang verstärken sich temperaturbedingt die laserinduzierten Effekte: es kommt zum Einschmelzen

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>7.2: Diagramm 6: Vergleich der ungekühlten Gruppen A und C (siehe Anhang)

und Rekristallisieren kleiner Dentinareale (Perlen und Blasenstruktur) bis hin zum Verschmelzen dieser Bereiche zu großen Schmelzkonfluaten.

Bei dem Vergleich der <u>Gruppen B und D<sup>2</sup></u> wird deutlich, dass die Kühlung der Laserfaser zu einer schonenden Bearbeitung von Dentin und Dentinbelägen führt. Leichte Destruktionen des Kanaldentins (Scores 5+6) sind in beiden Gruppen gering vorhanden; starke Destruktionsprodukte sind gar nicht zu finden (Score 8). Eine partielle bis großflächige Entfernung des Smear-Layers mit Eröffnung der Dentinkanälchen (Score 2-4) ist für die ungekühlten Gruppen charakteristisch. Die Kühlung der Faser verhindert einen starken Temperaturanstieg, so dass es zu einer Säuberung und nicht zu einer Schädigung des Dentins kommt.

Im Vergleich der <u>Gruppen A und B<sup>3</sup></u> (je 3 Laserwiederholungen) ist der Effekt der Wasserkühlung deutlich zu erkennen. Destruierende Veränderungen der Dentinoberfläche sind bei der im Kühlmodus behandelten Versuchsgruppe B kaum zu beobachten; dafür tritt eine schonende Säuberung des Dentins durch die Entfernung von Auflagerungen ein (Score 2-4). Bei Gruppe A wird die ablative Wirkung der ungekühlt erfolgten Laserbehandlung ersichtlich. Folgen dieses Behandlungsmodus zeigen sich in tiefen Ablationen (Kraterbildung), Karbonisierungs-, Schmelz- und Rekristallisierungsprozessen des Kanaldentins (Score 6-7); hierbei sind Temperaturspitzen für die morphologischen Veränderungen verantwortlich. Eine schonende, smear-layer säubernde Behandlung wird ganz deutlich durch den gekühlten Versuchsablauf erzielt und gewährleistet.

Bei einem Vergleich zwischen <u>Gruppe C und D<sup>4</sup></u> (je 6 Laserwiederholungen) zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei dem Vergleich der Gruppen A und B. Bei Gruppe D überwiegen kanalsäubernde Effekte (Score 2 und 3); bei Gruppe C sind die hohen Scores 6-8 vertreten. Dies bedeutet, dass eine Kühlung der Laserfaser die thermisch bedingten ablativen Veränderungen innerhalb des Wurzelkanaldentins enorm reduziert. Es ist jedoch auffällig, dass trotz der gruppentypischen, individuellen Ausprägung der Kategorien in beiden Gruppen weiterhin alle Scores vorhanden sind, d.h. auch unter gekühlter, schonender Bestrahlung treten vereinzelt Temperaturspitzen auf, welche zu Einschmelzungsprozessen führen. Die Gruppen C und D unterscheiden sich zwar deutlich in der Verteilung der Scores, eine Kühlung während des Laservorganges schließt jedoch nicht ein Auftreten von Verbrennungen oder Verschmelzungen aus. Trotzdem reduziert eine Kühlung der optischen Faser und ein Absenken der Laserwiederholungen die Häufigkeit, mit der diese Phänomene auftreten.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>7.3: Diagramm 7: Vergleich der Gruppen B und D (siehe Anhang)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>7.4: Diagramm 8: Vergleich der Gruppen A und B (siehe Anhang)

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>7.5: Diagramm 9: Vergleich der Gruppen C und D (siehe Anhang)

Bei Betrachtung der Ergebnisse ist weiterhin auffällig, dass unabhängig von der Behandlungsmodalität über fünfzig Prozent der n=345 untersuchten Flächen den Oberflächenscore 1 aufweisen: Bei 42% (Gruppe B) bis maximal 61% (Gruppe D) der ausgewerteten Wurzelabschnitte sind Smear-Layer und Debris in unveränderter, massiver Form vorhanden.

Das bedeutet, dass Kanalbereiche für die Laserfaser entweder nicht ausreichend zugänglich waren oder von ihr nicht flächendeckend erreicht wurden.

Hierfür werden folgende Ursachen/Gründe verantwortlich gemacht:

#### a) Laseroptik:

Ein Grund für die inhomogene Bestrahlung der Kanalwand mittels des Er:YAG-Lasers ist, dass die Faseroptik die Laserstrahlung weitgehend axial und nicht zirkulär gerichtet abgibt und somit große Anteile der Kanalwand nicht mit der Laserquelle in Kontakt treten. Ein Rotieren der Faser während des Laserdurchlaufes kann diesen Effekt nicht ausreichend kompensieren.

## b) Anatomie der Kanäle:

Bei den von uns ausgewählten Zähnen handelte es sich um obere Frontzähne (mittlere Frontzähne, seitliche Frontzähne, Eckzähne). Selbst nach Entfernung der Kronen (Reduzierung der Kanäle auf 13mm) und Aufbereitung der Kanäle auf Iso 45 variierten Kanallumina und Kanalformen noch zu stark, um ein homogenes Bestrahlen mit einer Faser derselben Größe zu gewährleisten.

## c) Morphologie der Kanalabschnitte<sup>5</sup>:

Bei der Aufteilung der untersuchten Flächen in apikales, mittleres und koronales Kanaldrittel wurden bei der Auswertung folgende Auffälligkeiten erkennbar: die koronalen und apikalen Bereiche wurden deutlich weniger bearbeitet, als das mittlere Drittel. Das apikale Drittel ließ aufgrund seines engen Lumens oder leichter Krümmungen kein gerades, freilaufendes Hochfahren und Rotieren der Faser zu; das zum Teil sehr weite koronale Delta konnte innerhalb der festgelegten Durchlaufgeschwindigkeit nicht ausreichend erreicht werden.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> 7.6: Diagramm 10: Auswertung der Gruppen A-D in koronale, mittlere und apikale Bereiche (siehe Anhang)



- → das weite koronale Delta lässt eine flächendeckende Bestrahlung nicht zu
- → im mittleren Bereich findet Bearbeitung durch den Laser statt
- → apikal zeigt sich die geringste Bearbeitung des Kanaldentins
- → Krümmungswinkel und geringes Lumen verhindern apikal eine rotierende Faserführung

Abbildung 12: Probe 5 und 17 (Gruppe A)

Nach Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen ließen sich die oben geschilderten Ergebnisse in drei Hauptaussagen zusammenfassen:

Nach Lasertherapie zeigten die Wurzelkanalwände...

- a) keine sichtbaren Veränderungen (alle Gruppen)
- b) verstärkt dentinsäubernde, smear-layer entfernende Effekte (wassergekühlte Gruppen)
- c) verstärkt dentinabtragende, destruierende Effekte (ungekühlten Gruppen)

Aufgrund dieser Feststellungen fassten wir die acht Scores in drei Hauptkategorien (I, II, III) zusammen und verglichen erneut die Gruppen A-D miteinander. Es galt zu zeigen, dass das Auftreten von unbearbeiteten Flächen (Kategorie I) in keinem Zusammenhang zu der jeweiligen Behandlungsmethode steht; dass jedoch bei den Kategorien II und III ein Zusammenhang zwischen Behandlungsmethode und Häufigkeit besteht.

Kategorie	Score	Definition
Ι	1	Kanaloberfläche ohne sichtbare Veränderung Score 1: Smear-Layer + Debris sind weiterhin vorhanden
П	2, 3, 4	Smear-Layer Modifikation (Ablation) Score 2: wenig Score 3: mittelmäßig Score 4: stark
ш	5, 6, 7, 8	Dentinmodifikation (Ablation oder Einschmelzung) Score 5: oberflächlich Score 6: in die Tiefe Score 7: geringe Einschmelzung Score 8: starke Einschmelzung

Tabelle 7: Zusammenfassung der Scores in Kategorie I, II und III

# 4.2.6 Kategorie I-III: Vergleich der Gruppen

Die statistische Auswertung zeigte folgende Ergebnisse:

Score \* Testgruppe Kreuztabelle

			Testgruppe						
Hauptkate	egorie		A 3x Laser ohne	B 3x Laser mit	C 6x Laser ohne	D 6x Laser mit			
Ι	keine sichtbare Bearbeitung	Anzahl	43	40	37	54	174		
		% von Testgruppe	51,1%	42,6%	46,8%	61,4%	50,4%		
II	Smear-Layer verändert	Anzahl	12	48	8	26	94		
		% von Testgruppe	14,3%	51,0%	10,1%	29,5%	27,2%		
III	Dentinstruktur verändert	Anzahl	29	6	34	8	77		
		% von Testgruppe	34,6%	6,4%	43,0%	9,1%	22,3%		
Gesamt		Anzahl	84	94	79	88	345		
		% von Testgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		

#### Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	75,269(a)	6	,000
Likelihood-Quotient	77,133	6	,000
Zusammenhang linear-mit-linear	3,873	1	,049
Anzahl der gültigen Fälle	345		

a 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 17,63.



Diagramm 11: Statistische Auswertung der Gruppen in den Hauptkategorien I, II und III

#### Einfluss der Wasserkühlung auf die Veränderung an der Kanaloberfläche

Vergleich der Gruppen A+B und C+D:

- d.h. die Wasserkühlung fördert ein schonendes Entfernen von Oberflächenauflagerungen (Grad II) und verhindert thermisch bedingte ablative Dentinveränderungen
- diese Zusammenhänge waren statistisch hochsignifikant

## Einfluss der Laserwiederholungen auf die Veränderungen an der Kanaloberfläche

Vergleich der Gruppen A+C und B+D:

• mit der Erhöhung der Anzahl der Laserdurchgänge steigt die Anzahl der Flächen des Grades III und reduziert sich die Anzahl der Flächen des Grades II

- d.h. die Steigerung der Laserwiederholungen fördert das Entstehen thermisch bedingter destruktiver Dentinablationen und vermindert das Entstehen von dentinsäubernden Effekten
- diese Zusammenhänge waren statistisch hochsignifikant

Bei intrakanalärer Bestrahlung mittels des Er:YAG-Lasers kommt es in den einzelnen Kanalbereichen zu oberflächensäubernden und oberflächenabtragenden Effekten in mannigfaltiger Ausprägung (Score 2-8 bzw. Kategorie II-III). Das Auftreten dieser Effekte ist maßgeblich abhängig von der Kühlung der optischen Faser und von der Anzahl der Laserwiederholungen. Der Zusammenhang zwischen der angewandten Behandlungsmethode und dem Auftreten der jeweiligen Kategorie war statistisch hochsignifikant.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Kühlen der Faser und ein Reduzieren der Laserdurchgänge dentinschädigende Veränderungen an der Wurzelkanalwand verhindern kann. Der Er:YAG-Laser ist jedoch nicht in der Lage die Kanalwand flächendeckend zu erreichen und homogen zu bearbeiten, was durch das Auftreten von Flächen der Kategorie I (Score 1) nachgewiesen werden konnte.

#### 5. Diskussion:

Die Anwesenheit und Ausbreitung von Bakterien im nekrotischen Pulpagewebe und die Freisetzung ihrer toxischen Stoffwechselprodukte sind ursächlich für die Entstehung periapikaler Prozesse verantwortlich. Ziel der konventionellen endodontischen Behandlung ist es, diese Keime und ihre Produkte zu entfernen, die Kanalwand und das Kanallumen zu reinigen und den Kanal vor einer Reinfektion zu schützen. Die konventionelle endodontische Wurzelkanaltherapie sieht eine Kanalaufbereitung mittels Feilen (manuell/maschinell), den begleitenden Einsatz von Spüllösungen (z.B. Natriumhypochlorit) und eine medikamentöse Versorgung des Kanals mittels Kalziumhydroxidpasten vor. Aufgrund nicht zu kalkulierender Parameter (Kanalmorphologie, Apexmorphologie, Kanalanzahl, Bakterienqualität, Bakterienquantität, u.v.m.) ist die Kanaltherapie nicht immer als erfolgreich anzusehen. Geeignete neue Methoden, welche kombinierbar mit konventionellen Methoden die Wurzelkanaldesinfektion positiv beeinflussen oder Sterilität im Wurzelkanalsystem auch solitär erreichen könnten, wären als Alternative oder Ergänzung wünschenswert.

Der Er:YAG-Laser scheint in mehrfacher Hinsicht eine zweckdienliche Alternative zu sein:

- (a) Er kann aufgrund seiner antimikrobiellen Potenz eine primäre Keimreduzierung oder Keimeliminierung bewirken.
- (b) Er kann aufgrund seiner ablativen Eigenschaften eine Entfernung von Debris, Smear-Layer und von infiziertem Wurzelkanaldentin erreichen.

Aufgrund dieser vorausgehenden Überlegungen sollte in der vorliegenden Arbeit die antimikrobielle Wirkung der Er:YAG-Laserbestrahlung bei infizierten Wurzelkanälen überprüft werden (Teil I). Weiterhin wurden die Wurzelkanaloberflächen der Versuchsobjekte nach der Er:YAG-Laserbestrahlung rasterelektronenmikroskopisch ausgewertet, um zu überprüfen, ob es in den experimentellen Gruppen A-D zu Veränderungen der Kanalauflagerungen und des Kanaldentins kommt (Teil II). Ergänzend sollte beurteilt werden, ob die laserinduzierten Effekte möglicherweise ursächlich für das Erreichen von Sterilität im Kanal verantwortlich sein könnten (Teil III).

#### 5.1. <u>Teil I:</u>

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es bei allen Proben der experimentellen Gruppen A-D (n=65) unter Anwendung ausgewählter Parameter (gekühlter/ungekühlter Modus; dreibzw. sechsmaliger Bestrahlungsdurchlauf) zu einem Erreichen von absoluter Keimfreiheit kam. Das bedeutet, dass der Er:YAG-Laser in der Lage ist, Sterilität im Wurzelkanal zu gewährleisten.

Bei der Diskussion dieser Versuchsergebnisse steht im Vordergrund, inwieweit sich die Resultate unseres in-vitro-Modells in die klinische Anwendung übertragen lassen, um die positiven Effekte der Er:YAG-Laser Bestrahlung für die endodontische Therapie nutzbar zu machen. Bei der klinischen Anwendung dentaler Lasersysteme in der Endodontie stehen folgende Risiken im Vordergrund:

- (a) Gefahr der Fraktur der optischen Instrumente mit Verlegung des Wurzelkanals
- (b) Gefahr der mechanischen Schädigung periapikaler Strukturen (Überinstrumentierung)
- (c) Gefahr der thermischen Schädigung periapikaler und desmodontaler Strukturen

(a) Die zu unseren Versuchszwecken verwandten Glasfasern weisen aufgrund ihrer Materialeigenschaften zwar Flexibilität auf, sind jedoch bei starker vertikaler Auslenkung oder Stauchung (Obstruktionen, Krümmungen, ungünstiger Eingangskavitätenzugang) bruchgefährdet. Voraussetzung für eine frakturfreie, sichere Anwendung ist eine stufenfreie, konische Aufbereitung und die richtige Auswahl der zur Iso-Aufbereitung passenden Fasergröße. Ein Belassen von Hindernissen wie Stufen und Obstruktionen kann besonders bei rotierender Faserbewegung zum Verklemmen und daraufhin zum Bruch derselben führen. Ein Entfernen des Bruchstückes gestaltet sich dann bei geringer Größe des Fragmentes aufgrund der Sprödigkeit und der glatten Oberfläche als äußerst schwierig.

Nach den Ergebnissen unserer Studie stellt eine Anwendung im geraden, konisch aufbereiteten Kanal ein sicheres Verfahren dar, da es in keinem der insgesamt 291 Laserdurchläufe zu einem Bruch der optischen Faser kam. Eine Anwendung der Laserinstrumente im gekrümmten Kanalsystem (z.B. mesiobukkale Kanäle im Oberkiefer Molarenbereich) oder das starke Verbiegen des Instrumentes bei ungünstigem Kanalzugang (z.B. zweite Molaren) könnte sich möglicherweise schwieriger gestalten und dürfte somit ein erhöhtes Risiko darstellen. Vor der erstmaligen Anwendung von optischen Fasern bei gekrümmten, engen Wurzelkanälen sollte dieses Verfahren unbedingt vorher an extrahierten Zähnen geübt werden. Weiterhin sollte vor der Bestrahlung schlecht zugängiger Kanäle eine mehrfache Anwendung im "Leerlauf" erfolgen, so dass beim Auftreten von Stufen oder Hindernissen eine kleinere Faser gewählt bzw. der Kanal weiter oder konischer aufbereitet werden kann. Leider können optische Fasern nicht vorgebogen werden, so dass ein ungünstiger Kavitätenzugang oder extreme Kanalkurvaturen die Applikation erschweren und ein spannungsfreies Arbeiten verhindern können. Oft sind es jedoch die mehrwurzeligen Zähne, welche aufgrund ihrer vielfältigen anatomischen Besonderheiten zur Therapieresistenz neigen und bei denen eine Laserbehandlung erwünscht und möglicherweise erfolgversprechend sein könnte. Ob die sichere Instrumentierbarkeit von einwurzeligen Zähnen bei entsprechender Aufbereitung auch auf mehrwurzelige Zähne übertragen werden kann, müsste in entsprechenden Studien überprüft werden.

(b) Eine weitere Gefahr bei der Lasertherapie stellt die Überinstrumentierung mittels optischer Fasern und damit die mechanische sowie thermische Schädigung periapikaler Strukturen dar. Es ist bekannt, dass sich selbst bei aufwendiger röntgenologischer und endometrischer Diagnostik die Festlegung der exakten Arbeitslänge im Bereich des Foramen physiologicums als äußerst schwierig gestaltet. Bei lateral liegendem Wurzelkanalausgang oder apikalen Resorptionsprozessen besteht bei jeglicher Instrumentierungsmethode die Gefahr einer Überpräparation verbunden mit der Schädigung von apikalen und periapikalen Strukturen bzw. der Möglichkeit der Keimverschleppung. Bei der Überinstrumentierung mittels optischer Fasern wären neben der mechanischen Schädigung auch die thermischen Nebenwirkungen des Lasers und ein Denaturieren von Gewebe die Folge.

Weiterhin erweist sich das Arbeiten mittels optischer Faser als schwer kontrollierbar, da das Instrumentieren mit dem Laserinstrument kein "Erfühlen" oder Sondieren zulässt, wie man dies bei der Verwendung von Feilen gewohnt ist, mit denen anatomische Besonderheiten (Krümmungen, Obstruktionen, apikaler Stopp) des Wurzelkanals ertastet werden können. Aufgrund dessen kann eine Überinstrumentierung unter ungünstigen Umständen nicht frühzeitig erkannt werden. Es ist deshalb ratsam, die optische Faser im Bereich der Arbeitslänge zu markieren, um eine Überinstrumentierung und damit verbundene periapikale Destruktion zu vermeiden. Hierbei ist die Kennzeichnung mittels Stopper aufgrund der Bruchgefahr der Fasern nicht möglich und sollte deshalb z.B. mit wasserunlöslichen Stiften erfolgen.

(c) Nicht nur die Schädigung periapikaler Bereiche sondern auch die Beeinträchtigung desmodontaler Strukturen stellt bei unsachgemäßer Anwendung ein Risiko dar [42, 237]. Nach ausgiebiger Diskussion wurde in internationalen Richtlinien festgelegt, dass ein kurzfristiger Temperaturanstieg um 7°C nicht zur irreparablen Schädigung des Desmodonts führt ("thermal injury threshold level for periodontal tissue"). Die Temperaturentwicklung während der Lasertherapie ist natürlich abhängig von zahlreichen Parametern (Laserparameter, Lumen des Kanals, Kanalwanddicke, Fasertyp, u.v.m.). Es ist jedoch fast unmöglich, aus den Richtlinien der Herstellerangaben und auch nach ausgiebiger Literaturrecherche für den jeweiligen individuellen klinischen Fall die richtigen

Laservorgaben, sogenannte PTT's (power-time-temperature-diagrams) zu finden [120]. Somit besteht die Gefahr der thermischen Schädigung der umgebenden Gewebe, da Anzeichen eines plötzlichen Temperaturanstieges wie Verfärbungen und Rauchentwicklung nicht rechtzeitig wahrgenommen werden können. Eine parallel zu den Laserdurchläufen erfolgende Temperaturmessung und/oder eine optische, endoskopartige Anwendung der optischen Faser wäre für eine sichere Handhabung bei der endodontischen Lasertherapie durchaus wünschenswert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Anwendung des Er:YAG-Lasers aufgrund ihrer antimikrobiellen Potenz eine Ergänzung zu konventionellen, endodontischen Therapie-maßnahmen darstellt, dass jedoch bei einem klinischen Einsatz oben beschriebene Risiken bestehen und eine ausreichende Prüfung der Bedingungen über eine Laseranwendung entscheiden sollten.

## 5.2 <u>Teil II:</u>

Im zweiten Teil unserer Studie kam es unter den unterschiedlichen Versuchsansätzen der Gruppen A-D zu einer für jede Gruppe individuellen Ausprägung der laserinduzierten, oberflächenmorphologischen Veränderungen. Die Bandbreite der Oberflächenmodifikationen (Score 1-8) reichte bei n=345 untersuchten Flächen von einer nicht erkennbaren Bearbeitung des Dentins und seiner Beläge (Kategorie I: Score 1), über dentinsäubernde Effekte (Kategorie II: Score 2-4) bis hin zu deutlich destruktiven Veränderungen des Wurzelkanaldentins (Kategorie III: Score 5-8).

Die Parameter der ungekühlten Gruppen A und C verursachten verstärkt Schäden an der Wurzelkanaloberfläche, welche von Dentinablationen bis hin zu Karbonisierungs- und Einschmelzungsprozessen reichten (Kategorie III). Die Gruppen B und D wiesen eine schonende, dentinsäubernde Bearbeitung von Oberflächenbelägen (Kategorie II) auf; destruktive Veränderungen waren unter gekühlten Parametern lediglich in geringem Maße anzutreffen. Weiterhin war erkennbar, dass eine Steigerung der Laserwiederholungen das Entstehen thermisch bedingter Dentinablationen (Kategorie III) begünstigte und somit das Auftreten von Flächen der Kategorie II reduzierte. Dies bedeutet, dass das Kühlen der optischen Faser und das Reduzieren der Laserwiederholungen destruktiven Veränderungen im Dentin vorbeugen; diese Zusammenhänge waren statistisch hochsignifikant.

Bei der weiteren Auswertung der Ergebnisse wurde ersichtlich, dass unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit bei n=174 (50,4%) der untersuchten Flächen die Kanaloberfläche nicht sichtbar verändert war (Kategorie I), d.h. nicht von der Laserfaser bearbeitet wurde. Hierfür

wird a) die lediglich nach apikal strahlende Laseroptik und b) die individuelle Kanalanatomie und Morphologie verantwortlich gemacht.

a) Trotz des Versuches, die Faser während des Durchlaufes rotierend zu bewegen, war es nicht möglich, den Kanal zirkulär zu bestrahlen; häufig zog sich sogar die Faser im Kontaktmodus an einer Seite des Kanals unter Hinterlassen einer tiefen Spur entlang. Hierfür wird der lediglich am Ende der optischen Faser austretende Laserstrahl mit seiner limitierten Streuung verantwortlich gemacht. Es ist zu überdenken, ob die Auswahl einer kleineren optischen Faser, eine niedrigere Durchlaufgeschwindigkeit oder eine weitere Iso-Aufbereitung eine homogenere Bestrahlung möglich gemacht hätte.

b) Bei der Unterteilung des Kanals in apikale, mittlere und koronale Bereiche wurde ersichtlich, dass im Besonderen apikale, enge Wurzelkanalanteile schlecht zugänglich waren und ein weites koronales Delta ein homogenes Bestrahlen unmöglich machte. Dies führte dazu, dass die optische Faser diese Areale nicht Flächen deckend erreichte und sie somit auch nicht homogen bearbeiten konnte. Hierbei muss die Auswahl unserer Versuchsobjekte kritisiert werden, da sich die ausgewählten Oberkieferfrontzähne zu stark in ihrer Kanalanatomie und Morphologie unterschieden. Die Verwendung standardisierter, konfektionierter Wurzelkanalmodelle wäre in diesem Fall sicherlich sinnvoller und aussagekräftiger gewesen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Kühlen der Faser während des Laservorgangs und das Senken der Laserwiederholungen von sechs auf drei Durchgänge das Auftreten von destruierenden Veränderungen im Wurzelkanaldentin signifikant reduziert. Weiterhin ist festzustellen, dass eine homogene Bestrahlung des gesamten Wurzelkanaldentins mittels des optischen Fasersystems des KEY-Lasers nicht möglich war und somit der Einsatz des Lasers zur Kanalreinigung oder Aufbereitung nicht als zufriedenstellend bewertet werden konnte.

## 5.3 <u>Teil III:</u>

Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den laserinduzierten Oberflächenveränderungen der Scores 1-8 und dem Erreichen steriler Bedingungen konnte nicht nachgewiesen werden, da bei allen Versuchsobjekten der Gruppen A-D ohne Ausnahme sterile Bedingungen erreicht wurden.

Bei Verknüpfung der Ergebnisse des mikrobiellen und des rasterelektronenmikroskopisch untersuchten Teils stellten wir fest, dass die gruppentypische individuelle Ausprägung der laserinduzierten Dentinveränderungen keinen Einfluss auf das Erreichen von Sterilität im Wurzelkanal hatte.

Wir vermuteten vor Beginn der Studie, dass das Säubern der Dentinoberfläche (Entfernung des mit Bakterien versetzten Smear-Layers und Eröffnung der Dentintubuli) möglicherweise eine Voraussetzung für das Erreichen von Keimfreiheit im Kanal darstellen könnte. Weitere Überlegungen führten uns dahin, dass möglicherweise auch ein durch Einschmelzungs- und Rekristallisierungsprozesse erfolgtes Verschließen der Dentintubuli ('dentin-plugging'), ein Austreten von in die Tubuli immigrierten Bakterien verhindern und damit die Gefahr der Reinfektion reduzieren könne.

Tatsache ist jedoch, dass weder vorhandener Smear-Layer noch eine gesäuberte oder glasartig eingeschmolzene Dentinoberfläche das Erreichen von Sterilität im Kanal beeinflussen. Eine Verbindung zwischen dem Auftreten gruppenspezifischer Oberflächenveränderungen und der erzielten Keimfreiheit besteht aufgrund dessen nicht.

Trotz dieser Fehleinschätzung sind die Ergebnisse des letzten Untersuchungsteils möglicherweise für einen anderen Bereich der Endodontie nutzbar. Es wäre sinnvoll, zu überprüfen, inwieweit laserinduzierte Veränderungen der Wurzelkanalmorphologie Einfluss auf die Haftung von Wurzelkanalfüllmaterialien haben könnten. Es wäre interessant, zu untersuchen, ob das Belassen des Smear-Layers oder das Eröffnen der Tubuli ('Laserätzung') mit Verzapfen von Sealern z.B. auf haftvermittelter Kompositbasis von Nutzen sein könnte, oder ob möglicherweise eher das Einschmelzen und Verschließen der Kanälchen mit daraus resultierender glatten, kristallartigen Oberfläche einen vorteilhaften Verbund bieten würde. Diese Ansätze sollten auf jeden Fall in weiterführenden Studien untersucht und überprüft werden.

## 6. Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wurde die antimikrobielle Wirkung des Er:YAG-Lasers nach Anwendung im infizierten Wurzelkanal überprüft und die dabei auftretenden laserinduzierten Oberflächenveränderungen des Wurzelkanaldentins dokumentiert, einem Scoringsystem zugeordnet und die Daten statistisch ausgewertet. Weiterhin wurde anhand der Ergebnisse überprüft, ob das Erreichen von Sterilität im Wurzelkanal ursächlich von dem Auftreten spezifischer Dentinmodifikationen abhängig ist.

Die Versuchsergebnisse der mikrobiellen Auswertung zeigten, dass der Er:YAG-Laser unter den von uns verwandten Parametern bei allen Versuchsobjekten unserer experimentellen Gruppen A-D in der Lage war, sterile Bedingungen im infizierten Wurzelkanal zu erzielen.

Nach Er:YAG-Laser-Bestrahlung traten in den jeweiligen Gruppen individuelle morphologische Oberflächenveränderungen im Bereich der Wurzelkanalwand auf. Die Bandbreite der Oberflächenmodifikationen (Score 1-8) reichte von einer nicht sichtbaren Bearbeitung der Wurzelkanalwand (Kategorie I), über dentinsäubernde Effekte (Kategorie II) bis hin zu destruierenden Veränderungen des Wurzelkanaldentins (Kategorie III).

Es wurde deutlich, dass laserinduzierte Temperatursteigerungen innerhalb der ungekühlten Gruppen zu Dentindestruktionen wie z.B Riss- und Kraterbildung oder Einschmelzungsprodukten führten; die Anzahl der Laserdurchgänge war hierbei für die Stärke der Ausprägung der Scores maßgeblich verantwortlich. Im Gegensatz dazu ermöglichte eine parallel zum Laservorgang erfolgte Kühlung der optischen Faser eine schonende, das Dentin säubernde Bearbeitung der Kanaloberfläche.

Nach Auswertung unserer Ergebnisse konnte eindeutig gezeigt werden, dass das Kühlen der optischen Faser und das Senken der Anzahl der Laserdurchgänge das Auftreten destruierender Dentinveränderungen hochsignifikant reduziert.

Die Anwendung des Er:YAG-Lasers führte jedoch nicht in allen Kanalbereichen zu einer Bearbeitung der Wurzelkanaloberfläche; große Anteile des Kanaldentins zeigten sich unverändert und wiesen scheinbar unbearbeiteten, massiven Smear-Layer Belag auf (Kategorie I). Hierfür wurden die individuelle Kanalmorphologie und der lediglich am Ende der Faseroptik axial austretende Laserstrahl mit seiner limitierten Streuung verantwortlich gemacht. Bei der Verknüpfung der oben geschilderten Versuchsergebnisse konnte festgestellt werden, dass die unterschiedlichen Ausprägungen laserinduzierter Dentinmodifikationen (Score 1-8) wider unseren Erwartungen keinen Einfluss auf das Erreichen von Keimfreiheit im Kanal hatten. Weder das Vorhandensein von Smear-Layer noch das Entfernen desselben oder das Einschmelzen und Rekristallisieren von Dentinstrukturen beeinflussten die Keimverhältnisse im Wurzelkanal.

#### Ausblick:

Der Einsatz des Er:YAG-Lasers als antimikrobielle Maßnahme bei der endodontischen Therapie kann nach den Ergebnissen unserer Studie als erfolgversprechend eingestuft werden. Bei der intrakanalären Anwendung optischer Lasersysteme sollte jedoch stets aufgrund der Gefahr der thermischen Überhitzung des umgebenden Gewebes auf eine sichere Anwendung geachtet werden, wobei das Kühlen der Laserinstrumente und ein Reduzieren der Laserbehandlungsdurchgänge die thermischen Nebeneffekte deutlich minimieren<sup>1</sup>.

Zur Säuberung und Bearbeitung des Wurzelkanals ist die von uns verwandte Lasertechnik noch nicht ausgereift, da keine flächendeckende, homogene Laserbearbeitung im Kanalsystem möglich ist. Die Weiterentwicklung der endodontisch eingesetzten Laserapparaturen, welche eine effektive und auch sichere Anwendung z.B. durch erhöhte Faserflexibilität, endoskopische Überwachungsmöglichkeiten oder thermische Kontrollmechanismen gewährleisten könnten, wären wünschenswert, so dass die Lasertherapie durchaus als Alternativmaßnahme oder Ergänzung in der endodontischen Therapie einsetzbar wäre.

Die Ergebnisse unserer Studie sollten auf jeden Fall in weiterführenden Untersuchungen kritisch überprüft werden. Untersuchungen mit parallel zur Bestrahlung erfolgender Temperaturmessung wären sinnvoll, um geeignete Vorgaben erstellen zu können, unter welchen Parametern die keimreduzierende Anwendung mittels des Er:YAG-Lasers eindeutig gefahrlos nutzbar sein könnte. Die Verwertung der strukturmorphologischen Ergebnisse wäre möglicherweise bei der Diskussion zur Verbesserung der Haftung von definitiven Wurzelkanalfüllmaterialien auf Kompositbasis zu verwerten.

Erst nach Ausschluss aller methodischen Bedenken könnten unter entsprechender Modifikation des Behandlungsablaufes auch klinische Studien angeschlossen werden

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Weiterhin weisen wir darauf hin, dass auch konventionelle Maßnahmen, wie das Spülen der Kanäle mit Natriumhypochlorit (3%) in der Kontrollgruppe, ebenso positive Resultate bezüglich des Erreichens von Sterilität im Wurzelkanal erzielt haben, wie dieses nach Lasertherapie erreicht wurde.

# 7. Anhang

# 7.1 Datenanalyse: Scoreverteilung der Gruppen A-D

Statistische Auswertung der Verteilung der Scores 1-8 innerhalb der Gruppen A-D:

Test- gruppe			Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
	Fahland	Sustem	1	100.0		
•	Gültig	1 00	1	100,0 44.7	51.2	51.2
A	Guilig	2.00	10	10.4	11.9	63.1
		3.00	2	2.1	2.4	65.5
		5,00	4	4,2	4,7	70,2
		6,00	11	11,5	13,1	83,3
		7,00	12	12,5	14,3	97,6
		8,00	2	2,1	2,4	100,0
	<b>F</b> 1 1 1	Gesamt	84	87,5	100,0	
	Fehlend	System	12	12,5		
	Gesamt		96	100,0		
R	Gültig	1.00	40	39.2	42.6	42.6
D	oung	2 00	18	17.7	10.1	61.7
		3,00	18	17,7	19,1	80.8
		4.00	10	11,7	12.8	93.6
		5.00	5	4.9	5 3	98.9
		6.00	1	0.9	1.1	100.0
		Gesamt	94	92.2	100.0	100,0
	Fehlend	System	8	7.8	100,0	
	Gesamt	System	102	100.0		
	Gesuint		102	100,0		
C	Gültio	1.00	37	41.1	46.8	46.8
C	Guing	2.00	51	67	7.6	54.4
		4.00	2	0,7	7,0	56.0
		5.00	2	2,2	2,5	50,9
		5,00	6	2,2	2,5	59,4
		0,00 7.00	10	0,7	7,0	07,0
		8,00	10	11,1	12,7	19,1
		6,00 Gesemt	10	17,0	20,3	100,0
	Fehlend	System	11	12.2	100,0	
	Gesamt	System	90	100.0		
	oosanno		20	100,0		
D	Gültio	1.00	54	53.0	61.4	61.4
D	Guing	2.00	21	20.6	23.0	85.3
		2,00	21 5	20,0	23,9	05,5
		5,00	2	4,9	5,7	91,0
		5,00	З Л	2,9	5,4 1 5	94,4
		7.00	4	5,9	4, <i>3</i> 1 1	90,9 100 0
		Gesamt	1 QQ	26.2	100.0	100,0
	Fehlend	System	00 17	13 7	100,0	
	Gesamt	System	14	100.0		
	Gesam		102	100,0		
### 7.2 Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe A + C



Gruppen

**Diagramm 6:** Vergleich der Gruppe A + C

## 7.3 <u>Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe B + D</u>



Gruppen

Diagramm 7 Vergleich der Gruppe B + D

# 7.4 <u>Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe A + B</u>



Gruppen

Diagramm 8: Vergleich der Gruppe A + B



## 7.5 <u>Vergleich der Scores 1-8 zwischen Gruppe C+D:</u>

Diagramm 9: Vergleich der Gruppe C + D



Diagramm 10: Vergleich der Flächen apikal, mittig und koronal

# Literatur

- E. Abt, H. Wigdor, R. Lobraico, B. Carlson, D. Harris, and R. Pyrcz. Removal of benign intraoral masses using the CO<sub>2</sub> laser. J Am Dent Assoc, 115(5):729–731, November 1987.
- [2] J. C. Adrian, J. L. Bernier, and W. G. Sprague. Laser and the dental pulp. J Am Dent Assoc, 83(1):113–117, July 1971.
- [3] S. Ahmed, G. P. Rigby, P. Crump, and P. M. Vadgama. Comparative assessment of chemical and gamma-irradiation procedures for implantable glucose enzyme electrodes. *Biosens Bioelectron*, 15(3–4):159–165, June 2000.
- [4] R. R. Alfano, W. Lam, and H. J. Zarrabi. Human teeth with and without caries studied by laser scattering, fluorenscence, and absorption spectroscopy. *JEEE J Quantum Electronics*, QE-20:1512–1519, 1984.
- [5] R. R. Alfano and S. S. Yao. Human teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. *J Dent Res*, 60(2):120–122, February 1981.
- [6] I. Anic and K. Matsumoto. Comparison of the sealing ability of laser-softened, laterally condensed and low-temperature thermoplasticized gutta-percha. J Endod, 21(9):464– 469, September 1995.
- [7] I. Anic and K. Matsumoto. Dentinal heat transmission induced by a laser-softened gutta-percha obturation technique. J Endod, 21(9):470–474, September 1995.
- [8] I. Anic, B. Pavelic, B. Peric, and K. Matsumoto. In vitro pulp chamber temperature rises associated with the argon laser polymerization of composite resin. *Lasers Surg Med*, 19(4):438–444, 1996.
- [9] I. Anic, S. Segovic, D. Katanec, K. Prskalo, and D. Najzar-Fleger. Scanning electron microscopic study of dentin lased with argon, CO<sub>2</sub>, and Nd:YAG laser. J Endod, 24(2):77–81, February 1998.
- [10] I. Anic, H. Tachibana, K. Masumoto, and P. Qi. Permeability, morphologic and temperature changes of canal dentine walls induced by Nd:YAG, CO<sub>2</sub> and argon lasers. *Int Endod J*, 29(1):13–22, January 1996.
- [11] S. Arakawa, C. M. Cobb, J. W. Rapley, W. J. Killoy, and P. Spencer. Treatment of root fracture by CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers: an in vitro study. *J Endod*, 22(12):662–667, December 1996.
- [12] M. Arima and K. Matsumoto. Effects of ArF:excimer laser irradiation on human enamel and dentin. *Lasers Surg Med*, 13(1):97–105, 1993.
- [13] A. M. Arrastia, P. Wilder-Smith, and M. W. Berns. Thermal effects of CO<sub>2</sub> laser on the pulpal chamber and enamel of human primary teeth: an in vitro investigation. *Lasers Surg Med*, 16(4):343–350, 1995.
- [14] A. M. Arrastia-Jitosho, L. H. Liaw, W. Lee, and P. Wilder-Smith. Effects of a 532 nm Q-switched nanosecond pulsed laser on dentin. J Endod, 24(6):427–431, June 1998.
- [15] F. Barbakow, O. Peters, and L. Havranek. Effects of Nd:YAG lasers on root canal walls: a light and scanning electron microscopic study. *Quintessence Int*, 30(12):837– 845, December 1999.

- [16] M. A. Baumann and G. M. Doll. Spatial reproduction of the root canal system by magnetic resonance microscopy. J Endod, 23(1):49–51, January 1997.
- [17] R. G. Beatty, F. J. Vertucci, and K. L. Zakariasen. Apical sealing efficacy of endodontic obturation techniques. *Int Endod J*, 19(5):237–241, September 1986.
- [18] E. G. Beck and P. Schmidt. Hygiene, Umweltmedizin. Thieme, Stuttgart, sixth edition, 1996. ISBN 3432927665.
- [19] P. O. Beeking, C. Herrmann, and R. Zuhrt. Examination of laser-treated tooth surfaces after exposure to acid. *Dtsch Stomatol*, 40(12):490–492, December 1990.
- [20] J. Y. Blum and M. J. Abadie. Study of the Nd:YAP laser. Effect on canal cleanliness. J Endod, 23(11):669–675, November 1997.
- [21] J. Y. Blum, P. Michailesco, and M. J. Abadie. An evaluation of the bactericidal effect of the Nd:YAP laser. J Endod, 23(9):583–585, September 1997.
- [22] R. Boehm, L. Rich, J. Webster, and S. Janke. Thermal stress effects and surface cracking associated with laser use on human teeth. J Biomech Eng, 23(11):831–832, 1977.
- [23] P. Bonin, R. Boivin, and J. Poulard. Dentinal permeability of the dog canine after exposure of a cervical cavity to the beam of a CO<sub>2</sub> laser. J Endod, 17(3):116–118, March 1991.
- [24] C. M. Bramante, A. Berbert, and R. P. Borges. A methodology for evaluation of root canal instrumentation. J Endod, 13(5):243–245, May 1987.
- [25] H. Brandis, H. J. Eggers, and W. Köhler. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Urban & Fischer, München, seventh edition, 1994. ISBN 3437007440.
- [26] E. J. Burkes, Jr., J. Hoke, E. Gomes, and M. Wolbarsht. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. J Prosthet Dent, 67(6):847–851, June 1992.
- [27] F. Burkhardt. *Mikrobiologische Diagnostik*. Thieme, Stuttgart, 1992. ISBN ???????
- [28] A. Byström, R. P. Happonen, U. Sjögren, and G. Sundqvist. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. *Endod Dent Traumatol*, 3(2):58–63, April 1987.
- [29] A. Byström and G. Sundqvist. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*, 89(4):321–328, August 1981.
- [30] A. Byström and G. Sundqvist. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*, 18(1):35–40, January 1985.
- [31] I. Cernavin. A comparison of the effects of Nd:YAG and Ho:YAG laser irradiation on dentine and enamel. Aust Dent J, 40(2):79–84, April 1995.
- [32] S. Chaiyavej, H. Yamamoto, A. Takeda, and H. Suda. Response of feline intradental nerve fibers to tooth cutting by Er:YAG laser. Lasers Surg Med, 27(4):341–349, 2000.
- [33] I. G. Chestnutt, T. W. MacFarlane, and K. W. Stephen. An in vitro investigation of the cariogenic potential of oral streptococci. Arch Oral Biol, 39(7):589–593, July 1994.

- [34] D. S. Cobb, D. N. Dederich, and T. V. Gardner. In vitro temperature change at the dentin/pulpal interface by using conventional visible light versus argon laser. *Lasers* Surg Med, 26(4):386–397, 2000.
- [35] B. I. Cohen, A. S. Deutsch, and B. L. Musikant. Effect of power settings on temperature change at the root surface when using a Holmium YAG laser in enlarging the root canal. *J Endod*, 22(11):596–599, November 1996.
- [36] B. I. Cohen, A. S. Deutsch, B. L. Musikant, and M. K. Pagnillo. Effect of power settings versus temperature change at the root surface when using multiple fiber sizes with a Holmium YAG laser while enlarging a root canal. J Endod, 24(12):802–806, December 1998.
- [37] E. Dankner, J. Neev, A. Stabholz, and I. Rotstein. Effect of XeCl-308nm excimer laser on the mineral content of human dentin. *Endod Dent Traumatol*, 13(5):234–237, October 1997.
- [38] D. N. Dederich. CO<sub>2</sub> laser fusion of a vertical root fracture. J Am Dent Assoc, 130(8):1195–1199, August 1999.
- [39] D. N. Dederich, K. L. Zakariasen, and J. Tulip. Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following neodymium-yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *J Endod*, 10(9):428–431, September 1984.
- [40] D. N. Dederich, K. L. Zakariasen, and J. Tulip. Effects of continuous wave CO<sub>2</sub> laser on canal wand dentin. J Dent Res, 65:253, 1986.
- [41] D. N. Dederich, K. L. Zakariasen, and J. Tulip. An in-vitro quantitative analysis of changes in root canal wall dentine due to pulsed Nd:YAG laser irradiation. *Lasers in the Life Sciences*, 2:39–51, 1988.
- [42] Tatjana Dostalova, Helena Jelinkova, Devana Housova, Jan Sulc, Michal Nemec, Jana Duskova, Mitsunobu Miyagi, and Martin Kratky. Endodontic treatment with application of Er:YAG laser waveguide radiation disinfection. J Clin Laser Med Surg, 20(3):135–139, June 2002.
- [43] D. R. Drake, A. H. Wiemann, E. M. Rivera, and R. E. Walton. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. J Endod, 20(2):78–82, February 1994.
- [44] A. Ebihara, B. Majaron, L-H L. Liaw, T. B. Krasieva, and P. Wilder-Smith. Er:YAG laser modification of root canal dentine: influence of pulse duration, repetitive irradiation and water spray. *Lasers Med Sci*, 17(3):198–207, 2002.
- [45] A. Ebihara, Y. Tokita, T. Izawa, and H. Suda. Pulpal blood flow assessed by laser Doppler flowmetry in a tooth with a horizontal root fracture. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 81(2):229–233, February 1996.
- [46] B. Edwall, B. Gazelius, J. O. Berg, L. Edwall, K. Hellander, and L. Olgart. Blood flow changes in the dental pulp of the cat and rat measured simultaneously by laser Doppler flowmetry and local <sup>125</sup>I clearance. Acta Physiol Scand, 131(1):81–91, September 1987.
- [47] J. Eichler and T. Seiler. Lasertechnik in der Medizin. Springer, Berlin, first edition, 1991. ISBN 3540526757.
- [48] J. N. Eto, W. Niu, F. H. Takeda, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Morphological and atomic analytical changes of root canal wall dentin after treatment with thirtyeight percent Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>F solution and CO<sub>2</sub> laser. J Clin Laser Med Surg, 17(1):19–24, February 1999.

- [49] P. Farge, P. Nahas, and P. Bonin. In vitro study of a Nd:YAP laser in endodontic retreatment. J Endod, 24(5):359–363, May 1998.
- [50] M. I. Fayad, J. M. Carter, and C. Liebow. Transient effects of low-energy CO<sub>2</sub> laser irradiation on dentinal impedance: implications for treatment of hypersensitive teeth. *J Endod*, 22(10):526–531, October 1996.
- [51] S. E. Fegan and H. R. Steiman. Comparative evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation: an in vitro study. J Endod, 21(8):415–417, August 1995.
- [52] J. M. Ferreira, J. Palamara, P. P. Phakey, W. A. Rachinger, and H. J. Orams. Effects of continuous-wave CO<sub>2</sub> laser on the ultrastructure of human dental enamel. *Arch Oral Biol*, 34(7):551–562, 1989.
- [53] M. G. Fleming and W. A. Maillet. Photopolymerization of composite resin using the argon laser. J Can Dent Assoc, 65(8):447–450, September 1999.
- [54] R. Florin, C. Herrmann, and W. Bernhardt. Measuring microhardness of laser exposed tooth surface. *Stomatol DDR*, 40(2):49–51, February 1990.
- [55] H. M. Fogel and D. H. Pashley. Dentin permeability: effects of endodontic procedures on root slabs. J Endod, 16(9):442–445, September 1990.
- [56] J. L. Fox, D. Yu, M. Otsuka, W. I. Higuchi, J. Wong, and G. Powell. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. *Caries Res*, 26(5):333–339, 1992.
- [57] J. L. Fox, D. Yu, M. Otsuka, W. I. Higuchi, J. Wong, and G. L. Powell. Initial dissolution rate studies on dental enamel after CO<sub>2</sub> laser irradiation. *J Dent Res*, 71(7):1389–1398, July 1992.
- [58] H. Freden, A. Hedin, E. M. Malmberg, F. Mannerberg, H. Rockert, and B. Tengroth. Effects of focused laser radiation on dental enamel. *Odontol Tidskr*, 74(5):303–306, December 1966.
- [59] M. Frentzen and H. J. Koort. Laser technology in dentistry. Dtsch Zahnärztl Z, 46(7):443–452, July 1991.
- [60] M. Frentzen, H. J. Koort, O. Kermani, and M. U. Dardenne. Preparation of hard tooth structure with excimer lasers. *Dtsch Zahnärztl Z*, 44(6):454–457, June 1989.
- [61] M. Frentzen, H. J. Koort, and R. Nolden. Root canal preparation using excimer lasers. Dtsch Zahnärztl Z, 46(4):288–289, April 1991.
- [62] S. Friedman, R. Komorowski, W. Maillet, H. Q. Nguyen, and C. D. Torneck. Susceptibility of Nd:YAG laser-irradiated root surfaces in replanted teeth to external inflammatory resorption. *Endod Dent Traumatol*, 14(5):225–231, October 1998.
- [63] S. Friedman, I. Rotstein, and I. Bab. Tissue response following CO<sub>2</sub> laser application in apical surgery: light microscopic assessment in dogs. *Lasers Surg Med*, 12(1):104–111, 1992.
- [64] S. Friedman, I. Rotstein, L. Koren, and M. Trope. Dye leakage in retrofilled dog teeth and its correlation with radiographic healing. *J Endod*, 17(8):392–395, August 1991.
- [65] S. Friedman, I. Rotstein, and A. Mahamid. In vivo efficacy of various retrofills and of CO<sub>2</sub> laser in apical surgery. *Endod Dent Traumatol*, 7(1):19–25, February 1991.

- [66] A. Funato, Y. Nakamura, and K. Matsumoto. Effects of Nd:YAG laser irradiation on microcirculation. J Clin Laser Med Surg, 9(6):467–474, December 1991.
- [67] G. Gambarini and J. Laszkiewicz. A scanning electron microscopic study of debris and smear layer remaining following use of GT rotary instruments. Int Endod J, 35(5):422– 427, May 2002.
- [68] B. Gazelius, B. Edwall, L. Olgart, J. M. Lundberg, T. Hokfelt, and J. A. Fischer. Vasodilatory effects and coexistence of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in sensory nerves of cat dental pulp. *Acta Physiol Scand*, 130(1):33–40, May 1987.
- [69] B. Gazelius, L. Olgart, and B. Edwall. Restored vitality in luxated teeth assessed by laser Doppler flowmeter. *Endod Dent Traumatol*, 4(6):265–268, December 1988.
- [70] S. C. Gelskey, J. M. White, D. E. Gelskey, and W. Kremers. Vapor emissions resulting from Nd:YAG laser interaction with tooth structure. *Dent Mater*, 14(6):453–457, November 1998.
- [71] S. C. Gelskey, J. M. White, and V. K. Pruthi. The effectiveness of the Nd:YAG laser in the treatment of dental hypersensitivity. J Can Dent Assoc, 59(4):377–386, April 1993.
- [72] J. A. Gerschman, J. Ruben, and J. Gebart-Eaglemont. Low level laser therapy for dentinal tooth hypersensitivity. Aust Dent J, 39(6):353–357, December 1994.
- [73] T. M. Gilbert, D. H. Pashley, and R. W. Anderson. Response of pulpal blood flow to intra-arterial infusion of endothelin. J Endod, 18(5):228–231, May 1992.
- [74] L. Goldman, P. Hornby, R. Meyer, and B. Goldman. Impact of the laser on dental caries. *Nature*, 203:417, July 1964.
- [75] B. P. Gomes, J. D. Lilley, and D. B. Drucker. Clinical significance of dental root canal microflora. J Dent, 24(1-2):47–55, Jan-Mar 1996.
- [76] H. E. Goodis, J. M. White, S. J. Marshall, and G. W. Marshall. Scanning electron microscopic examination of intracanal wall dentin: hand vs laser treatment. *Scann Microsc*, 7(3):979–987, 1993.
- [77] T. E. Gordon, Jr. Laser interactions with extracted human teeth: a preliminary report. Dent Dig, 72(4):154–158, April 1966.
- [78] L. Grad and J. Mozina. Optodynamic studies of Er:YAG laser induced microexplosions in dentin. Applied Surface Science, 96–98:591–595, 1996.
- [79] N. Gutknecht and V. G. Behrens. Instrumentation of root canal walls with Nd-YAG laser. ZWR, 100(10):748–750, 752, 755, October 1991.
- [80] N. Gutknecht, F. Kaiser, A. Hassan, and F. Lampert. Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. J Clin Laser Med Surg, 14(1):7–11, February 1996.
- [81] N. Gutknecht, A. Moritz, G. Conrads, T. Sievert, and F. Lampert. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in in vitro root canals. J Clin Laser Med Surg, 14(2):77–80, April 1996.
- [82] N. Gutknecht, M. Nuebler-Moritz, S. F. Burghardt, and F. Lampert. The efficiency of root canal disinfection using a holmium:yttrium-aluminum-garnet laser in vitro. J Clin Laser Med Surg, 15(2):75–78, 1997.

- [83] C. Haffner, J. Diebold, A. Mehl, and C. Benz. Histologische Untersuchungen von Wurzelkanälen nach Bearbeitung mit einem 2.94ym Er:YAG Laser. Dtsch Zahnärztl Z, 54(1):18–21, 1999.
- [84] C. Haffner and A. Mehl. Preparing root canals with 2.94ym Er:YAG laser a biological investigation. *IADR–CED*, page #467, 1997.
- [85] Y. Haikel and C. Allemann. Effectiveness of four methods for preparing root canals: a scanning electron microscopic evaluation. J Endod, 14(7):340–345, July 1988.
- [86] R. E. Hand, M. L. Smith, and J. W. Harrison. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*, 4(2):60–64, February 1978.
- [87] T. Harashima, F. H. Takeda, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Effect of Nd:YAG laser irradiation for removal of intracanal debris and smear layer in extracted human teeth. *J Clin Laser Med Surg*, 15(3):131–135, 1997.
- [88] T. Harashima, F. H. Takeda, C. Zhang, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Effect of argon laser irradiation on instrumented root canal walls. *Endod Dent Traumatol*, 14(1):26–30, February 1998.
- [89] M. W. Hardee, L. J. Miserendino, W. Kos, and H. Walia. Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation. J Endod, 20(8):377–380, August 1994.
- [90] A. Hartmann, J. Azerad, and Y. Boucher. Environmental effects on laser Doppler pulpal blood-flow measurements in man. *Arch Oral Biol*, 41(4):333–339, April 1996.
- [91] J. A. Hess. Scanning electron microscopic study of laser-induced morphologic changes of a coated enamel surface. *Lasers Surg Med*, 10(5):458–462, 1990.
- [92] R. Hibst, K. Stock, R. Gall, and U. Keller. Controlled root surface heating and sterilisation by Er:YAG laser radiation. *Proc. SPIE*, 2922:119–127, 1996.
- [93] J. A. Hoke, E. J. Burkes, Jr., E. D. Gomes, and M. L. Wolbarsht. Erbium:YAG (2.94 mum) laser effects on dental tissues. J Laser Appl, 2(3–4):61–65, Summer-Fall 1990.
- [94] T. W. Hooks, J. C. Adrian, A. Gross, and W. E. Bernier. Use of the carbon dioxide laser in sterilization of endodontic reamers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 49(3):263–265, March 1980.
- [95] C. Y. Hsu, T. H. Jordan, D. N. Dederich, and J. S. Wefel. Effects of low-energy CO<sub>2</sub> laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. J Dent Res, 79(9):1725–1730, September 2000.
- [96] M. Hülsmann, U. Herbst, and F. Schäfers. Comparative study of root-canal preparation using Lightspeed and Quantec SC rotary NiTi instruments. Int Endod J, 36(11):748– 756, November 2003.
- [97] A. E. Ingolfsson, L. Tronstad, and C. E. Riva. Reliability of laser Doppler flowmetry in testing vitality of human teeth. *Endod Dent Traumatol*, 10(4):185–187, August 1994.
- [98] A. R. Ingolfsson, L. Tronstad, E. V. Hersh, and C. E. Riva. Efficacy of laser Doppler flowmetry in determining pulp vitality of human teeth. *Endod Dent Traumatol*, 10(2):83–87, April 1994.

- [99] D. Jarvis, M. B. MacIver, and D. L. Tanelian. Electrophysiologic recording and thermodynamic modeling demonstrate that helium-neon laser irradiation does not affect peripheral Aδ- or C-fiber nociceptors. *Pain*, 43(2):235–242, November 1990.
- [100] M. J. Jeansonne and R. R. White. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod, 20(6):276– 278, June 1994.
- [101] M. Jesionowski. Investigations on the effect of laser radiation on the dental pulp in rabbits. Pol Med J, 9(2):468–474, 1970.
- [102] S. Jukic, I. Anic, K. Koba, D. Najzar-Fleger, and K. Matsumoto. The effect of pulpotomy using CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers on dental pulp tissue. *Int Endod J*, 30(3):175–180, May 1997.
- [103] S. Kantola. Laser-induced effects on tooth structure. V. Electron probe microanalysis and polarized light microscopy of dental enamel. Acta Odontol Scand, 30(4):475–484, October 1972.
- [104] Gavriel Kesler, Rivka Gal, Anat Kesler, and Rumelia Koren. Histological and scanning electron microscope examination of root canal after preparation with Er:YAG laser microprobe: a preliminary in vitro study. J Clin Laser Med Surg, 20(5):269–277, October 2002.
- [105] M. A. Khan, M. F. Khan, M. W. Khan, H. Wakabayashi, and K. Matsumoto. Effect of laser treatment on the root canal of human teeth. *Endod Dent Traumatol*, 13(3):139– 145, June 1997.
- [106] M. F. Khan, K. Yonaga, Y. Kimura, A. Funato, and K. Matsumoto. Study of microleakage at Class I cavities prepared by Er:YAG laser using three types of restorative materials. J Clin Laser Med Surg, 16(6):305–308, December 1998.
- [107] Y. Kimura, P. Wilder-Smith, A. M. Arrastia-Jitosho, L. H. Liaw, K. Matsumoto, and M. W. Berns. Effects of nanosecond pulsed Nd:YAG laser irradiation on dentin resistance to artificial caries-like lesions. *Lasers Surg Med*, 20(1):15–21, 1997.
- [108] Y. Kimura, P. Wilder-Smith, and K. Matsumoto. Lasers in endodontics: a review. Int Endod J, 33(3):173–185, May 2000.
- [109] Y. Kimura, R. Yamazaki, C. Goya, Y. Tomita, K. Yokoyama, and K. Matsumoto. A comparative study on the effects of three types of laser irradiation at the apical stop and apical leakage after obturation. J Clin Laser Med Surg, 17(6):261–266, December 1999.
- [110] Y. Kimura, K. Yonaga, K. Yokoyama, E. Matsuoka, K. Sakai, and K. Matsumoto. Apical leakage of obturated canals prepared by Er:YAG laser. J Endod, 27(9):567–570, September 2001.
- [111] T. Kinersly, J. P. Jarabak, N. M. Phatak, and J. DeMent. Laser-induced microperforations in teeth sections. J Dent Res, 45(1):199–203, Jan-Feb 1966.
- [112] T. Klinke, W. Klimm, and N. Gutknecht. Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. J Clin Laser Med Surg, 15(1):29–31, February 1997.

- [113] K. Koba, Y. Kimura, K. Matsumoto, H. Gomyoh, S. Komi, S. Harada, N. Tsuzuki, and Y. Shimada. A clinical study on the effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation at root canals immediately after pulpectomy and shaping. J Clin Laser Med Surg, 17(2):53–56, April 1999.
- [114] K. Koba, Y. Kimura, K. Matsumoto, T. Takeuchi, T. Ikarugi, and T. Shimizu. A histopathological study of the effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on infected root canals in dogs. *J Endod*, 25(3):151–154, March 1999.
- [115] K. Koba, Y. Kimura, K. Matsumoto, T. Takeuchi, T. Ikarugi, T. Shimizu, and K. Saito. Pulsed Nd:YAG laser application to one-visit treatment of infected root canals in dogs: a histopathological study. J Clin Laser Med Surg, 16(4):217–221, August 1998.
- [116] K. Koba, Y. Kimura, K. Matsumoto, H. Watanabe, T. Shinoki, R. Kojy, and M. Ito. Post-operative symptoms and healing after endodontic treatment of infected teeth using pulsed Nd:YAG laser. *Endod Dent Traumatol*, 15(2):68–72, April 1999.
- [117] T. Komori, K. Yokoyama, Y. Matsumoto, and K. Matsumoto. Erbium:YAG and holmium:YAG laser root resection of extracted human teeth. J Clin Laser Med Surg, 15(1):9–13, February 1997.
- [118] T. Komori, K. Yokoyama, T. Takato, and K. Matsumoto. Case reports of epulis treated by CO<sub>2</sub> laser without anesthesia. J Clin Laser Med Surg, 14(4):189–191, August 1996.
- [119] T. Komori, K. Yokoyama, T. Takato, and K. Matsumoto. Clinical application of the erbium:YAG laser for apicoectomy. J Endod, 23(12):748–750, December 1997.
- [120] C. Kurachi, C. P. Eduardo, D. V. Magalhaes, and V. S. Bagnato. Human teeth exposed to argon laser irradiation: determination of power-time-temperature working conditions. J Clin Laser Med Surg, 17(6):255–259, December 1999.
- [121] S. Kuroda and B. O. Fowler. Compositional, structural, and phase changes in in vitro laser-irradiated human tooth enamel. *Calcif Tissue Int*, 36(4):361–369, July 1984.
- [122] A. Le Goff, A. Dautel-Morazin, M. Guigand, J. M. Vulcain, and M. Bonnaure-Mallet. An evaluation of the CO<sub>2</sub> laser for endodontic disinfection. *J Endod*, 25(2):105–108, February 1999.
- [123] E. Lenz. Physical and microscopic studies on the effects of laser beams on enamel surfaces. Dtsch Stomatol, 18(5):345–353, May 1968.
- [124] E. Lenz. Changes in the hard dental tissues and filling materials caused by solid body and gas laser beams. *Dtsch Stomatol*, 21(5):406–413, May 1971.
- [125] P. Lenz. The use of laser beams in dentistry. Zahnärztl Mitt, 64(3):112–117, February 1974.
- [126] P. Lenz. Versiegelungsversuche an Zahnhartsubstanzen mit Laserstrahlen. Laser Med Biol, 1977.
- [127] P. Lenz and H. Gilde. Temperature changes in the pulp cavity after enamel sealing with lasers. Dtsch Zahnärztl Z, 33(9):623–628, September 1978.
- [128] P. Lenz, H. Gilde, and U. J. Pyttel. Reactions of dental tissue to laser radiation. Dtsch Zahnärztl Z, 31(11):884–886, November 1976.
- [129] P. Lenz, U. J. Pyttel, and H. Gilde. Morphological studies on the effect of lasers on dental pulp and mouth mucosa. *Dtsch Zahnärztl Z*, 32(7):508–511, July 1977.

- [130] T. Liesenhoff, H. Lenz, and T. Seiler. Root canal preparation using excimer laser beams. ZWR, 98(12):1037–1039, December 1989.
- [131] R. R. Lobene, B. R. Bhussry, and S. Fine. Interaction of carbon dioxide laser radiation with enamel and dentin. J Dent Res, 47(2):311–317, Mar-Apr 1968.
- [132] R. R. Lobene and S. Fine. Interaction of laser radiation with oral hard tissues. J Prosthet Dent, 16(3):589–597, May-Jun 1966.
- [133] T. Machida, P. Wilder-Smith, A. M. Arrastia, L. H. Liaw, and M. W. Berns. Root canal preparation using the second harmonic KTP:YAG laser: a thermographic and scanning electron microscopic study. *J Endod*, 21(2):88–91, February 1995.
- [134] W. A. Maillet, C. D. Torneck, and S. Friedman. Connective tissue response to root surfaces resected with Nd:YAG laser or burs. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 82(6):681–690, December 1996.
- [135] T. H. Maiman. Stimulated optical radiation in ruby. Nature, 187(4736):493–494, August 1960.
- [136] E. Matsuoka, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Studies on the removal of debris near the apical seats by Er:YAG laser and assessment with a fiberscope. J Clin Laser Med Surg, 16(5):255–261, October 1998.
- [137] E. Matsuoka, K. Yonaga, J. Kinoshita, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Morphological study on the capability of Er:YAG laser irradiation for root canal preparation. J Clin Laser Med Surg, 18(4):215–219, August 2000.
- [138] A. Mehl, M. Folwaczny, C. Haffner, and R. Hickel. Bactericidal effects of 2.94 microns Er:YAG-laser radiation in dental root canals. J Endod, 25(7):490–493, July 1999.
- [139] J. Melcer, M. T. Chaumette, and F. Melcer. Dental pulp exposed to the CO<sub>2</sub> laser beam. Lasers Surg Med, 7(4):347–352, 1987.
- [140] J. Melcer, M. T. Chaumette, F. Melcer, J. Dejardin, R. Hasson, R. Merard, Y. Pinaudeau, and R. Weill. Treatment of dental decay by CO<sub>2</sub> laser beam: preliminary results. *Lasers Surg Med*, 4(4):311–321, 1984.
- [141] S. Mezawa, K. Iwata, K. Naito, and H. Kamogawa. The possible analgesic effect of softlaser irradiation on heat nociceptors in the cat tongue. Arch Oral Biol, 33(9):693–694, 1988.
- [142] M. Midda. Lasers in periodontics. *Periodontal Clin Investig*, 14(1):14–20, Spring 1992.
- [143] M. Midda. The use of lasers in periodontology. Curr Opin Dent, 2:104–108, March 1992.
- [144] M. Midda and P. Renton-Harper. Lasers in dentistry. Br Dent J, 170(9):343–346, May 1991.
- [145] L. J. Miserendino. The laser apicoectomy: endodontic application of the CO<sub>2</sub> laser for periapical surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 66(5):615–619, November 1988.
- [146] L. J. Miserendino, E. Abt, H. Wigdor, and C. A. Miserendino. Evaluation of thermal cooling mechanisms for laser application to teeth. *Lasers Surg Med*, 13(1):83–88, 1993.
- [147] L. J. Miserendino, G. C. Levy, E. Abt, and I. M. Rizoiu. Histologic effects of a thermally cooled Nd:YAG laser on the dental pulp and supporting structures of rabbit teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 78(1):93–100, July 1994.

- [148] L. J. Miserendino, G. C. Levy, and I. M. Rizoiu. Effects of Nd:YAG laser on the permeability of root canal wall dentin. J Endod, 21(2):83–87, February 1995.
- [149] L. J. Miserendino, E. J. Neiburger, H. Walia, N. Luebke, and W. Brantley. Thermal effects of continuous wave CO<sub>2</sub> laser exposure on human teeth: an in vitro study. J Endod, 15(7):302–305, July 1989.
- [150] T. Mizutani. Anatomical study on the root apex in the maxillary anterior teeth. Aichi Gakuin Daigaku Shigakkai Shi, 27(1):169–184, March 1989.
- [151] C. Mor, A. Stabholz, J. Neev, and I. Rotstein. Efficacy of XeCl-308 excimer laser in fusing hydroxyapatite to seal the root apex. *Endod Dent Traumatol*, 11(4):169–171, August 1995.
- [152] A. Moritz, O. Doertbudak, N. Gutknecht, K. Goharkhay, U. Schoop, and W. Sperr. Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. J Am Dent Assoc, 128(11):1525–1530, November 1997.
- [153] A. Moritz, N. Gutknecht, K. Goharkhay, U. Schoop, J. Wernisch, C. Pohn, and W. Sperr. The carbon dioxide laser as an aid in apicoectomy: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg*, 15(4):185–188, 1997.
- [154] A. Moritz, N. Gutknecht, K. Goharkhay, U. Schoop, J. Wernisch, and W. Sperr. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int*, 28(3):205– 209, March 1997.
- [155] A. Moritz, N. Gutknecht, U. Schoop, K. Goharkhay, O. Doertbudak, and W. Sperr. Irradiation of infected root canals with a diode laser in vivo: results of microbiological examinations. *Lasers Surg Med*, 21(3):221–226, 1997.
- [156] A. Moritz, N. Gutknecht, U. Schoop, K. Goharkhay, D. Ebrahim, J. Wernisch, and W. Sperr. The advantage of CO<sub>2</sub>-treated dental necks, in comparison with a standard method: results of an in vivo study. J Clin Laser Med Surg, 14(1):27–32, February 1996.
- [157] A. Moritz, S. Jakolitsch, K. Goharkhay, U. Schoop, W. Kluger, R. Mallinger, W. Sperr, and A. Georgopoulos. Morphologic changes correlating to different sensitivities of Escherichia coli and enterococcus faecalis to Nd:YAG laser irradiation through dentin. *Lasers Surg Med*, 26(3):250–261, 2000.
- [158] A. Moritz, U. Schoop, K. Goharkhay, S. Jakolitsch, W. Kluger, J. Wernisch, and W. Sperr. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: an in vitro comparison. J Clin Laser Med Surg, 17(4):161–164, 1999.
- [159] A. Moritz, U. Schoop, K. Goharkhay, and W. Sperr. Advantages of a pulsed CO<sub>2</sub> laser in direct pulp capping: a long-term in vivo study. *Lasers Surg Med*, 22(5):288–293, 1998.
- [160] A. Moritz, U. Schoop, K. Goharkhay, and W. Sperr. The CO<sub>2</sub> laser as an aid in direct pulp capping. J Endod, 24(4):248–251, April 1998.
- [161] J. Moshonov, D. Orstavik, S. Yamauchi, M. Pettiette, and M. Trope. Nd:YAG laser irradiation in root canal disinfection. *Endod Dent Traumatol*, 11(5):220–224, October 1995.

- [162] J. Moshonov, A. Sion, J. Kasirer, I. Rotstein, and A. Stabholz. Efficacy of argon laser irradiation in removing intracanal debris. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 79(2):221–225, February 1995.
- [163] T. D. Myers and W. D. Myers. In vivo caries removal utilizing the YAG laser. J Mich Dent Assoc, 67(2):66–69, February 1985.
- [164] S. Nammour, M. Carleer, C. Renneboog-Squilbin, and N. Dourov. Use of the laser for welding cracks on the dental enamel. J Biol Buccale, 15(1):37–43, March 1987.
- [165] E. J. Neiburger. Evaluation of the CO<sub>2</sub> laser for endodontic root apex welding. J Mass Dent Soc, 41(2):77–79, Spring 1992.
- [166] E. J. Neiburger. The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. N Y State Dent J, 61(3):40–43, March 1995.
- [167] E. J. Neiburger and L. Miserendino. Laser reflectance: hazard in the dental operatory. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 66(6):659–661, December 1988.
- [168] W. Niu, J. N. Eto, Y. Kimura, F. H. Takeda, and K. Matsumoto. A study on microleakage after resin filling of Class V cavities prepared by Er:YAG laser. J Clin Laser Med Surg, 16(4):227–231, August 1998.
- [169] P. A. Oberg, T. Tenland, and G. E. Nilsson. Laser-Doppler flowmetry-a non-invasive and continuous method for blood flow evaluation in microvascular studies. Acta Med Scand Suppl, 687:17-24, 1984.
- [170] T. M. Odor, T. R. Ford, and F. McDonald. Effect of probe design and bandwidth on laser Doppler readings from vital and root-filled teeth. *Med Eng Phys*, 18(5):359–364, July 1996.
- [171] T. M. Odor, T. R. Pitt Ford, and F. McDonald. Effect of wavelength and bandwidth on the clinical reliability of laser Doppler recordings. *Endod Dent Traumatol*, 12(1):9–15, February 1996.
- [172] B. Onal, T. Ertl, G. Siebert, and G. Muller. Preliminary report on the application of pulsed CO<sub>2</sub> laser radiation on root canals with AgCl fibers: a scanning and transmission electron microscopic study. J Endod, 19(6):272–276, June 1993.
- [173] R. Orchardson, J. M. Peacock, and C. J. Whitters. Effect of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in isolated mammalian spinal nerves. *Lasers Surg Med*, 21(2):142–148, 1997.
- [174] R. Orchardson, J. M. Peacock, and C. J. Whitters. Effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in nerve fibres inside teeth in vitro. J Dent, 26(5–6):421–426, Jul-Aug 1998.
- [175] R. Orchardson and C. J. Whitters. Effect of HeNe and pulsed Nd:YAG laser irradiation on intradental nerve responses to mechanical stimulation of dentine. *Lasers Surg Med*, 26(3):241–249, 2000.
- [176] A. F. Paghdiwala. Root resection of endodontically treated teeth by erbium: YAG laser radiation. J Endod, 19(2):91–94, February 1993.
- [177] D. H. Pashley. Smear layer: overview of structure and function. Proc Finn Dent Soc, 88 Suppl 1:215–224, 1992.

- [178] E. L. Pashley, N. L. Birdsong, K. Bowman, and D. H. Pashley. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. J Endod, 11(12):525–528, December 1985.
- [179] S. Peck and H. Peck. Laser radiation: some specific dental effects and an evaluation of its potential in dentistry. J Prosthet Dent, 17(2):195–203, February 1967.
- [180] J. D. Pecora, A. Brugnera-Junior, A. L. Cussioli, F. Zanin, and R. Silva. Evaluation of dentin root canal permeability after instrumentation and Er:YAG laser application. *Lasers Surg Med*, 26(3):277–281, 2000.
- [181] R. M. Pick and M. D. Colvard. Current status of lasers in soft tissue dental surgery. J Periodontol, 64(7):589–602, July 1993.
- [182] R. Pini, R. Salimbeni, M. Vannini, R. Barone, and C. Clauser. Laser dentistry: a new application of excimer laser in root canal therapy. *Lasers Surg Med*, 9(4):352–357, 1989.
- [183] R. Pini, R. Salimbeni, M. Vannini, S. Cavalieri, R. Barone, and C. Clauser. Laser dentistry: root canal diagnostic technique based on ultraviolet-induced fluorescence spectroscopy. *Lasers Surg Med*, 9(4):358–361, 1989.
- [184] T. V. Potts and A. Petrou. Laser photopolymerization of dental materials with potential endodontic applications. J Endod, 16(6):265–268, June 1990.
- [185] T. V. Potts and A. Petrou. Argon laser initiated resin photopolymerization for the filling of root canals in human teeth. *Lasers Surg Med*, 11(3):257–262, 1991.
- [186] G. L. Powell, T. H. Morton, and B. K. Whisenant. Argon laser oral safety parameters for teeth. *Lasers Surg Med*, 13(5):548–552, 1993.
- [187] G. L. Powell and B. K. Whisenant. Comparison of three lasers for dental instrument sterilization. Lasers Surg Med, 11(1):69–71, 1991.
- [188] G. L. Powell, B. K. Whisenant, and T. H. Morton. Carbon dioxide laser oral safety parameters for teeth. *Lasers Surg Med*, 10(4):389–392, 1990.
- [189] W. H. Raab. Laser Doppler Flowmetry: microcirculatory studies in the dental pulp. Dtsch Zahnärztl Z, 44(3):198–200, March 1989.
- [190] W. H. Raab and H. Müller. Temperature-dependent changes in the microcirculation of the dental pulp. Dtsch Zahnärztl Z, 44(7):496–497, July 1989.
- [191] M. Radvar, S. L. Creanor, W. H. Gilmour, A. P. Payne, J. McGadey, R. H. Foye, C. J. Whitters, and D. F. Kinane. An evaluation of the effects of an Nd:YAG laser on subgingival calculus, dentine and cementum. an in vitro study. J Clin Periodontol, 22(1):71–77, January 1995.
- [192] M. Radvar, T. W. MacFarlane, D. MacKenzie, C. J. Whitters, A. P. Payne, and D. F. Kinane. An evaluation of the Nd:YAG laser in periodontal pocket therapy. *Br Dent J*, 180(2):57–62, January 1996.
- [193] L. O. Ramskold, C. D. Fong, and T. Stromberg. Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser. J Endod, 23(2):96–100, February 1997.
- [194] R. P. Read, J. C. Baumgartner, and S. M. Clark. Effects of a carbon dioxide laser on human root dentin. J Endod, 21(1):4–8, January 1995.

- [195] P. Renton-Harper and M. Midda. NdYAG laser treatment of dentinal hypersensitivity. Br Dent J, 172(1):13–16, January 1992.
- [196] J. P. Rocca, J. R. Jasmin, and J. P. Duprez. Removal of calcified attached denticle with a pulsed dye laser. A case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 77(3):281–284, March 1994.
- [197] T. Rodig, M. Hülsmann, M. Muhge, and F. Schäfers. Quality of preparation of oval distal root canals in mandibular molars using nickel-titanium instruments. *Int Endod* J, 35(11):919–928, November 2002.
- [198] J. Rooney, M. Midda, and J. Leeming. A laboratory investigation of the bactericidal effect of a NdYAG laser. Br Dent J, 176(2):61–64, January 1994.
- [199] T. Sasano, S. Kuriwada, and D. Sanjo. Arterial blood pressure regulation of pulpal blood flow as determined by laser Doppler. J Dent Res, 68(5):791–795, May 1989.
- [200] T. Sasano, I. Nakajima, N. Shoji, S. Kuriwada, D. Sanjo, H. Ogino, and T. Miyahara. Possible application of transmitted laser light for the assessment of human pulpal vitality. *Endod Dent Traumatol*, 13(2):88–91, April 1997.
- [201] W. P. Saunders, C. J. Whitters, R. Strang, H. Moseley, A. P. Payne, and J. Mc-Gadey. The effect of an Nd-YAG pulsed laser on the cleaning of the root canal and the formation of a fused apical plug. *Int Endod J*, 28(4):213–220, July 1995.
- [202] A. Scheinin and S. Kantola. Laser-induced effects of tooth structure. I. Crater production with a CO<sub>2</sub>-laser. Acta Odontol Scand, 27(2):173–179, May 1969.
- [203] Ulrich Schoop, Andreas Moritz, Wolf Kluger, Sanda Patruta, Kawe Goharkhay, Wolfgang Sperr, Johann Wernisch, Rainer Gattringer, Paulus Mrass, and Apostolos Georgopoulos. The Er:YAG laser in endodontics: results of an in vitro study. *Lasers Surg Med*, 30(5):360–364, 2002.
- [204] G. Schramm and E. Felder. Haltbarkeit von Solutio natrii hypochlorosi. *Schweiz Apoth Ztg*, 115:411, 1977.
- [205] W. Schulte, H. D. Klaus, A. Flach, and H. Geisbe. Laser effects on dental substances. Microscopic study. Dtsch Zahnärztl Z, 20:289–301, April 1965.
- [206] A. H. Schuurs, P. R. Wesselink, M. A. Eijkman, and H. J. Duivenvoorden. Dentists' views on cervical hypersensitivity and their knowledge of its treatment. *Endod Dent Traumatol*, 11(5):240–244, October 1995.
- [207] A. Senda, A. Suzaki, N. Arimoto, M. Irinoda, and A. Gomi. Effect of Er:YAG laser radiation on bovine enamel. *AADR*, page #1393, 1998.
- [208] S. Shoji, H. Hariu, and H. Horiuchi. Canal enlargement by Er:YAG laser using a cone-shaped irradiation tip. J Endod, 26(8):454–458, August 2000.
- [209] J. J. Silberman, D. N. Dederich, M. Vargas, and G. E. Denehy. SEM comparison of acid-etched, CO<sub>2</sub> laser-irradiated, and combined treatment on dentin surfaces. *Lasers Surg Med*, 15(3):269–276, 1994.
- [210] D. L. Smith, A. P. Burnett, and T. E. Gordon, Jr. Laser welding of gold alloys. J Dent Res, 51(1):161–167, Jan-Feb 1972.
- [211] A. Stabholz, J. Kettering, J. Neev, and M. Torabinejad. Effects of the XeCl excimer laser on Streptococcus mutans. J Endod, 19(5):232–235, May 1993.

- [212] A. Stabholz, A. Khayat, S. H. Ravanshad, D. W. McCarthy, J. Neev, and M. Torabinejad. Effects of Nd:YAG laser on apical seal of teeth after apicoectomy and retrofill. *J Endod*, 18(8):371–375, August 1992.
- [213] A. Stabholz, A. Khayat, D. A. Weeks, J. Neev, and M. Torabinejad. Scanning electron microscopic study of the apical dentine surfaces lased with Nd:YAG laser following apicectomy and retrofill. *Int Endod J*, 25(6):288–291, November 1992.
- [214] A. Stabholz, J. Neev, L. H. Liaw, A. Stabholz, A. Khayat, and M. Torabinejad. Effect of ArF-193 nm excimer laser on human dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 75(1):90–94, January 1993.
- [215] A. Stabholz, J. Neev, L. H. Liaw, A. Stabholz, A. Khayat, and M. Torabinejad. Sealing of human dentinal tubules by XeCl 308-nm excimer laser. *J Endod*, 19(6):267–271, June 1993.
- [216] A. Stabholz, L. Rotstein, J. Neev, J. Moshonov, and A. Stabholz. Efficacy of XeCl 308-nm excimer laser in reducing dye penetration through coronal dentinal tubules. J Endod, 21(5):266–268, May 1995.
- [217] R. H. Stern. The potential of various lasers in caries prevention. Ann N Y Acad Sci, 168(3):642–648, February 1969.
- [218] R. H. Stern, H. L. Renger, and F. V. Howell. Laser effects on vital dental pulps. Br Dent J, 127(1):26–28, July 1969.
- [219] R. H. Stern and R. F. Sognnaes. Laser beam effect on dental hard tissues. J Dent Res, 43(Suppl. to No. 5):873, 1964.
- [220] R. H. Stern and R. F. Sognnaes. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. J Am Dent Assoc, 85(5):1087–1090, November 1972.
- [221] R. H. Stern, R. F. Sognnaes, and F. Goodman. Laser effect on in vitro enamel permeability and solubility. J Am Dent Assoc, 73(4):838–843, October 1966.
- [222] R. H. Stern, J. Vahl, and R. F. Sognnaes. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. J Dent Res, 51(2):455–460, Mar-Apr 1972.
- [223] F. Sundstrom, K. Fredriksson, S. Montan, U. Hafstrom-Bjorkman, and J. Strom. Laserinduced fluorescence from sound and carious tooth substance: spectroscopic studies. *Swed Dent J*, 9(2):71–80, 1985.
- [224] K. Takahashi, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Morphological and atomic analytical changes after CO<sub>2</sub> laser irradiation emitted at 9.3 microns on human dental hard tissues. J Clin Laser Med Surg, 16(3):167–173, June 1998.
- [225] F. H. Takeda, T. Harashima, J. N. Eto, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Effect of Er:YAG laser treatment on the root canal walls of human teeth: an SEM study. *Endod Dent Traumatol*, 14(6):270–273, December 1998.
- [226] F. H. Takeda, T. Harashima, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Comparative study about the removal of smear layer by three types of laser devices. J Clin Laser Med Surg, 16(2):117–122, April 1998.
- [227] F. H. Takeda, T. Harashima, Y. Kimura, and K. Matsumoto. Efficacy of Er:YAG laser irradiation in removing debris and smear layer on root canal walls. J Endod, 24(8):548–551, August 1998.

- [228] F. H. Takeda, T. Harashima, Y. Kimura, and K. Matsumoto. A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. *Int Endod J*, 32(1):32–39, January 1999.
- [229] S. Tateishi, S. Arima, and K. Futami. Assessment of blood flow in the small intestine by laser Doppler flowmetry: comparison of healthy small intestine and small intestine in Crohn's disease. J Gastroenterol, 32(4):457–463, August 1997.
- [230] R. Taylor, G. Shklar, and F. Roeber. The effects of laser radiation on teeth, dental pulp, and oral mucosa of experimental animals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 19:786–795, June 1965.
- [231] H. M. Tewfik, D. H. Pashley, J. A. Horner, and M. M. Sharawy. Structural and functional changes in root dentin following exposure to KTP/532 laser. J Endod, 19(10):492–497, October 1993.
- [232] L. Tronstad. Recent development in endodontic research. Scand J Dent Res, 100(1):52– 59, February 1992.
- [233] W. J. Tuckfield and R. Harris. The laser beam. Aust Dent J, 11(3):195–196, June 1966.
- [234] J. Vahl and G. Pfefferkorn. Electron optic studies of changes in the dental hard substance caused by laser irradiation. *Dtsch Zahnärztl Z*, 22(2):386–394, February 1967.
- [235] J. Versumer, M. Hülsmann, and F. Schäfers. A comparative study of root canal preparation using Profile .04 and Lightspeed rotary Ni-Ti instruments. Int Endod J, 35(1):37–46, January 2002.
- [236] S. R. Visuri, J. L. Gilbert, D. D. Wright, H. A. Wigdor, and J. T. Walsh, Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Dent Res*, 75(1):599– 605, January 1996.
- [237] S. R. Visuri, J. T. Walsh, Jr., and H. A. Wigdor. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg Med*, 18(3):294–300, 1996.
- [238] J. A. Weichman and F. M. Johnson. Laser use in endodontics. A preliminary investigation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 31(3):416–420, March 1971.
- [239] J. A. Weichman, F. M. Johnson, and L. K. Nitta. Laser use in endodontics. II. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 34(5):828–830, November 1972.
- [240] R. Weiger. Zur Wirksamkeit von Kanalspüllösungen. DGZ Stellungnahme, Lit. Umschau, 1999.
- [241] J. M. White, M. C. Fagan, and H. E. Goodis. Intrapulpal temperatures during pulsed Nd:YAG laser treatment of dentin, in vitro. J Periodontol, 65(3):255–259, March 1994.
- [242] J. M. White, H. E. Goodis, S. J. Marshall, and G. W. Marshall. Sterilization of teeth by gamma radiation. J Dent Res, 73(9):1560–1567, September 1994.
- [243] J. M. White, H. E. Goodis, J. C. Setcos, S. Eakle, B. E. Hulscher, and C. L. Rose. Effects of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth: a three-year follow-up study. J Am Dent Assoc, 124(7):45–51, July 1993.
- [244] C. J. Whitters, A. Hall, S. L. Creanor, H. Moseley, W. H. Gilmour, R. Strang, W. P. Saunders, and R. Orchardson. A clinical study of pulsed Nd:YAG laser-induced pulpal analgesia. J Dent, 23(3):145–150, June 1995.

- [245] C. J. Whitters and R. Strang. Preliminary investigation of a novel carbon dioxide laser for applications in dentistry. *Lasers Surg Med*, 26(3):262–269, 2000.
- [246] H. Wigdor, E. Abt, S. Ashrafi, and J. T. Walsh, Jr. The effect of lasers on dental hard tissues. J Am Dent Assoc, 124(2):65–70, February 1993.
- [247] H. A. Wigdor, J. T. Walsh, Jr., J. D. Featherstone, S. R. Visuri, D. Fried, and J. L. Waldvogel. Lasers in dentistry. *Lasers Surg Med*, 16(2):103–133, 1995.
- [248] P. Wilder-Smith, A. M. Arrastia, M. J. Schell, L. H. Liaw, G. Grill, and M. W. Berns. Effect of Nd:YAG laser irradiation and root planing on the root surface: structural and thermal effects. *J Periodontol*, 66(12):1032–1039, December 1995.
- [249] P. Wilder-Smith, S. Lin, A. Nguyen, L. H. Liaw, A. M. Arrastia, J. P. Lee, and M. W. Berns. Morphological effects of ArF excimer laser irradiation on enamel and dentin. *Lasers Surg Med*, 20(2):142–148, 1997.
- [250] P. Wilder-Smith, G. M. Peavy, D. Nielsen, and A. M. Arrastia-Jitosho. CO<sub>2</sub> laser treatment of traumatic pulpal exposures in dogs. *Lasers Surg Med*, 21(5):432–437, 1997.
- [251] H. Yamamoto, H. Okabe, K. Ooya, S. Hanaoka, S. Ohta, and K. Kataoka. Laser effect on vital oral tissues: a preliminary investigation. J Oral Pathol, 1(6):256–264, 1972.
- [252] H. Yamamoto and K. Ooya. Potential of yttrium-aluminum-garnet laser in caries prevention. J Oral Pathol, 3(1):7–15, 1974.
- [253] H. Yamamoto and K. Sato. Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd:YAG laser irradiation. J Dent Res, 59(2):137, February 1980.
- [254] S. F. Yang, E. M. Rivera, K. R. Baumgardner, R. E. Walton, and C. Stanford. Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *J Endod*, 21(12):613–616, December 1995.
- [255] S. F. Yang, E. M. Rivera, R. E. Walton, and K. R. Baumgardner. Canal debridement: effectiveness of sodium hypochlorite and calcium hydroxide as medicaments. *J Endod*, 22(10):521–525, October 1996.
- [256] K. L. Zakariasen, T. Boran, and R. MacDonald. The emerging role for lasers in endodontics and other areas of dentistry. *Alpha Omegan*, 83(4):65–67, 1990.
- [257] K. L. Zakariasen and D. N. Dederich. Dental lasers and science. J Can Dent Assoc, 57(7):570–573, July 1991.
- [258] K. L. Zakariasen, D. N. Dederich, J. Tulip, S. DeCoste, S. E. Jensen, and M. A. Pickard. Bactericidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. *Can J Microbiol*, 32(12):942–946, December 1986.
- [259] C. Zhang, Y. Kimura, K. Matsumoto, T. Harashima, and H. Zhou. Effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on root canal wall dentin with different laser initiators. J Endod, 24(5):352–355, May 1998.
- [260] C. Zhang, K. Matsumoto, Y. Kimura, T. Harashima, F. H. Takeda, and H. Zhou. Effects of CO<sub>2</sub> laser in treatment of cervical dentinal hypersensitivity. *J Endod*, 24(9):595–597, September 1998.

# Lebenslauf

Name: geb. am:	Babette Maria Stephan 24.12.1969 in Bottrop
Vater: geb. am: Beruf:	Michael Stephan 13.03.1937 in Beuthen Bankdirektor i. R. (Deutsche Bank Frankfurt)
Mutter: geb. am: Beruf	Dorothea Ute Stephan, geb. Lindner 27.04.1939 in Oppeln medizinisch-technische Assistentin und Hausfrau
Schwestern:	Kathrin Maria, Diplom Ingenieurin
	Dr. Sabine Maria, Diplom Volkswirtin
Juli 1976- Juni 1980	Städtische Grundschule, Bavierschule, Erkrath
August 1980- Mai 1989	Städtisches Gymnasium am Neandertal, Erkrath
	Erreichen der Allgemeine Hochschulreife (Abitur)
WS 1989/90- WS 1994/95	Studium der Zahnmedizin an der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
November 1995	Approbation als Zahnärztin
seit November 1995	wissenschaftliche Mitarbeiterin der Poliklinik für Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

# Antimikrobielle Effekte des Er:YAG-Lasers bei Anwendung im infizierten Wurzelkanal und dabei auftretende laserinduzierte, morphologische Veränderungen des Wurzelkanaldentins

### Einleitung:

Die Anwesenheit und Ausbreitung von Bakterien in Geweben und Strukturen des Wurzelkanalsystems sind ursächlich für die Entstehung entzündlicher Prozesse verantwortlich. Aufgrund der antimikrobiellen und substanzabtragenden Effekte von Dentallasern könnten diese im endodontischen Einsatz eine erfolgversprechende Alternativ- bzw. Kombinationsmaßnahme bei der Wurzelkanaltherapie darstellen.

### Ziel:

Ziel des ersten Teils unserer Arbeit war es, die antimikrobielle Wirkung des Er:YAG-Lasers nach Anwendung im infizierten Wurzelkanal zu überprüfen. Nachfolgend wurden die Wurzelkanaloberflächen rasterelektronenmikroskopisch untersucht, die Oberflächenverhältnisse qualitativ bewertet (Score 1-8) und die Ergebnisse statistisch ausgewertet (Teil II). Zusammenfassend wurde ausgehend von den Ergebnissen der beiden Teilbereiche überprüft, ob das Erreichen von Sterilität im Wurzelkanal ursächlich von dem Auftreten spezifischer Oberflächenmodifikationen abhängig ist (Teil III).

### Material & Methode:

Im ersten Teil unserer Studie wurden die Wurzelkanäle einwurzeliger, menschlicher Oberkieferfrontzähne (n=65) mit Streptokokkus oralis vom Typ H1 beimpft und mittels optischer Fasersysteme unter Verwendung unterschiedlicher Parameter (Gruppe A-D: Laserdurchgänge: 3x/6x, Kühlung der Faser: ja/nein) lasertechnisch behandelt; die Kanalinhalte wurden nach dem Bestrahlungsvorgang entnommen und mikrobiell ausgewertet. Für die morphologische Analyse der Wurzelkanaloberfläch im zweiten Teil unserer Untersuchung wurden die bestrahlten Zahnproben der Längsachse nach separiert, jede Zahnhälfte in drei Flächen aufgeteilt (koronal, mittig, apikal) und rasterelektronenmikroskopisch untersucht (n=345). Die beobachteten Oberflächenverhältnisse wurden einem zu unseren Versuchszwecken entwickelten Scoringsystem den Scores 1-8 zugeteilt und die Ergebnisse danach statistisch ausgewertet.

### Ergebnisse:

<u>*Teil I:*</u> Die Versuchsergebnisse der mikrobiellen Auswertung zeigten, dass der Er:YAG-Laser unter den von uns verwandten Parametern in der Lage war, bei allen Versuchsobjekten der vier experimentellen Gruppen sterile Bedingungen im infizierten Wurzelkanal zu erzielen.

<u>*Teil II:*</u> Bei der rasterelektronenmikroskopischen, morphologischen Auswertung der Wurzelkanaloberfächen wurden folgende Befunde beobachtet: Kategorie I: kein Lasereffekt, d.h. Vorhandensein unveränderter bzw. unbearbeiteter Kanaloberflächen (Score 1: massiver Smear-Layer); Kategorie II: dentinsäubernde Lasereffekte, d.h. Reduzierung bis maximal kompletter Abtrag des Smear-Layers (Score 2-4); Kategorie III: dentindestruierende Lasereffekte (Score 5-8), d.h. tiefe Ablationen, Karbonisierungen und Einschmelzungen des Dentins. Die obengenannten Beobachtungen zeigten, dass die intrakanaläre Anwendung des Er:YAG-Lasers nicht bei allen Proben zu einer sichtbaren Bearbeitung der Wurzelkanaloberfläche führte und die Laserapplikation nicht in der Lage war, homogene Verhältnisse zu erreichen. Bei der statistischen Auswertung unser Ergebnisse konnte jedoch gezeigt werden, dass, wenn es zu morphologischen Veränderungen des Smear-Layers oder des Dentins kam, der Grad der jeweiligen Oberfächenmodifikation (Kategorie II oder III) von der Kühlung der Faser und von der Anzahl der Laserwiederholungen abhängig war. Der Zusammenhang zwischen der angewandten Behandlungsmethode und dem Auftreten der jeweiligen Kategorie war statistisch

<u>*Teil III:*</u> Bei der Verknüpfung der oben geschilderten Versuchsergebnisse konnte festgestellt werden, dass die unterschiedlichen Ausprägungen laserinduzierter Dentinmodifikationen keinen Einfluss auf das Erreichen von Sterilität im Kanal hatten.

#### Zusammenfassung:

Der Einsatz des Er:YAG-Lasers als antimikrobielle Maßnahme bei der endodontischen Therapie kann nach den Ergebnissen unserer Studie als erfolgversprechend eingestuft werden. Bei der intrakanalären Anwendung optischer Lasersysteme sollte jedoch aufgrund der Gefahr der Überhitzung der benachbarten Gewebe unbedingt auf eine sichere Anwendung geachtet werden. Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass eine Kühlung der Laserinstrumente und ein Reduzieren der Laserbehandlungsdurchgänge die aggressiven, ablativen Nebeneffekte deutlich minimiert und das Erreichen von Sterilität im Wurzelkanal auch unter diesen Bedingungen weiterhin gewährleistet werden kann. Eine homogene Bearbeitung der Wurzelkanalwand kann nach Er:YAG-Laser-Bestrahlung jedoch nicht erzielt werden. Die strukturmorphologischen Ergebnisse zeigen, dass weder eine flächendeckende Reinigung von Dentinauflagerungen noch eine homogene Bearbeitung des Wurzelkanaldentins möglich ist. Hierfür werden die individuelle Kanalmorphologie und der am Ende der Faseroptik lediglich axial austretende Laserstrahl mit seiner limitierten Streuung verantwortlich gemacht.