

Aus der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Tübingen

Abteilung Poliklinik für Zahnerhaltung

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. Löst

Sektion Endodontologie

Leiter: Professor Dr. R. Weiger

Bestimmung des Vitalitätszustands von
Mikroorganismen im Wurzelentin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Juliana Mesquita Vidal Martínez de Lucena
aus
Manaus – Brasilien

2002

Dekan:

Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter:

Professor Dr. R. Weiger

2. Berichterstatter:

Privatdozent Dr. G. Gómez-Román

Herzlichst und in Dankbarkeit meinem Mann und meinen Kindern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	7
Teil A – Vorversuch	7
A.1. Übersicht	7
A.2. Herstellung und Vorbereitung der Wurzelsegmente	9
A.3. Infektion und Inkubation der Wurzelsegmente	10
A.4. Standardisierung des Verfahrens zur Probenentnahme	11
A.5. Hemmhoftest	12
A.6. Überprüfung der Methode zur Entfernung der Medikamente bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien	13
Teil B – Hauptversuch	14
B.1. Übersicht	14
B.2. Herstellung und Vorbereitung der Wurzelsegmente	16
B.3. Infektion der Wurzelsegmente	16
B.4. Applikation der Medikamente bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien	17
B.5. Probenentnahme	20
Teil C – Mikrobiologische Analyse der Proben	23
C.1. Übersicht	23
C.2. Bakteriengesamtzahl (BZ/ml und BZ/mg)	23
C.3. Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU/ml und CFU/mg)	24
C.4. Anteil vitaler Bakterien (%VB)	24
Teil D – Statistische Analyse	25
3. Ergebnisse	26
Teil A – Vorversuch	26
A.1. Übersicht	26
A.2. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4	26
A.3. <i>S. sanguinis</i> – Woche 8	27
A.4. <i>S. sanguinis</i> nach Calciumhydroxideinlage – Woche 12	28
A.5. <i>E. faecalis</i> – Woche 4	29
A.6. <i>E. faecalis</i> – Woche 8	30
A.7. <i>E. faecalis</i> nach Calciumhydroxideinlage – Woche 12	31
Teil B – Hauptversuch	33
B.1. Übersicht	33
B.2. <i>S. sanguinis</i> – Calciumhydroxidpaste	34
B.3. <i>S. sanguinis</i> – Guttaperchastift und AH Plus	35

B.4. <i>S. sanguinis</i> – Keramikstift	36
B.5. Zusammenfassung der Ergebnisse für <i>S. sanguinis</i>	37
B.6. <i>E. faecalis</i> – Calciumhydroxidpaste	39
B.7. <i>E. faecalis</i> – Chlorhexidingel	40
B.8. <i>E. faecalis</i> – chlorhexidinhaltiger Guttaperchastift	41
B.9. Zusammenfassung der Ergebnisse für <i>E. faecalis</i>	42
4. Diskussion	45
5. Zusammenfassung	56
6. Literaturverzeichnis	58
7. Anhang	67

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Studienmodell _____	8
Abb. 2. Schematische Darstellung des Wurzelsegments _____	10
Abb. 3. Studienmodell _____	15
Abb. 4. Schematische Darstellung des Keramikstifts _____	18
Abb. 5. Schematische Darstellung des Dentinabtrags _____	21
Abb. 6. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>S. sanguinis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp ₂) _____	35
Abb. 7. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>S. sanguinis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften und AH Plus (Dp ₂) _____	36
Abb. 8. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>S. sanguinis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach 24 Wochen Liegedauer der Keramikstifte (Dp ₂) _____	37
Abb. 9. Vergleich der Gruppen Ca(OH) ₂ , GP und KS: Anteil vitaler Bakterien (%VB) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Guttaperchastift und Keramikstift (Dp ₂) aus den mit <i>S. sanguinis</i> infizierten Wurzelsegmenten _____	38
Abb. 10. Vergleich der Gruppen Ca(OH) ₂ , GP und KS: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB= Dp ₂ – Dp ₁) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Guttaperchastift und Keramikstift aus den mit <i>S. sanguinis</i> infizierten Wurzelsegmenten _____	39
Abb. 11. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>E. faecalis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp ₂) _____	40
Abb. 12. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>E. faecalis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Gel (Dp ₂) _____	41
Abb. 13. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit <i>E. faecalis</i> infizierten Wurzelentinproben (Dp ₁) im Vergleich mit Dentinproben nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-GP-Stiften (Dp ₂) _____	42
Abb. 14. Vergleich der Gruppen Ca(OH) ₂ , CHX-Gel und CHX-GP: Anteil vitaler Bakterien (%VB) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Chlorhexidingel und chlorhexidinhaltigen Guttaperchastiften (Dp ₂) bei mit <i>E. faecalis</i> infizierten Wurzelsegmenten _____	44
Abb. 15. Vergleich der Gruppen Ca(OH) ₂ , CHX-Gel und CHX-GP: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB= Dp ₂ – Dp ₁) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Chlorhexidingel und chlorhexidinhaltigen Guttaperchastiften (Dp ₂) bei mit <i>E. faecalis</i> infizierten Wurzelsegmenten _____	44
Abb. 16. <i>S. sanguinis</i> : Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach Ca(OH) ₂ _____	68
Abb. 17. <i>S. sanguinis</i> : Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach GP-Wurzelkanalfüllung _____	68
Abb. 18. <i>E. faecalis</i> : Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach Ca(OH) ₂ _____	69
Abb. 19. <i>E. faecalis</i> : Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach CHX-GP-Stift _____	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. <i>S. sanguinis</i> – Kontroll- und Testgruppe – Anteil vitaler Bakterien (%VB) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml) nach 4 (Dp ₁) und 8 (Dp ₂) Wochen Infektion und nach Ca(OH) ₂ -Einlage (Dp ₂ *)	29
Tabelle 2. <i>E. faecalis</i> – Kontroll- und Testgruppe – Anteil vitaler Bakterien (%VB) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml) nach 4 (Dp ₁) und 8 (Dp ₂) Wochen Infektion und nach Ca(OH) ₂ -Einlage (Dp ₂ *)	32
Tabelle 3. <i>S. sanguinis</i> – Gruppen Ca(OH) ₂ , GP und KS – Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakterien-gesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 (Dp ₁) Wochen Infektion und nach Entfernung von Ca(OH) ₂ bzw. Guttaperchastifte und Keramikstifte (Dp ₂)	38
Tabelle 4. <i>E. faecalis</i> – Gruppen Ca(OH) ₂ , CHX-Gel und CHX-GP – Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 (Dp ₁) Wochen Infektion und nach Entfernung der medikamentösen Einlage (Dp ₂)	43
Tabelle 5. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)	70
Tabelle 6. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4: Differenzwerte zwischen den Proben	71
Tabelle 7. <i>S. sanguinis</i> - Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und 12 (Testgruppe): Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)	72
Tabelle 8. <i>S. sanguinis</i> - Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und 12 (Testgruppe): Differenzwerte zwischen den Proben	73
Tabelle 9. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 und 8 (Kontrollgruppe) und Woche 4, 8 und 12 (Testgruppe): Differenzwerte innerhalb den Proben	74
Tabelle 10. <i>E. faecalis</i> – Woche 4: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)	75
Tabelle 11. <i>E. faecalis</i> – Woche 4: Differenzwerte zwischen den Proben	76
Tabelle 12. <i>E. faecalis</i> – Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und Woche 12 (Testgruppe): Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)	77
Tabelle 13. <i>E. faecalis</i> – Woche 8 (Kontrollgruppe) und Woche 12 (Testgruppe): Differenzwerte zwischen den Proben	78

Tabelle 14. <i>E. faecalis</i> – Woche 4 und 8 (Kontrollgruppe) und Woche 4, 8 und 12 (Testgruppe): Differenzwerte innerhalb den Proben_____	79
Tabelle 15. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp ₂)_____	80
Tabelle 16. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp ₂)_____	80
Tabelle 17. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 24: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften (Dp ₂)_____	81
Tabelle 18. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 24: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften (Dp ₂)_____	81
Tabelle 19. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 24: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Keramikstifte (Dp ₂)_____	82
Tabelle 20. <i>S. sanguinis</i> – Woche 4 vs. Woche 24: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Keramikstifte (Dp ₂)_____	82
Tabelle 21. <i>E. faecalis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxidpaste (Dp ₂)_____	83
Tabelle 22. <i>E. faecalis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitalen Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxidpaste (Dp ₂)_____	83
Tabelle 23. <i>E. faecalis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp ₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Chlorhexidingel (Dp ₂)_____	84
Tabelle 24. <i>E. faecalis</i> – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log	

CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Chlorhexidingel (Dp₂)_____84

Tabelle 25. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Guttaperchastiften (Dp₂)__85

Tabelle 26. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Guttaperchastiften (Dp₂)_____85

Abkürzungsverzeichnis

AH Plus	Wurzelkanalfüllmaterial (Dentsply® De Trey®, Konstanz, Deutschland)
%VB	Prozentualer Anteil vitaler Bakterien
\bar{x}	Mittelwert
BZ	Bakteriengesamtzahl
Ca(OH) ₂	Calciumhydroxid
CFU	Koloniebildende Einheiten (aus der englischen Sprache: „colony forming units“)
CHX-Gel	5%iges chlorhexidindiacetathaltiges experimentelles Gel (Universitätsapotheke – Tübingen)
CHX-GP	Chlorhexidindiacetathaltiger Guttaperchastift (Activ points – Roeko, Langenau, Deutschland)
Dp ₁	Dentinprobe nach 4 Wochen Infektion
Dp ₂	Dentinprobe nach 8 Wochen Infektion im Vorversuch (Kontrollgruppe) und nach Entfernung des Medikaments oder des Wurzelkanalfüllmaterials im Hauptversuch.
Dp ₂ *	Dentinprobe nach Entfernung des Medikaments im Vorversuch (Testgruppe)
<i>E. faecalis</i> (Ef)	<i>Enterococcus faecalis</i>
GP	Guttaperchastift (Dentsply® De Trey®, Konstanz, Deutschland)
K ₁	Kanalwandprobe nach 4 Wochen Infektion im Vorversuch
K ₂	Kanalwandprobe nach 8 Wochen Infektion im Vorversuch
KI	95% Konfidenzintervall
KS	Keramikstift (aus IPS Empress® - Ivoclar AG, Schaan, Liechtenstein)
<i>S. sanguinis</i> (Ss)	<i>Streptococcus sanguinis</i>
s	Standardabweichung
S ₁	Suspensionsprobe nach 4 Wochen Infektion
S ₂	Suspensionsprobe nach 8 Wochen Infektion

1. Einleitung

Die klassische Arbeit von Kakehashi et al. (1965) belegte den ursächlichen Zusammenhang zwischen endodontischer Infektion und Entstehung periapikaler Läsionen. Primär vitale Zähne wurden bis zum Pulpakavum trepaniert; die Zugangskavitäten blieben für 28 Tage offen. Bei keimfrei gehaltenen Ratten zeigte sich eine Heilung in Form eines unvollständigen Dentinverschlusses, während sich bei konventionellen gehaltenen Ratten schon nach acht Tagen Pulpanekrosen mit apikalen Granulomen und Abszessen entwickelten.

Sundqvist (1976) untersuchte 32 menschliche Zähne, die eine nekrotische Pulpa als Folge eines Zahntraumas aufwiesen. Bakterien wurden ausschließlich in den Wurzelkanäle gefunden, die mit einer periapikalen Parodontitis assoziiert waren. Nair (1987) und Nair et al. (1990) analysierten histologisch das apikale Drittel menschlicher Zahnwurzeln mit assoziierten periapikalen Läsionen. Mikroorganismen wurden sowohl im Wurzelkanal als auch im Inneren der Läsionen identifiziert. Diese Untersuchungen bestätigten die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung periapikaler Läsionen.

Ein wesentliches Ziel der Wurzelkanalbehandlung ist deswegen die möglichst vollständige Desinfektion des Wurzelkanalsystems. Dazu gehören die Entfernung von infiziertem Pulpagewebe durch ausreichende Spülung mit einer geeigneten Spüllösung (z. B. Natriumhypochlorit) sowie die Bearbeitung infizierter Wurzelkanalwandareale mit Handinstrumenten oder maschinen getriebenen Instrumenten (Weiger und Löst, 1993).

Die Erfolgsrate von Wurzelkanalbehandlungen bei Zähnen mit infiziertem Endodont und periapikaler Parodontitis liegt im Bereich von 46 bis 95% (Weiger et al., 1998a); die Mehrzahl dieser Arbeiten gibt eine Erfolgsquote von über 80% an. Die Wahrscheinlichkeit, daß eine apikale Läsion innerhalb von 5 Jahren nach endodontischer Behandlung vollständig ausheilt, liegt bei ungefähr 90% (Weiger et al. 2000). Die zum Teil erheblich differierende Ergebnisse lassen sich auf eine Vielzahl prä-, peri- und postoperativen Variablen, die in den einzelnen Studien unterschiedlich ausfallen oder nicht genannt sind, zurückführen. Auch ist die statistische Aufarbeitung der erhobenen Daten zumeist kritikwürdig (Weiger et al. 1998a).

Ursachen fehlgeschlagener Wurzelkanalbehandlungen

In der Mehrheit der Fälle lassen sich endodontischer Misserfolge auf Überinstrumentierung, Wurzelkanalüberfüllung und undichte Wurzelkanalfüllung sowie Sekundärkaries zurückführen. Trotzdem kann es unabhängig von der Qualität einer Wurzelkanalbehandlung zum Mißerfolg kommen.

Grundsätzlich lassen sich in mikrobielle und nicht-mikrobielle Ursachen für therapieresistente periapikale Parodontitiden unterscheiden (Siqueira Jr. 2001):

I – Mikrobielle Faktoren:

Intrakanaläre Infektion:

- a) Unzureichende Keimzahlreduktion im Wurzelkanalsystem.
- b) Persistenz bestimmter Bakterienarten und Pilze im Wurzelkanalsystem.

Extraradikuläre Infektion:

- a) Persistenz von Mikroorganismen und Pilze außerhalb des Zahnwurzels.

II – Nicht-mikrobielle Faktoren:

- a) Ausbildung einer wahren apikalen Zyste („true apical cyst“).
- b) Fremdkörperreaktion nach Überpressen von Wurzelfüllmaterialien in den Periapex.
- c) Wurzellängsfraktur.

Mikrobielle Faktoren sind häufig die Hauptursache für das Scheitern einer Wurzelkanalbehandlung. Eine persistierende intrakanaläre mikrobielle Besiedlung geht häufig von Mikroorganismen aus, die die Desinfektionsmaßnahmen während der Wurzelkanalbehandlung überlebt haben. Das kann in komplexen anatomischen Verhältnissen und/oder Limitierungen konventioneller Verfahren zur Wurzelkanalaufbereitung begründet liegen unabhängig von Aufbereitungstechnik und –instrumentarium (Lin et al. 1991, Siqueira Jr. et al. 1997). Mit dem Verbleib von Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem, die scheinbar gegen Spüllösungen und Medikamente resistent sind, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass eine Wurzelkanalbehandlung scheitert. *Enterococcus faecalis* und *Candida albicans* spielen in diesem Zusammenhang eine Schlüsselrolle (Molander et al. 1998, Sirén et al. 1997, Waltimo et al. 1999). Gelangen Mikroorganismen in den extraradikulären Raum

(Kakehashi et al., 1965, Sundquist, 1976), so bleiben Spüllösungen und Medikamente, die im Wurzelkanal eingesetzt werden, unwirksam.

Im folgenden wird die persistierende, infolge der im Wurzelkanal und Wurzelkanaldentin verbliebenen Mikroorganismen intrakanaläre Infektion diskutiert. Auf nicht-mikrobielle Ursachen wird im folgenden aufgrund des vorgegebenen Themas nicht näher eingegangen.

Mikroorganismen im Dentin

Die Existenz von Bakterien in Dentintubuli wurde in verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen (Ando und Hoshino, 1990, Nagaoka et al., 1995, Peters et al., 2001). Auch nach adäquater Wurzelkanalbehandlung können Mikroorganismen dort zurückbleiben. Welche Rolle diese Mikroorganismen unter günstigen oder ungünstigen äußeren Bedingungen spielen, ist nach wie vor ungeklärt. Es drängt sich unter anderem die Frage auf, ob sie in der Tiefe des Wurzeldentins Bedingungen vorfinden, die ihnen ein Überleben ermöglichen.

Sen et al. (1995a) fanden rasterelektronenmikroskopisch bei zehn Molaren mit apikalen Parodontitiden Mikroorganismen in einer Tiefe von 1 bis 1,5 mm im Wurzel dentin.

Andere experimentellen Studien infizierten extrahierte Wurzeln *in vitro* mit Bakterien. Akpata und Blechman (1982) beobachteten die Penetration von vier Bakterienarten in die Dentintubuli menschlicher Zähne. Histologisch ließen sich bereits nach einer Woche *S. sanguinis* und nach zwei Wochen *E. faecalis* in Dentinkanälchen nachweisen. Obwohl diese auch in Wurzelkanalproben extrahierter infizierter Zähne angetroffen wurden, waren *B. melanogenicus* und *P. asaccharolyticus* nicht in der Lage, in Dentinkanälchen einzudringen. Auf der Basis von Rinderzähnen entwickelten Haapasalo und Ørstavik (1987) ein Studienmodell, das Auskunft über das Penetrationsverhalten von Mikroorganismen in Wurzel dentin und deren Verhalten nach kultureller Anzucht von Wurzelkanalwandproben gibt. Es zeigte sich, daß *E. faecalis* innerhalb von drei Wochen bis zu 10 mm in Dentintubuli eindringen kann. Ein ähnliches Modell nutzend beobachteten Perez et al. (1993) eine Eindringtiefe von 1,5 bis 7,9 mm bei *S. sanguinis* nach 10 und 28 Tage Inkubation der Wurzelsegmente. *A. naeslundii* und *P. intermedia* ließen sich dagegen nur auf der Wurzelkanalwand

nachweisen. Siqueira Jr. et al. (1996) führten eine ähnliche Studie mit sechs verschiedenen Bakterien durch. *P. endodontalis*, *F. nucleatum*, *A. israelii*, *P. gingivalis*, *P. acnes* und *E. faecalis* wurden in unterschiedlichem Ausmaß im Wurzelkanaldentin angetroffen. *E. faecalis*, *P. acnes* und *A. israelii* besiedelten Wurzelkanalwand und Dentintubuli im größeren Ausmaß als die andere untersuchten Bakterienkeime.

Aus diesen Arbeiten ergibt sich, daß sich viele Bakterienarten lediglich im Wurzelkanal aufhalten und durch die Instrumentierung des Wurzelkanals entfernen lassen. Auf der anderen Seite dringen bestimmte Mikroorganismen in Dentinkanälchen des Wurzeldentins ein und werden von Spüllösungen o.ä. nicht erfaßt.

Vitalitätszustand der im Dentin verbliebenen Mikroorganismen

Ørstavik und Haapasalo (1990) überprüften den Vitalitätszustand von vier Bakterienspezies, die im Wurzelkanaldentin von Rinderzähnen nach Inkubation und Entzug von Substrat angetroffen wurden. *E. faecalis* erwies sich selbst nach 7 Tage noch als anzüchtbar, während die anderen Keime nur einige Stunden teilungsaktiv blieben. Das heißt, einige Mikroorganismen waren in der Lage, unter eingeschränkten äußeren Bedingungen zu überleben.

Ob solche Mikroorganismen in der Lage sind, den Heilungsprozess einer bestehenden apikalen Parodontitis nach Wurzelkanalbehandlung zu beeinflussen oder nachträglich eine derartige Läsion zu induzieren, kann nach dem heutigen Wissenstand nicht zufriedenstellend beantwortet werden.

Peters et al. (1995) nannten die möglichen Ursachen für das Scheitern einer Wurzelkanalbehandlung. Nach deren Auffassung erscheint es unwahrscheinlich, dass nach Wurzelkanalbehandlung in Dentintubuli verbliebene Mikroorganismen in ausreichender Anzahl überleben und eine periapikale Entzündung unterhalten oder induzieren. Für Siqueira Jr. (2001) sind Mikroorganismen sowohl bei unbefriedigend als auch bei adäquat endodontisch behandelten Zähnen die häufigste Ursache von Mißerfolgen. Die Frage, ob die in den Dentintubuli zurückgebliebenen Bakterien nach Wurzelkanalbehandlung grundsätzlich überlebensfähig sind, bleibt bestehen. Auch könnten in den Dentintubuli verbliebene Zellmembranreste toter Bakterien, aus immunologischer Sicht, Einfluß auf den Heilungsprozeß periapikaler Läsionen ausüben.

Die Mehrzahl der Untersuchungen evaluieren die Teilungsaktivität von Mikroorganismen nach konventioneller kultureller Anzucht durch Bestimmung der Zahl koloniebildender Einheiten *in vitro* nach einer bestimmten Kontaktzeit mit Medikamenten oder Spüllösungen. Auf der anderen Seite ist aus mikrobiologischen Studien bekannt, dass Bakterien unter Stressbedingungen vital bleiben trotz reduzierter oder fehlender Teilungsaktivität (Mason et al., 1986, Kaprelyants et al., 1993, Oliver, 1995). Deswegen stellt sich die Frage nach dem Vitalitätszustand von Bakterienzellen in Dentinkanälchen unabhängig von ihrer Teilungsaktivität.

Die Schwierigkeit bei der Etablierung optimaler Wachstumsbedingungen in der Anzucht und die Ungenauigkeit von Messungen zur bakterieller Stoffwechselaktivität, bei der u. U. auch bereits stark geschädigte Bakterien noch erfasst werden, lassen die Ermittlung der Zellmembranintegrität als geeigneterer Parameter bakterieller Vitalität erscheinen. Direkte Methoden zur Bestimmung des bakteriellen Vitalitätszustand gewannen in letzter Zeit an Bedeutung. Durch Einsatz verschiedener fluoreszierender Farbstoffe ließen sich vier physiologische Wachstumsstadien bakterieller Zellen unterscheiden: vital und anzüchtbar; vital mit Stoffwechselaktivität; nicht nachweisbare Stoffwechselaktivität mit noch intakter Zellmembran; und avital mit beschädigter Zellmembran (Nebe-von Caron et al., 1998).

Eine Farbstoffkombination, Syto 9 und Propidiumjodid, wurde kürzlich eingeführt, wodurch vitale und avitale Bakterien auf Grund ihrer Zellmembranintegrität differenziert werden können (Decker, 2001). Diese Farbstoffe wurden mit weiteren fünf Farbstoffkombinationen verglichen. Dabei wurde Teilungsaktivität in Form von koloniebildenden Einheiten, optische Dichte und Bakteriengesamtzahl als zusätzliche Parameter der Vitalitätsprozentzahl gegenübergestellt. Die Kombination Syto 9/Propidiumjodid zeigte eine bessere Korrelation zwischen Vitalitätsprozentzahl und Anzahl koloniebildender Einheiten in der Wachstumskurve von *S. sanguinis* und *S. mutans* als die stoffwechselbasierten Farbstoffe. Syto 9 penetriert nur Zellen mit intakten Membranen und fluoresziert grün. Propidiumjodid wird erst nach Entstehung von Zellmembranschaden in die Zelle aufgenommen und fluoresziert rot. Beide lassen eine eindeutige Differenzierung vitaler und avitaler Bakterienzellen mit höchste Auflösung ohne Interferenz von Hintergrundfluoreszenz zu. Die Farbstoffkombination Syto 9/Propidiumjodid wurde darüber hinaus im Rahmen anderer für die Zahnmedizin

vielversprechend mikrobiologischer Fragestellungen mit Erfolg eingesetzt (Weiger et al., 1999, Decker, 2001, Weiger et al., 2002).

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Ziel konzipiert, den Vitalitätszustand von im Wurzeldentin verbliebenen Bakterien nach Applikation von medikamentösen Einlagen bzw. nach Wurzelkanalfüllung zu charakterisieren. Hierzu sollten menschliche Zähne – im Gegensatz zum Modell von Haapasalo und Ørstavik (1987) – verwendet werden. Zur Bestimmung des Lebend-/Totanteils sollte die Fluoreszenzfärbung eingeführt und dieser als Maß für den Vitalitätszustand von Mikroorganismen mit den Ergebnissen klassischer Kultivierungsmethoden verglichen werden.

2. Material und Methoden

Teil A – Vorversuch

A.1. Übersicht

Es wurde ein Studienmodell entworfen, dass Bakterien aus einer Suspension erlaubt, in Dentinkanälchen von vorbereiteten Zahnwurzelsegmenten einzudringen. Die Wurzelsegmente wurden über einen Zeitraum von insgesamt acht Wochen inkubiert. Als Bakterien wurden *Streptococcus sanguinis* und *Enterococcus faecalis* verwendet. Die 24 Wurzelsegmente wurden jeweils zwei Kontrollgruppen und zwei Testgruppen zugeordnet. In der Testgruppe wurde Calciumhydroxidpaste in den Wurzelkanal eingebracht und für vier Wochen belassen. Über den Zeitpunkt der Entnahme von Dentinproben und den schematischen Versuchsaufbau geben die Abbildungen 1 und 2 Auskunft.

Im Sinne einer Erweiterung des Versuchsaufbaus und Optimierung des Versuchsablaufs wurden – vor dem Anfang des Hauptversuchs – die Auswirkung weiterer Substanzen und Wurzelkanalfüllmaterialien gegenüber *S. sanguinis* und *E. faecalis* getestet (s. S. 12 - A. 5) sowie die Entfernbarkeit dieser aus dem Wurzelkanal überprüft (s. S. 13 - A. 6).

Nach Abschluß dieses Versuchsteils wurde auf Basis der gesammelten Erfahrungen der Hauptversuch geplant.

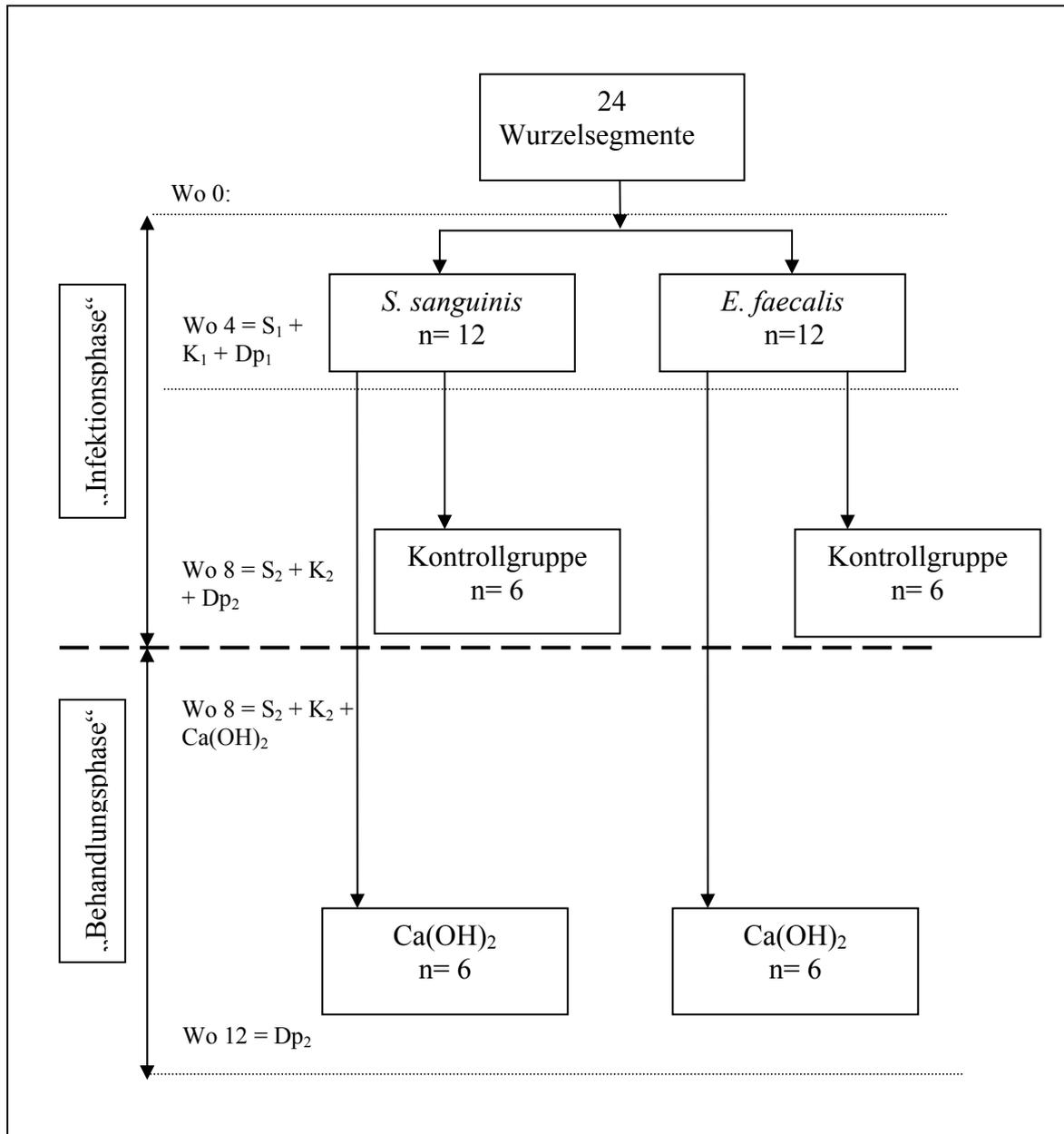


Abb. 1. Studienmodell: Die Studie teilte sich in zwei Hauptphasen: die „Infections“- und die „Behandlungsphase“. Nach vier Wochen wurden jeweils eine Suspensionsprobe (S_1), eine Probe aus dem Wurzelkanal (K_1) und eine Dentinprobe von jedem Wurzelsegment (Dp_1) entnommen. Am Ende der „Infectionsphase“ (Wo 8) wurden die Wurzelsegmente den Kontroll- und Testgruppen zugeteilt. In der Kontrollgruppe wurden in der Wo 8 die Proben $S_2 + K_2 + Dp_2$ entnommen. In der Testgruppe wurde auf die Entnahme einer Dentinprobe verzichtet und anstatt dessen Calciumhydroxidpaste in den Wurzelkanal appliziert. Die abschließende Dentinprobe der Testgruppe wurde in Woche 12 entnommen (Wo 12: Dp_2). (n = Anzahl der Wurzelsegmente)

A.2. Herstellung und Vorbereitung der Wurzelsegmente

Es wurden 24 gerade Wurzeln von Zähnen ausgewählt, die aus parodontalen oder kieferorthopädischen Gründen entfernt worden waren. Voraussetzung war, dass die Zähne keiner vorherigen Wurzelkanalbehandlung unterzogen wurden. Die Zähne lagerten in Wasserstoffperoxid (3%) für höchstens drei Monate. Nachdem die Weichgewebsreste mit einem Skalpell entfernt worden waren, wurden die Wurzeln unterhalb von der Schmelz-Zement-Grenze abgetrennt und die Wurzelspitze so abgetragen, dass ein Segment mit einer Länge von 6 bis 7mm zurückblieb (Abb. 2).

Der Wurzelkanal jedes Segments wurde mit Hedström Feilen bis #60 unter zirkumferenter Bearbeitung der Wurzelkanalwände aufbereitet. In Einzelfällen wurde er - je nach Größe des ursprünglichen Wurzelkanals - weiter aufbereitet. Als Spüllösung wurde sterile Kochsalzlösung verwendet. Zur Entfernung der Schmierschicht wurde Phosphorsäuregel (37%) in den Wurzelkanal eingegeben und nach 30s mit Kochsalzlösung ausgespült.

Im Autoklav wurden die Probekörper bei 121°C für 20 Minuten sterilisiert. Aus der ersten Vorversuchen ergab sich, dass zur ausreichenden Sterilisation es zweckmäßig war, während des Sterilisationsvorgangs eine Feile im Wurzelkanal zu belassen. Offensichtlich begünstigt dies die Fortleitung der Wärme in die Dentinkanälchen.

Nach der Sterilisation wurde Nagellack auf die äußeren Oberflächen des Wurzelsegmentes dünn aufgetragen, um die Penetration von Mikroorganismen und die Diffusion von Substrat von der Wurzeloberfläche in Richtung Wurzelkanal zu verhindern. Die Wurzelsegmente blieben in einem sterilen geschlossenen Glasgefäß 24 Stunden lang, damit der Nagellack trocknen konnte.

Zur Überprüfung der Sterilität wurden einzelne vorbereitete Segmente in 5ml sterile Schaedler Bouillon (BBL, Becton Dickinson, USA) eingebracht und für 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Bei allen überprüften Segmenten ließ sich nach dieser Liegezeit kein Bakterienwachstum feststellen.

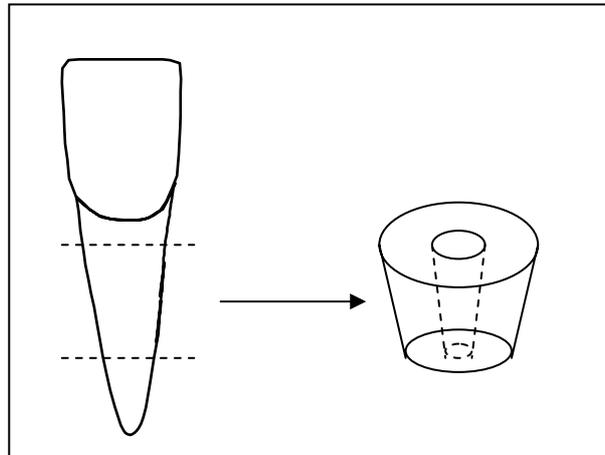


Abb. 2. Schematische Darstellung des Wurzelsegments.

A.3. Infektion und Inkubation der Wurzelsegmente

Die Wurzelsegmente wurden zwei Gruppen zugeteilt – einer Kontrollgruppe und einer Testgruppe mit jeweils zwölf Segmenten. Die Hälfte der Wurzelsegmente jeder Gruppe wurde mit *Streptococcus sanguinis* (N. 20068, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Deutschland), die andere Hälfte mit *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) infiziert (Abb. 1).

Als Inokulum wurden 200µl einer bakteriellen Suspension ($\sim 10^8$ BZ/ml) entweder mit *S. sanguinis* (n=12) oder *E. faecalis* (n=12) benutzt. Dieses Volumen wurde dem Medium zugesetzt, in dem sich das Wurzelsegment befand. Sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei der Testgruppe wurden die Wurzelsegmente in dem jeweiligen Bakterienmedium im Brutschrank bei 37°C aerob bebrütet. Nach jedem zweiten Tag wurde das Medium vorsichtig abgesaugt und durch frisches steriles Medium ersetzt. Die „Infektionsphase“ dauerte für Kontroll- und Testgruppe acht Wochen.

Nach der ersten Probenentnahme (Woche 4) wurden die Wurzelsegmente wieder in frisches Medium eingelegt, dem 200µl bakterielle Suspension zugesetzt wurde, und für weitere vier Wochen inkubiert. Der Mediumwechsel erfolgte wie oben beschrieben.

A.4. Standardisierung des Verfahrens zur Probenentnahme

In beiden Gruppen wurden nach vier Wochen drei Proben pro Wurzelsegment entnommen: aus der umgebenden Suspension (S_1), aus dem Wurzelkanal (K_1) und vom Wurzelkanalwanddentin (Dp_1).

In der Kontrollgruppe wurden nach acht Wochen die gleichen Proben (S_2 , K_2 und Dp_2) entnommen.

In der Testgruppe wurde nach acht Wochen jedoch keine Dentinprobe entnommen. Statt dessen wurde Calciumhydroxidpaste im Verhältnis 1:1 (Pulver/Aqua dest.) gemischt und in den Wurzelkanal jedes Wurzelsegmentes mit Papierspitzen appliziert. Jedes Wurzelsegment wurde in feuchte Gaze eingewickelt und in einem sterilen Teströhrchen gelegt. Die Röhrchen wurden im Brutschrank bei 37°C für weitere vier Wochen aufbewahrt. Nach 12 Wochen wurde die $Ca(OH)_2$ -Paste entfernt und die Dentinproben (Dp_2) entnommen

Die Proben wurden wie folgend entnommen:

Suspensionsprobe - Woche 4 (S_1) und 8 (S_2):

Aus der umgebenden Suspension wurden nach vier und acht Wochen 1ml entnommen und weiter bearbeitet.

Wurzelkanalprobe - Woche 4 (K_1) und 8 (K_2):

Kochsalzlösung (1ml) wurde mit einer Insulinspritze durch den Wurzelkanal gespült und in einem Eppendorffgefäß aufgefangen. Zwei sterile Papierspitzen wurden zum Trocknen des Wurzelkanals benutzt, in das mit Kochsalzlösung gefüllte Eppendorffgefäß überführt und dieses auf dem Vortex (10s) geschüttelt. Danach wurden die Papierspitzen entfernt und die Probe weiter bearbeitet.

Wurzelkanaldentinprobe - Woche 4 (Dp_1) und 8 (Dp_2) in der Kontrollgruppe; Woche 4 (Dp_1) und 12 (Dp_2^*) in der Testgruppe:

Das Wurzelkanaldentin wurde mit Hedström Feilen #25 zirkumferent abgetragen und die Dentinspäne mit 1ml Schaedler Bouillon in einem Eppendorffgefäß aufgefangen. Der Wurzelkanal wurde mit zwei Papierspitzen getrocknet, die zusammen

mit den zuvor benutzten Feilen in das Eppendorffgefäß eingebracht und auf dem Vortex (10s) geschüttelt wurden. Dann wurden die Papierspitzen und Feilen aus dem Eppendorffgefäß entnommen und die Probe weiter bearbeitet.

Die mikrobiologische Aufbereitung der Proben wird detailliert im Teil C dieses Kapitels beschrieben (s. S. 23).

A.5. Hemmhofstest

Im Sinne der Erweiterung dieses Studienmodells wurde geplant, im folgenden Hauptversuch weitere Medikamente und Wurzelkanalfüllmaterialien einzusetzen. Hierbei sollte die Diffusion der getesteten Substanzen bzw. Kontakt mit den Materialien eine Reaktion von *S. sanguinis* und *E. faecalis* im Form eines Hemmhofs hervorrufen.

S. sanguinis:

Calciumhydroxidpaste (1:1 Pulver/Aqua dest.), Guttaperchastifte, AH Plus (Dentsply® De Trey®, Konstanz, Deutschland) und individuell gefertigte Keramikstifte (IPS Empress® - Ivoclar AG, Schaan, Liechtenstein) wurden auf Blutagarplatten appliziert, die bereits mit 40µl einer 10⁷ BZ/ml *S. sanguinis* enthaltenden Suspension ausgespattelt worden waren. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37°C wurden die Platten auf Hemmhofbildung und Größe des Hemmhofs analysiert.

E. faecalis:

Auf den mit *E. faecalis* (10⁷ BZ/ml) beimpften Platten wurden Calciumhydroxidpaste, Chlorhexidingel (5% chlorhexidindigluconathaltiges, in der Universitätsapotheke angefertigtes experimentelles Gel) und chlorhexidinhaltige Guttaperchastifte (Activ points – Roeko, Langenau, Deutschland) appliziert und auf Hemmhofbildung und Größe des Hemmhofs analysiert.

A.6. Überprüfung der Methode zur Entfernung der Medikamente bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien

Eine ähnliche Methode wie zur Entfernung von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Paste im Vorversuch wurde zur Entfernung von Guttaperchastiften und AH Plus verwendet, die als Wurzelfüllmaterialien im folgenden Hauptversuch eingesetzt wurden. Dies wird folgend beschrieben sowie die Überprüfung der Wurzelkanalwände auf Füllungsreste.

Wurzelsegmente wurden wie beschrieben aufbereitet und der präparierte Wurzelkanal mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Paste oder Wurzelkanalfüllmaterial – lateral kondensierte Guttaperchastiften mit AH Plus (Dentsply® De Trey®, Konstanz, Deutschland) als Sealer – aufgefüllt. Nach einer Woche Liegezeit wurde das jeweilige Material aus dem Wurzelkanal entfernt. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Paste wurde mit Kochsalzlösung (10 ml) mit einer Spritze mit dünner Kanüle ausgespült und der Wurzelkanal mit zwei Papierspitzen getrocknet. Die Guttaperchastifte wurden mit Hilfe einer Hedström Feile (#25) aus dem Wurzelkanal entfernt; der Sealer wurde durch zirkumferentes Feilen der Kanalwände unter geringem Druck vorsichtig abgetragen. Anschließend wurde die Reste von Wurzelkanalfüllmaterial aus dem Wurzelkanal mit Kochsalzlösung ausgespült. Die Wurzelsegmente wurden in der Länge halbiert und unter dem Makroskop (Wild Makroskop M420, Leica, Germany) auf Medikamentenrückstände bzw. Füllungsreste untersucht.

Teil B – Hauptversuch

B.1. Übersicht

Der im Detail optimierte Studienaufbau (Abb. 3) basierte auf dem auf S. 8 beschriebenen. Insgesamt wurden 60 Wurzelsegmente sechs Gruppen zugeordnet. Im Fall von *S. sanguinis* wurde eine Gruppe von Wurzelsegmenten mit Calciumhydroxidpaste („Ca(OH)₂“) gefüllt; zwei weitere Gruppen wurden mit Guttaperchastiften und Sealer (AH Plus) („GP“) bzw. mit Keramikstiften („KS“) als Wurzelkanalfüllmaterial versorgt. Die Liegedauer betrug in der Gruppe Ca(OH)₂ vier Wochen, die in der GP- und KS-Gruppe 24 Wochen.

Bei den mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten wurde ebenfalls Ca(OH)₂ eingesetzt. Die beiden anderen Gruppen erhielten im Sinne einer medikamentösen Wurzelkanaleinlage ein experimentelles Chlorhexidingel (5%) bzw. chlorhexidinhaltige Guttaperchastifte (5%). Die Liegedauer betrug einheitlich vier Wochen.

Änderungen bei der Vorbereitung der Wurzelsegmente, Dentinprobenentnahme und Lagerung der Wurzelsegmente nach Einbringen der Medikamente bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien wurden vorgenommen und werden im folgenden Kapitel näher beschrieben.

Bei der Dentinprobenentnahme wurde die Gewichtsbestimmung einzelner Dentinproben durchgeführt. Die Parameter BZ und CFU wurden für die Dentinproben im Hauptversuch auf das Gewicht bezogen (BZ/mg und CFU/mg) und wird detaillierter im Teil C (s. S. 23) beschrieben.

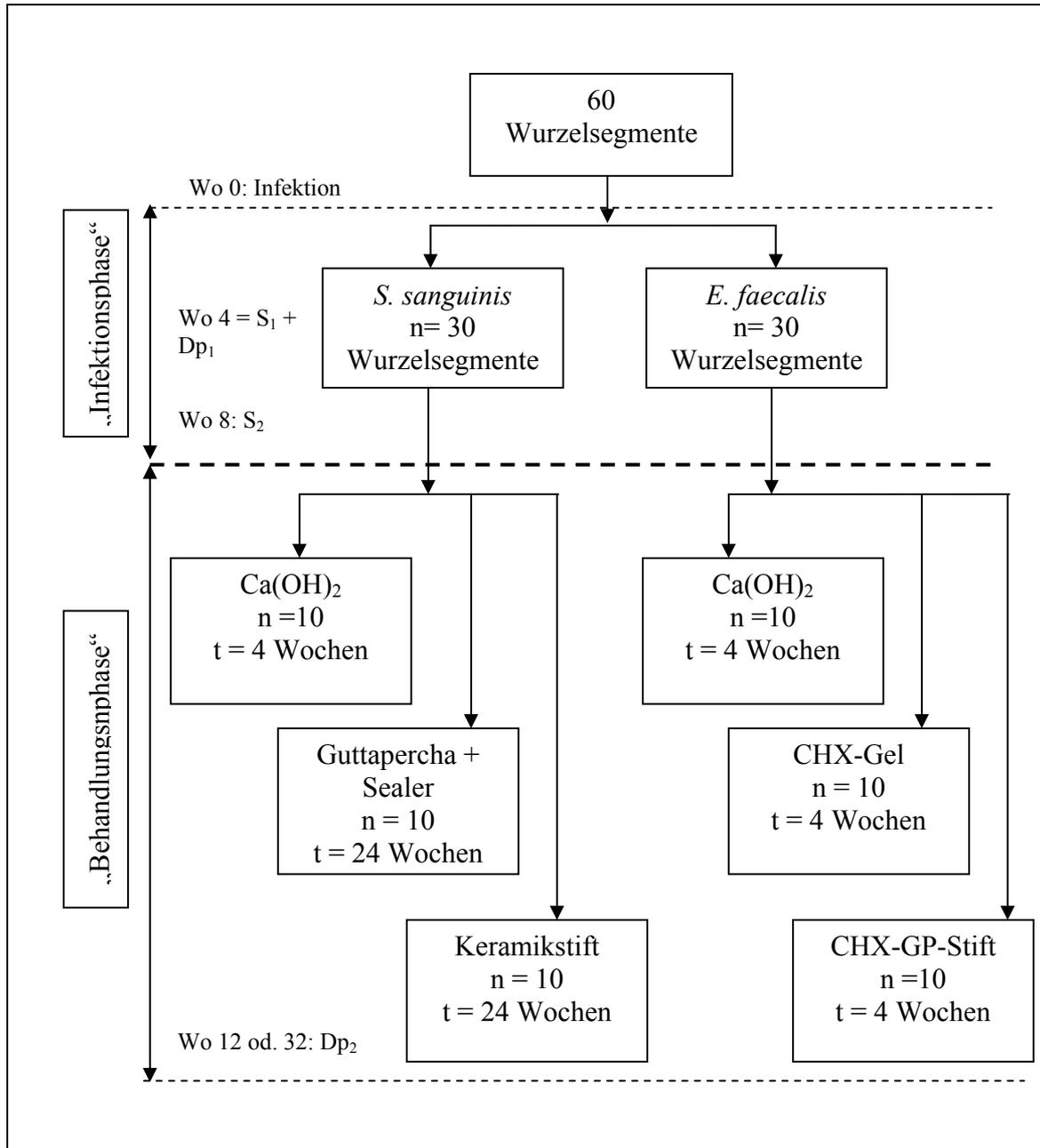


Abb. 3. Studienmodell. Die Studie teilte sich in „Infectionsphase“ und „Behandlungsphase“. Während der Infectionsphase wurden in der vierten Woche Suspensionsproben und Dentinproben (Wo 4: $S_1 + Dp_1$) entnommen. Am Ende dieser Phase (Wo 8: S_2) erfolgte die zweite Probeentnahme aus der Suspension. Die Dentinprobe (Wo 12 od. 32: Dp_2) wurde am Ende der „Behandlungsphase“ entnommen. (n = Anzahl der Wurzelsegmente; t = Verweildauer des jeweiligen Füllmaterials im Wurzelkanal).

B.2. Herstellung und Vorbereitung der Wurzelsegmente

Die Anzahl der Zähne wurde auf sechzig erweitert. Kochsalzlösung (0,9%) wurde zur Lagerung der Zähne benutzt, um jede mögliche antibakterielle Wirkung zu verhindern.

Der ursprüngliche Durchmesser des Wurzelkanals wurde bei der Wurzelkanalaufbereitung berücksichtigt; die zirkumferente Wurzelkanalwandbearbeitung erfolgte bis maximal #80. Der Nagellack wurde vor der Sterilisation auf die äußeren Oberflächen der Wurzelsegmente aufgebracht.

Die Wurzelsegmente wurden auf Sterilität überprüft, indem man diese in 5ml steriles flüssiges Schaedler-Medium (BBL, Becton Dickinson, USA) für 24 Stunden bei 37° C inkubierte. Bei allen Wurzelsegmenten ließ sich kein Wachstum nachweisen.

B.3. Infektion der Wurzelsegmente

Die Wurzelsegmente wurden zwei Gruppen zugeteilt. Dreißig Wurzelsegmente wurden mit *Streptococcus sanguinis* (N. 20068, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Deutschland) infiziert und 30 weitere Wurzelsegmente mit *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Das Vorgehen bei Inokulation, Inkubation und Mediumwechsel blieb unverändert (s. S. 10).

Nach vier Wochen Infektion wurden Proben aus der umgebenden Suspension (S₁) und aus dem infizierten Wurzelkanalentin (Dp₁) entnommen. Nach dieser Prozedur wurde die Schmierschicht wiederum mit Phosphorsäuregel (37%) entfernt und die Wurzelsegmente in frische Schaedler Bouillon überführt und mit 200µl des jeweiligen Inokulums überimpft. Der Mediumwechsel erfolgte wiederum alle zwei Tage über einen Zeitraum von weiteren vier Wochen (Woche 5 bis 8).

Nach acht Wochen wurde die Suspension wieder analysiert und die Wurzelsegmente entweder mit einer medikamentösen Einlage oder mit einem Wurzelkanalfüllmaterial versehen.

B.4. Applikation der Medikamente bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien

Nach Woche 8 wurden die Wurzelsegmente aus dem flüssigen Medium entnommen, die Wurzelkanäle mit Kochsalzlösung (1ml, 0,9%) durchgespült und die Wurzelkanalwände mit zwei sterilen Papierspitzen getrocknet.

Die mit *S. sanguinis* bzw. *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmente wurden in weitere drei Gruppen unterteilt. Im Fall von *S. sanguinis* wurden die Wurzelsegmente wie folgt versorgt: Calciumhydroxidpaste (n = 10), Keramikstift ohne Sealer (n = 10) oder lateral kondensierten Guttaperchastifte mit AH Plus als Sealer (n = 10). Die Wurzelsegmente, die mit *E. faecalis* infiziert wurden, wurden mit einer medikamentösen Einlage versehen: Calciumhydroxidpaste (n = 10), Chlorhexidingel (n = 10) oder chlorhexidinhaltige Guttaperchastifte (n = 10).

Nach Einbringen des Medikaments bzw. des Wurzelkanalfüllmaterials wurden die Wurzelsegmente separat in sterile Tissue-Cassetten (Tissue-Tek III, Miles Laboratories– Ames Division, Elkhardt, Indiana, USA) eingebracht und – von Watteröllchen umgeben – in eine sterile Petri Schale gelegt. Sterile Kochsalzlösung (10ml) wurde auf die Watteröllchen gegeben und die so vorbereitete Schale steril eingeschweißt. Wöchentlich wurden bei Bedarf weitere Kochsalzlösung (10ml) zugegeben.

Calciumhydroxidpaste (Ca(OH)₂)

Zur Standardisierung der Calciumhydroxidpaste wurden verschiedene Mengen von Pulver und Aqua dest gemischt. Aus den verschiedenen Mischungen wurde diejenige in den Wurzelkanal eingebracht, die die passende Konsistenz und einen hohen pH-Wert aufwies. Eine günstigste Konsistenz der Paste ergab sich bei einem Mischungsverhältnis von Pulver und Aqua dest von 1:1. Die so zubereitete Paste hatte einen pH-Wert zwischen 12,8 und 13,0.

Die Ca(OH)₂-Paste wurde mit Hilfe eines kleinen Zementstopfer schichtweise in den Wurzelkanal eingebracht und kondensiert, bis die Paste aus der apikalen Öffnung des Wurzelkanals austrat. Der Überschuß wurde entfernt und die apikale Öffnung mit Cavit (ESPE, Seefeld, Deutschland) versiegelt. Von koronal wurden weitere Portionen der Paste in den Wurzelkanal eingebracht und kondensiert, bis der Wurzelkanal

schließlich vollständig gefüllt war. Die koronale Öffnung wurde ebenfalls mit Cavit verschlossen. Zur Überprüfung auf Vollständigkeit wurden Röntgenbilder (Parallel-Technik) von jedem Wurzelsegment angefertigt. Die Wurzelsegmente wurden wie auf S. 17 beschrieben vorbereitet und für weitere vier Wochen bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt.

Keramikstift (KS)

Zur Versorgung der vorgesehenen zehn mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente, wurden Keramikstifte in verschiedenen Größen angefertigt (Abb. 4). Hierzu dienten Guttaperchastifte #70 bis #110 als Modell für die Herstellung passgenauer Keramikstifte. In dem weitgehend normiert präparierten Wurzelkanal wurde nach Entnahme aus der Suspension derjenige zuvor sterilisierte Keramikstift eingebracht, der sich als formkongruent zum Wurzelkanal erwies. Nach Applikation des Stiftes wurde dieser mit Cavit an beiden Öffnungen des Wurzelkanals fixiert und damit auch der Wurzelkanal versiegelt. Ein Sealer wurde nicht verwendet. Zur Kontrolle des Sitzes des Stiftes wurde eine Röntgenaufnahme angefertigt. Die Wurzelsegmente wurden wie auf S. 17 beschrieben vorbereitet und für 24 Wochen gelagert.

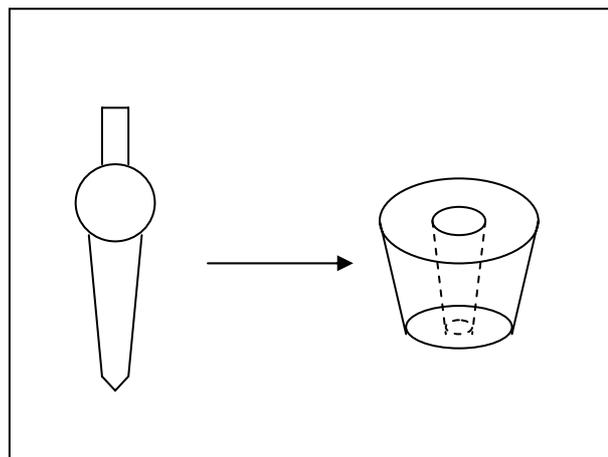


Abb. 4. Schematische Darstellung des Keramikstiftes. Sterile, individuell vorgefertigte Keramikstifte wurden in den Wurzelkanal eingepasst und koronal und apikal mit Cavit abgedichtet.

Lateral kondensierte Guttaperchastifte (GP)

Genormte Guttaperchastifte wurden durch Lateralkondensation in zehn Wurzelkanäle eingebracht, die mit *S. sanguinis* infiziert worden waren. Ein Masterpointstift wurde in der passenden Größe ausgewählt, so daß die apikale Öffnung des Wurzelsegmentes dicht verschlossen war. Als Sealer wurde AH Plus benutzt. Dieser wurde im Verhältnis 1:1 angemischt. Der Masterpointstift wurde mit Sealer dünn benetzt und in den Wurzelkanal eingesetzt bis die Spitze aus der apikalen Öffnung heraustrat und klemmte. Mit einem Fingerspreader wurde der Masterpointstift in den Wurzelkanal lateral unter mäßigem Druck kondensiert, so dass Raum für weitere dünnere genormte Guttaperchastifte entstand. Diese wurden dünn mit Sealer beschickt, bevor sie in den Wurzelkanal eingebracht wurden. Nachdem der Wurzelkanal komplett aufgefüllt worden war, wurden die überstehenden Guttaperchastifte mit einem heißen Heidemann-Spatel abgetrennt und die obere und untere Öffnung des Wurzelkanals mit Cavit verschlossen. Zur Kontrolle auf Vollständigkeit wurde eine Röntgenaufnahme angefertigt. Die Wurzelsegmente wurden wie auf S. 17 erläutert für 24 Wochen gelagert.

Chlorhexidingel (5%iges CHX-Gel)

Für die mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmente wurde ein experimentelles Chlorhexidingel (Zusammensetzung: 5ml Chlorhexidindigluconat 20%, Methocel 0,36g, Natriumchlorid 0,18g, 20ml Aqua p.i. ed) ausgewählt, das in der Universitätsapotheke angefertigt wurde. Nach Trocknung des Wurzelkanals mit Papierspitzen wurde das Gel mit einer Spritze mit dünner Kanüle kontinuierlich in den Wurzelkanal eingespritzt, bis es durch die apikale Öffnung des Wurzelsegments austrat. Das apikal austretende Gel wurde entfernt und zum Verschluss des Wurzelkanals Cavit auf die apikale Öffnung aufgetragen. Der Wurzelkanal wurde vollständig aufgefüllt und abschließend die koronale Öffnung auch mit Cavit versiegelt. Die Wurzelsegmente wurden wie auf S. 17 beschrieben für 4 Wochen gelagert.

Chlorhexidinhaltige Guttaperchastifte (CHX-GP)

Eine weitere Möglichkeit, Chlorhexidin über ein Trägermaterial in den Wurzelkanal einzubringen, erfolgte über chlorhexidindiacetathaltige Guttaperchastifte. Diese wurden in den Wurzelkanal von zehn mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten unter Berücksichtigung des apikalen Durchmessers eingebracht. Im Fall von ovalen Wurzelkanälen wurden weitere dünnere Chlorhexidinstifte (maximal 2) in den Wurzelkanal eingesetzt, bis das Wurzelkanalvolumen weitgehend ausgefüllt war. Den Herstellerempfehlungen folgend wurden die Chlorhexidinstifte in den mit steriler Kochsalzlösung befeuchteten Wurzelkanal eingesetzt, was die Freisetzung von Chlorhexidin begünstigen sollte. Die koronal überstehenden Stifte wurden mit einem heißen Heidemann-Spatel abgesetzt. Koronal und apikal wurden beide Öffnungen des Wurzelkanals mit Cavit verschlossen. Von den Wurzelsegmenten wurden Röntgenaufnahmen angefertigt und wie auf S. 17 erklärt für 4 Wochen inkubiert.

B.5. Probenentnahme

Bei jedem Wurzelsegment wurden nach vier Wochen Infektionsdauer zwei Proben entnommen: eine Probe aus der umgebenden bakteriellen Suspension und eine zweite Probe von der Wurzelkanalwand.

Nach acht Wochen Infektion wurden die Wurzelkanäle der Wurzelsegmente gespült, getrocknet und mit der medikamentösen Einlage oder dem Wurzelkanalfüllmaterial verschlossen (s. S. 17). Zu diesem Zeitpunkt wurde die Suspension erneut analysiert. Sofern keine Kontamination nachweisbar war, wurden die Wurzelsegmente in die „Behandlungsphase“ integriert.

Die zweite Dentinprobe wurde nach Entfernung der medikamentösen Einlage (Woche 12) bzw. des Wurzelkanalfüllmaterials (Woche 32) entnommen.

Suspensionsprobe - Woche 4 (S₁) und 8 (S₂):

Aus der bakteriellen Suspension, in der die Wurzelsegmente einzeln bebrütet wurden, wurde jeweils 1 ml entnommen und in ein Eppendorffgefäß überführt.

Wurzelkanaldentinprobe - Woche 4 (Dp₁):

Der flüssige Inhalt des Wurzelkanals sowie die an der Wand adhärenen Bakterien wurden mit Kochsalzlösung (1ml) und durch Säubern der Wurzelkanalwände mit Papierspitzen soweit als möglich entfernt. Anschließend wurde das Wurzelkanaldentin mit Hedström Feilen #25 zirkumferent abgetragen, bis der Durchmesser der apikalen Öffnung dem Durchmesser einer Feile entsprach, die drei ISO-Größen größer als der ursprüngliche Durchmesser des Wurzelkanals war (s. Abb. 5). Die Dentinspäne wurden im Eppendorffgefäß aufgefangen und das Nettogewicht mit einer analytischen Waage bestimmt (MC1 – Analytic AC 210P – Sartorius AG, Göttingen, Germany). Anschließend wurde jeder Probe 1ml sterile Schaedler Bouillon zugesetzt.

Nach Probenentnahme (Woche 4) wurde der Wurzelkanal mit Phosphorsäuregel (37%) angeätzt (30s), um die Schmierschicht zu entfernen. Das Gel wurde mit sterilem destilliertem Wasser ausgespült und der Wurzelkanal mit sterilen Papierspitzen getrocknet. Zuletzt wurde das Wurzelsegment in frisches steriles Medium eingebracht; das Medium wurde mit 200µl bakterieller Suspension ($\sim 10^8$ BZ/ml) angeimpft und für weitere vier Wochen inkubiert.

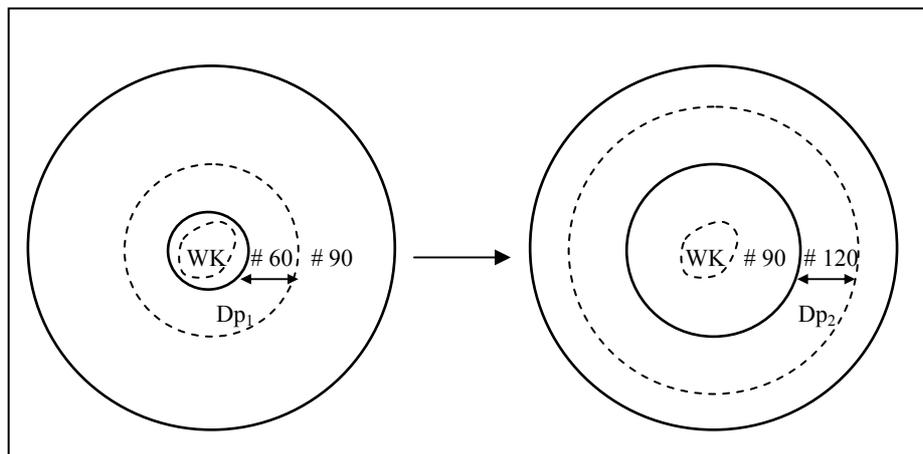


Abb. 5. Schematische Darstellung des Dentinabtrags. Die Dentinwände werden mit Hedström Feilen #25 zirkumferent bearbeitet: Dp₁ = Erste Probenentnahme: - #60 bis #90; Dp₂: Zweite Probenentnahme: #90 bis #120 (WK = Wurzelkanal).

Wurzelkanaldentinprobe - Woche 12 (Dp₂):

Am Ende der Woche 12 wurde die Ca(OH)₂-Paste, das CHX-Gel bzw. der CHX-GP-Stift aus dem Wurzelkanal entfernt. Die Ca(OH)₂-Paste und das CHX-Gel wurden mit 10ml Aqua dest ausgespült; der Wurzelkanal wurde mit sterilen Papierspitzen getrocknet. Die CHX-GP Stifte wurden mit Hilfe einer feinen Hedström Feile (z.B. #20) entfernt und die Wurzelkanalwände gespült und getrocknet.

Zur Reduktion der Substantivität von Chlorhexidin wurden die Wurzelsegmente, die mit CHX-Gel oder CHX-GP versorgt worden waren, in 1 ml einer Inaktivierungslösung (Zusammensetzung: Tween 80 3%, Cystein 0,1%, Histidin 0,1%, Saponin 3% - vorbereitet in der Tübinger Universitätsapotheke) gelegt, eine Minute auf Vortex geschüttelt und für weitere 15 Minuten gelagert. Dann wurden die Wurzelsegmente in Kochsalzlösung 1 Minute geschüttelt und der Wurzelkanal mit 10ml Kochsalzlösung gespült, um die Inaktivierungslösung zu entfernen. Der Wurzelkanal wurde mit Papierspitzen getrocknet und auf vollständige Entfernung mit Hilfe des Makroskops (Wild Makroskop M420, Leica, Germany) überprüft.

Die Dentinproben wurden in zwei Fraktionen entnommen. Die erste Feile entfernte oberflächlich „erweichtes“ Dentin, ohne großen Druck auf die Wurzelkanalwände auszuüben. Die zweite Probe wurde mit sterilen Feilen entnommen, wobei der Wurzelkanal durch zirkumferenten Dentinabtrag um drei Isogrößen erweitert wurde (s. S. 21 – Abb. 5). Beide Dentinproben wurden getrennt analysiert.

Wurzelkanaldentinprobe - Woche 32 (Dp₂):

Die Füllung mit Guttaperchastift und Sealer wurde mit Hilfe von dünnen Hedström Feilen und Spülung mit 10ml Kochsalzlösung so vollständig wie möglich entfernt; dies wurde unter dem Makroskop überprüft. Die Keramikstifte ließen sich ohne Widerstand aus dem Wurzelkanal herausziehen, da sie keine Haftung an den Kanalwänden hatten. Auch in diesen Fällen wurde der Wurzelkanal mit 10ml steriler Kochsalzlösung gespült und mit Papierspitzen getrocknet. Die Dentinproben wurden wie auf S. 21 beschrieben entnommen.

Allen Dentinproben wurde nach dem Abwiegen 1ml Schaedler Bouillon (BBL – Becton Dickinson, USA) zugefügt und homogenisiert (Vortex: 10s).

Teil C – Mikrobiologische Analyse der Proben

C.1. Übersicht

Alle Proben wurden unmittelbar nach Entnahme aufgearbeitet und analysiert. Aus den originären Proben wurden 10 µl zur Herstellung einer Verdünnungsreihe entnommen. Dies diente zur Bestimmung der Bakteriengesamtzahl (BZ) und – nach Ausplattierung auf Schaedleragar – zur Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU). Die originären Proben blieben der Vitalfärbung mit fluoreszierenden Farbstoffen vorbehalten. Diese dienten als Basis für die Bestimmung des Anteils vitaler Bakterien (%VB).

Aus den Proben Dp₂ wurden 100µl entnommen und in sterilen flüssigen Medium zugefügt. Nach 24 Stunden wurden die Flüssigkulturen auf neues Wachstum untersucht und zur Bestimmung von %VB, BZ/ml und CFU/ml bearbeitet.

Bei allen Proben des Vorversuchs sowie den Flüssigkulturproben des Hauptversuchs wurden die Parameter BZ und CFU auf das Probenvolumen (ml) bezogen. Im Hauptversuch wurden BZ und CFU auf das Gewicht (mg) der jeweiligen Dentinproben bezogen.

C.2. Bakteriengesamtzahl (BZ/ml und BZ/mg)

Eine Verdünnungsreihe 1:10 wurde von jeder Probe erstellt. 3,5µl der ersten oder zweiten Verdünnung wurden in einer Zählkammer (0,0025mm² – Neubauer) unter dem Dunkelfeldmikroskop (Ortholux II – Leitz) analysiert. Zehn Quadraten wurden ausgewertet und daraus ein Mittelwert gebildet. Dies wurde mit $1,25 \times 10^6$ multipliziert, so dass es die Bakteriengesamtzahl pro Milliliter Probenvolumen (BZ/ml) ergab. Bei den Dentinproben des Hauptversuchs wurden die BZ/ml-Werte zusätzlich durch das Gewicht der jeweiligen Probe dividiert, so dass die Bakterienzahl pro Milligramm Dentin berechnet werden konnte (BZ/mg). Abhängig von dem festgestellten BZ/ml-Wert wurde die Verdünnungsreihe erweitert, bis zu der höchsten für eine adäquate Ausplattierung erforderlichen Verdünnung. Vorversuche ergaben, dass zum Beispiel bei

10^8 BZ/ml im Fall von *E. faecalis* eine Verdünnungsreihe bis 10^{-5} auswertbare Platten lieferte, während für *S. sanguinis* eine Verdünnungsreihe bis 10^{-4} ausreichend war.

C.3. Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU/ml und CFU/mg)

20µl je aus einer der letzten drei Verdünnungen wurden mit einem Drigalskispatel gleichmäßig auf Blutagarplatten (Schaedler + 5% Schaffinblut – Becton Dickinson, USA) ausplattiert. Die Platten wurden bei 37°C anaerob (Anaerocult A – Merck, Deutschland) für 48 Stunden inkubiert. Nach Inkubation wurden die Kolonien gezählt und die Zahl koloniebildender Einheiten (CFU/ml) berechnet. Für die Dentinproben des Hauptversuchs wurde die berechnete CFU/ml-Werte zusätzlich durch das jeweilige Gewicht (in mg) jeder einzelnen Probe dividiert und als CFU/mg angegeben.

C.4. Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Zur Differenzierung zwischen vitalen und avitalen Bakterien wurde eine Farblösung erstellt, die je 1,5µl Syto 9 und Propidiumjodid (Live/Dead BacLight Viability Kit, MoBiTec, Göttingen, Germany) und 1ml destilliertes Wasser enthielt. Vor Gebrauch wurde die Farblösung homogenisiert (Vortex: 10 s) und lichtgeschützt aufbewahrt.

Die originären unverdünnten Proben (Suspension und Dentinproben) wurden für 5 Minuten zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Jeder Probe wurden 500µl Kochsalzlösung (0,9%) zugefügt; die Proben wurden für weitere 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und 300µl Farblösung zugefügt. Die Proben blieben fünfzehn Minuten in einer dunklen Kammer stehen und wurden abschließend nochmals für 5 Minuten zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstandes wurde der Probe 20µl Kochsalzlösung zugesetzt und diese gemischt. 7,5µl jeder Probe wurden auf einen Objektträger appliziert, mit einem Deckglas bedeckt und unter dem Fluoreszenzmikroskop (Axioplan 2 – Zeiss, Jena, Germany) untersucht.

Die gefärbte Proben wurden bei zwei verschiedenen Anregungen mit einer Vergrößerung von 640x analysiert. Die blaue Anregung (FITC: 450-490 nm) ergab eine grüne fluoreszierende Farbe bei vitalen Bakterien. Die grüne Anregung (Rhodamin: 540 nm) ergab eine rote fluoreszierende Farbe bei avitalen Bakterien (s. S. 68 und 69- Abb. 16 bis 19).

In der Suspensionsprobe wurde der Anteil vitaler Bakterien geschätzt. Bei der Begutachtung der Dentinproben (sowie der Wurzelkanalproben im Teil A) wurden zehn Gesichtsfelder ausgesucht und ausgewertet. Am Ende wurde die Zahl der grün und rot fluoreszierenden Bakterien in der Probe addiert und hieraus der Prozentsatz vitaler Bakterien (%VB) für die jeweilige Dentinprobe ermittelt.

Teil D – Statistische Analyse

Jede Probe jedes Wurzelsegments lieferte drei Werte: BZ, CFU und %VB. Im Fall der Dentinproben nach 12 bzw. 32 Wochen (Dp₂), bei denen zwei Fraktionen analysiert wurden, wurden Mittelwerte – für BZ, CFU und %VB - gebildet. Die Werte BZ und CFU wurden logarithmiert.

Die Mittelwerte für BZ, CFU und %VB wurden für jede Gruppe gebildet. Ebenfalls wurden die Standardabweichung und das dem Mittelwert zugeordnete 95%ige Konfidenzintervall ermittelt.

3. Ergebnisse

Teil A – Vorversuch

A.1. Übersicht

Nach Vorbereitung der Wurzelsegmente – Abtrennung des apikalen und koronalen Drittels, Applikation von Nagellack – und Sterilisation mit im Wurzelkanal eingeführter Feile lagen geeignete sterile Probekörper vor. Die Entfernung der Schmierschicht mit Phosphorsäuregel (37%) begünstigte die Penetration der Bakterien innerhalb von 4 Wochen.

Im Rahmen der Dentinprobenentnahme ließen sich mit dünnen Hedström Feilen (#25) feine Dentinspäne abtragen. Dies in Verbindung mit der Vitalfärbung ermöglichte die Differenzierung von bakteriellen Zellen in den Dentinproben ohne störende Hintergrundfluoreszenz, so dass in allen Proben die direkte und schnelle Bestimmung des Parameters %VB möglich war.

Für jede Probe – Suspension, Wurzelkanal und Wurzelkanaldentin – wurden die Werte für %VB, BZ/ml und CFU/ml bestimmt.

Es wurden vitale und avitale Bakterien in allen Proben nachgewiesen. Im Fall von *S. sanguinis* wurden vitale Bakterien in der Testgruppe nach vierwöchiger Ca(OH)₂-Einlage im Wurzelkanaldentin festgestellt, obwohl diese Proben nach konventioneller Anzucht kein Wachstum zeigten. Die mit *E. faecalis* infizierten Proben wiesen dagegen eine erhöhte Vitalität und Bakterienwachstum nach Kontakt mit Calciumhydroxid auf.

A.2. *S. sanguinis* – Woche 4

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Bei der Betrachtung von beiden Gruppen variierten die %VB-Werte in den Suspensionsproben (S₁) nach 4 Wochen Infektion mit *S. sanguinis* zwischen 50,0% und

75,0%. Die Mittelwerte von Kontrollgruppe und Testgruppe unterschieden sich mit 60,0% [KI: 51,3; 68,7] bzw. 60,8% [KI: 56,8; 64,8] nicht. Die Werte für die Proben aus dem Wurzelkanal (K_1) variierten zwischen 23,5% und 67,9% in der Kontrollgruppe ($\bar{x}=39,0\%$; [KI: 20,8; 57,2]), während die Testgruppe Vitalitätswerte von 23,9 bis 48,0% aufwies ($\bar{x}=35,2\%$; [KI: 26,0; 44,4]). Der Anteil vitaler Bakterien in den Dentinproben (Dp_1) schwankte zwischen 12,7% und 58,4% in der Kontrollgruppe ($\bar{x}=31,0\%$; [KI: 14,6; 47,4]). In der Testgruppe lag die Vitalität durchschnittlich bei 36,3% [KI: 25,8; 46,8]) (s. S. 70 – Tabelle 5).

Im Vergleich zur Suspension (S_1) waren die %VB-Werte für die Wurzelkanal- (K_1) und Dentinproben (Dp_1) niedriger. Die größten Differenzen zeigten sich in der Kontrollgruppe zwischen Dp_1 und S_1 ($\bar{x}= -29,0$; [KI: -50,1; -7,9]) und in der Testgruppe zwischen K_1 und S_1 ($\bar{x}= -25,6$; [KI: -33,1; -18,1]) (s. S. 71 – Tabelle 6).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

log BZ/ml war höher in den Proben S_1 als in den Proben Dp_1 und K_1 sowohl für die Kontrollgruppe als auch für die Testgruppe. Die Mittelwerte betragen 8,9 [KI: 8,6; 9,2] für S_1 , 7,3 [KI: 6,9; 7,7] für K_1 und 7,7 [KI: 7,1; 8,3] für Dp_1 . Ähnliche Werte wurden in der Testgruppe registriert (s. S. 70 – Tabelle 5).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

Die Anzahl koloniebildender Einheiten war in der Suspension am höchsten und in der Wurzelkanalprobe am niedrigsten in beiden Gruppen. Die Mittelwerte lagen im Bereich von 8,9 [KI: 7,3; 10,5] für S_1 , 6,4 [KI: 5,0; 7,8] für K_1 und 6,5 [KI: 4,5; 8,4] für Dp_1 in der Kontrollgruppe. Die Werte in der Testgruppe lagen in einem ähnlichen Bereich (s. S. 70 – Tabelle 5).

A.3. *S. sanguinis* – Woche 8

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Die Vitalitätswerte der Suspension (S_2) lagen im Bereich von 65,0% bis 75,0% in der Kontrollgruppe und 55,0% bis 70,0% in der Testgruppe. Im Wurzelkanal (K_2)

ließen sich Werte zwischen 27,4% und 48,6% in der Kontrollgruppe und von 37,1% bis 49,3% in der Testgruppe feststellen. Die Dentinproben der Kontrollgruppe (Dp₂) wiesen eine Vitalität von 22,7% bis 36,0% auf (\bar{x} =35,5; [KI: 23,2; 47,8] (s. S. 72 – Tabelle 7).

Durchschnittlich erhöhte sich die Vitalität in S₂ und K₂ in beiden Gruppen im Vergleich mit den nach 4 Wochen festgestellten Werten. In der Dentinprobe (Dp₂) der Kontrollgruppe zeigte sich auch eine Erhöhung des Vitalitätsanteils bei fünf von sechs Wurzelsegmenten (s. S. 74 – Tabelle 9).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

Im Hinblick auf log BZ/ml unterschieden sich S₁ und S₂ in beiden Gruppen nicht wesentlich. Für die Probe K₂ ließen sich geringfügig höhere Werte in beiden Gruppen nachweisen. Die Probe Dp₂ in der Kontrollgruppe zeigten höhere log BZ/ml-Werte, während diese in der Testgruppe unverändert blieben (s. S. 72 bis 74 – Tabellen 7, 8 und 9).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

Die Anzahl koloniebildender Einheiten war in der Kontrollgruppe bei allen Proben nach 8 Wochen im Durchschnitt größer als nach 4 Wochen (s. S. 72 und 74 – Tabelle 7 und 9).

In der Testgruppe war log CFU/ml im Falle der Proben S₂ und K₂ niedriger als nach 4 Wochen (s. S. 74 – Tabelle 9).

A.4. *S. sanguinis* nach Calciumhydroxideinlage – Woche 12

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Bei der Untersuchung der Dentinproben (Dp₂^{*}) wurden vitale Bakterien nachgewiesen, wobei die %VB-Werte zwischen 12,5% und 51,0% schwankten. Der Mittelwert betrug 27,7% [KI: 12,8; 42,6] (s. S. 72 – Tabelle 7) und war durchschnittlich um 8,7% kleiner im Vergleich mit den nach 4 Wochen in der Testgruppe festgestellten Werten (s. S. 74 – Tabelle 9).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

Im Durchschnitt unterschieden sich die log BZ/ml-Werte in Dp_2^* nicht erheblich von den in Dp_1 beobachteten Werten (s. S. 72 und 74 – Tabellen 7 und 9).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

Nach der vierwöchigen $Ca(OH)_2$ –Einlage war nach Ausplattierung der Proben Dp_2 kein Wachstum sichtbar.

Eine zusammenfassende Übersicht der Ergebnisse des Vorversuchs im Hinblick auf die Vitalität der Wurzelkanalentinproben nach Infektion mit *S. sanguinis* gibt die folgende Tabelle:

Tabelle 1. *S. sanguinis* – Kontroll- und Testgruppe – Anteil vitaler Bakterien (%VB) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml) nach 4 (Dp_1) und 8 (Dp_2) Wochen Infektion und nach $Ca(OH)_2$ -Einlage (Dp_2^*).

(-) = Keine Probenentnahme; ϕ = kein Wachstum; [] = 95% Konfidenzintervall

<i>S. sanguinis</i>	%VB			log CFU/ml		
	Dp_1	Dp_2	Dp_2^*	Dp_1	Dp_2	Dp_2^*
Kontrollgruppe	31,0% [14,6; 47,4]	35,5% [23,2; 47,8]	-	6,5 [4,5; 8,4]	8,7 [7,0; 10,4]	-
Testgruppe	36,3% [25,8; 46,8]	-	27,7% [12,8; 42,6]	6,8 [5,1; 8,5]	-	ϕ

A.5. *E. faecalis* – Woche 4**Anteil vitaler Bakterien (%VB)**

Die Vitalität nach Infektion mit *E. faecalis* schwankte in der Suspensionsprobe (S_1) zwischen 40% und 50% (\bar{x} = 48,3%; [KI: 44,0; 52,6]) in der Kontrollgruppe und 45% und 60% (\bar{x} = 51,7; [KI: 46,3; 57,1]) in der Testgruppe. In der Wurzelkanalprobe (K_1) wurden Werte zwischen 23,3% und 74,0% in der Kontrollgruppe festgestellt, während diese in der Testgruppe zwischen 37,3% und 62,2% lagen. In der Wurzelkanalentinprobe (Dp_1) wurden %VB-Werte zwischen 22,1% und 60,7% in der

Kontrollgruppe und zwischen 36,7% und 60,4% in der Testgruppe ermittelt (s. S. 75 – Tabelle 10).

Die Vitalität war – unabhängig von der Gruppe – in S₁ durchschnittlich höher als in K₁ und in Dp₁. Dp₁ und K₁ differierten im Durchschnitt am deutlichsten, gefolgt von Dp₁- S₁ und K₁- S₁ (s. S. 76 – Tabelle 11).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

In beiden Gruppen wurden ähnliche Werte beobachtet. S₁ blieb im Bereich von 8,0 bis 9,0; K₁ zwischen 6,6 und 7,8 und Dp₁ zwischen 7,0 und 8,0 (s. S. 75 und 76 - Tabellen 10 und 11).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

Die beobachteten CFU-Werte waren höher in S₁ als in Dp₁ und K₁ in der Kontrollgruppe. In der Testgruppe waren die CFU-Werte von Dp₁ und K₁ im Durchschnitt nahezu gleich (s. S. 75 und 76 - Tabellen 10 und 11).

A.6. *E. faecalis* – Woche 8

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Im Durchschnitt hat sich die Vitalität in der Suspension (S₂) im Vergleich zu S₁ kaum geändert. Bei K₂ wurde eine Zunahme der Vitalität in der Testgruppe beobachtet im Gegensatz zu der Kontrollgruppe. Die Vitalität von Dp₂ nahm in der Kontrollgruppe im Durchschnitt um 4,5% ab, obwohl bei zwei Wurzelsegmenten auch eine Zunahme der Vitalität beobachtet wurde (s. S. 77 bis 79 – Tabellen 12, 13 und 14).

Die Differenz zwischen den Proben stiegen in der Kontrollgruppe an. In der Testgruppe zeigte K₂ höhere %VB-Werte als S₂ bei allen Wurzelsegmenten (s. S. 78 – Tabelle 13).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

Nach 8 Wochen Infektion unterschieden sich die log BZ/ml-Werte nicht von denen, die nach 4 Wochen beobachtet wurden (s. S. 77 und 78 – Tabellen 12 und 13).

Die Differenz zwischen den Proben in der Kontrollgruppe war größer zwischen K₂ und S₂ als zwischen Dp₂ und K₂, sowie Dp₂ und S₂ (s. S. 78 – Tabelle 13).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

In der Kontrollgruppe bildete S₂ die meisten Kolonien, gefolgt von K₂ und Dp₂. Auch in der Testgruppe war log CFU/ml höher in der Suspension als im Wurzelkanal (s. S. 77 und 78 – Tabellen 12 und 13).

Von Woche 4 nach Woche 8 nahmen die log CFU/ml-Werte im Durchschnitt bei S₂ und K₂ in beiden Gruppen zu (s. S. 79 – Tabelle 14).

A.7. *E. faecalis* nach Calciumhydroxideinlage – Woche 12

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Die Vitalität im Dentin stieg um 13,2% nach Ca(OH)₂-Einlage an (s. S. 79 – Tabelle 14). Im Vergleich zu S₂ waren die %VB-Werte der Dentinproben im Durchschnitt 6,1% höher, blieben aber niedriger als die Vitalität in K₂ (s. S. 78 – Tabelle 13).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml)

Der BZ-Mittelwert in Dp₂* der Testgruppe (Woche 12) war dem Dp₂ der Kontrollgruppe (Woche 8) sehr ähnlich; beide nahmen im Vergleich zu den nach 4 Wochen beobachteten Werten zu (s. S. 77 und 79 – Tabellen 12 und 14).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml)

Die Werte von log CFU/ml nach Ca(OH)₂-Einlage variierten zwischen 4,0 und 8,1 mit einem Mittelwert von 5,3 [KI: 2,6; 8,0] (s. S. 77 – Tabelle 12).

Im Vergleich zu den Werten nach vier Wochen nahmen die für Dp₂* beobachteten CFU-Werte geringfügig ab (s. S. 79 – Tabelle 14).

Eine Übersicht der Ergebnisse des Vorversuchs im Hinblick auf die Vitalität der Wurzelkanaldentinproben nach Infektion mit *E. faecalis* gibt die Tabelle 2.

Tabelle 2. *E. faecalis* – Kontroll- und Testgruppe – Anteil vitaler Bakterien (%VB) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml) nach 4 (Dp₁) und 8 (Dp₂) Wochen Infektion und nach Ca(OH)₂-Einlage (Dp₂*).

(-) = Keine Probenentnahme; φ = kein Wachstum; [] = 95% Konfidenzintervall

<i>E. faecalis</i>	%VB			log CFU/ml		
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₂ *	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₂ *
Kontrollgruppe	41,3% [26,5; 56,0]	36,7% [24,3; 49,1]	-	7,6 [6,1; 9,1]	8,2 [6,6; 9,7]	-
Testgruppe	43,0% [33,7; 52,3]	-	56,2% [29,3; 83,0]	6,1 [5,7; 6,6]	-	5,3 [2,6; 8,0]

Teil B – Hauptversuch

B.1. Übersicht

In Bezug auf den Hemmhöftest fanden sich im Fall von *S. sanguinis* Hemmhöfe von durchschnittlich 4,5 mm für die Calciumhydroxidpaste und von 4,4 mm für die Guttaperchastifte. Die Keramikstifte erzeugten als inertes Material keine Hemmhöfe auf den mit *S. sanguinis* versehenen Platten. *E. faecalis* zeigte gegenüber Calciumhydroxidpaste keine Hemmhöfbildung. Im Gegensatz dazu wurden Hemmhöfe von im Durchschnitt 2,6 mm für CHX-Gel und von 3,0 mm für CHX-GP ermittelt.

In allen Dentinproben wurden vitale und avitale Bakterien nachgewiesen. Die Gewichtsbestimmung der Dentinproben nach Entnahme ermöglichte die gewichtsbezogene Angabe von Bakteriengesamtzahl (BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (CFU/mg).

Unter dem Makroskop wurden keine Reste von Medikamenten bzw. Wurzelkanalfüllmaterialien sichtbar. Die Dentinproben (Dp₂) wurden in zwei Schritten entnommen. Oberflächliche und tiefere Dentinschicht wurden getrennt gewogen und analysiert. Dies schließt einerseits den möglichen Einfluß der Substantivität z. B. von CHX zum Teil aus, andererseits ermöglichte es Unterschiede der Auswirkungen dieser Substanzen in verschiedenen Dentintiefen zu erfassen. Es wurden allerdings bei keiner der getesteten Substanz relevante Unterschiede zwischen den beiden Dentinschichten ermittelt. Es wurde hieraus ein Mittelwert gebildet und dieser dem jeweiligen Wurzelsegment zugeordnet.

Da der Vitalitätszustand von Bakterien im Dentin im Mittelpunkt dieser Arbeit steht, wird folgend zentriert über die Ergebnisse der Dentinproben im Hauptversuch berichtet.

B.2. *S. sanguinis* – Calciumhydroxidpaste

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Nach vier Wochen lag der %VB-Wert in den Dentinproben (Dp_1) zwischen 34,2% und 50,3 % ($\bar{x}=42,1$; [KI: 38,9; 45,4]). Nach Entfernung von $Ca(OH)_2$ (Woche 12 = Dp_2) fanden sich in 6 von 10 Wurzelsegmenten höhere Werte. Dies spiegelte sich in dem Mittelwert von 47,0% und einem größeren Konfidenzintervall [KI: 35,8; 58,2] wider (s. S. 80 – Tabelle 15). Die Abb. 6 gibt einen Überblick über den individuellen paarweisen Vergleich.

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die in den Dentinproben Dp_1 und Dp_2 gefundenen Bakterienzahlen unterschieden sich nicht wesentlich. Die Mittelwerte betragen 6,5 [KI: 6,4; 6,7] (Dp_1) und 6,4 [6,2; 6,6] (Dp_2) (s. S. 80 – Tabelle 15). Bei sechs Wurzelsegmenten resultierte die Exposition mit $Ca(OH)_2$ in einer Reduktion der Bakteriengesamtzahl (s. S. 80 – Tabelle 16).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Nach 4 Wochen lag der für die Dentinproben (Dp_1) ermittelte Mittelwert bei 4,0 [KI: 3,5; 4,5]. Am Ende des Experiments nach Entfernung von $Ca(OH)_2$ (Dp_2) wurde kein Wachstum sowohl auf Platten als auch in Schaedler Bouillon beobachtet.

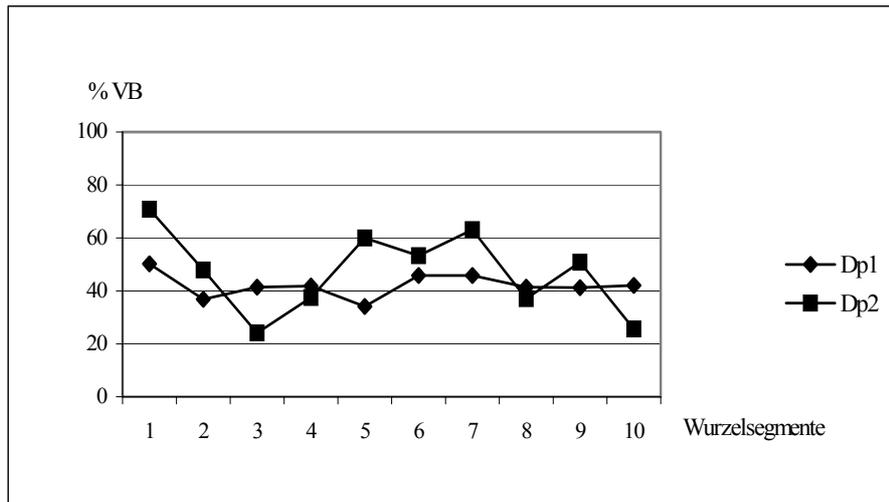


Abb. 6. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelzementproben (Dp₁) im Vergleich mit Zementproben nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp₂).

B.3. *S. sanguinis* – Guttaperchastift und AH Plus

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Diese Gruppe zeigte nach vier Wochen einen %VB-Mittelwert von 36,7% [KI: 32,5; 40,9]. Die %VB-Werte nach Entfernung der Wurzelkanalfüllung (32 Wochen = Dp₂) gingen ohne Ausnahme zurück (s. Abb. 7). Der Mittelwert lag bei 21,8% [KI: 15,2; 28,4] (s. S. 81 – Tabelle 17 und 18).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die Bakteriengesamtzahlen unterschieden sich nach 4 und 32 Wochen nicht wesentlich. Sie bewegten sich in einem Bereich von log 5,8 und log 6,5 (s. S. 81 – Tabellen 17 und 18).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Nach vier Wochen Infektion wurde ein log CFU/mg Mittelwert von 3,2 [KI: 2,6; 3,8] festgestellt. Nach Entfernung des Wurzelfüllmaterials (Dp₂) ließen sich keine

Kolonien auf den Platten nachweisen. Auch in der Flüssigkultur ergab sich nach 48 Stunden kein Wachstum (s. S. 81 – Tabelle 17).

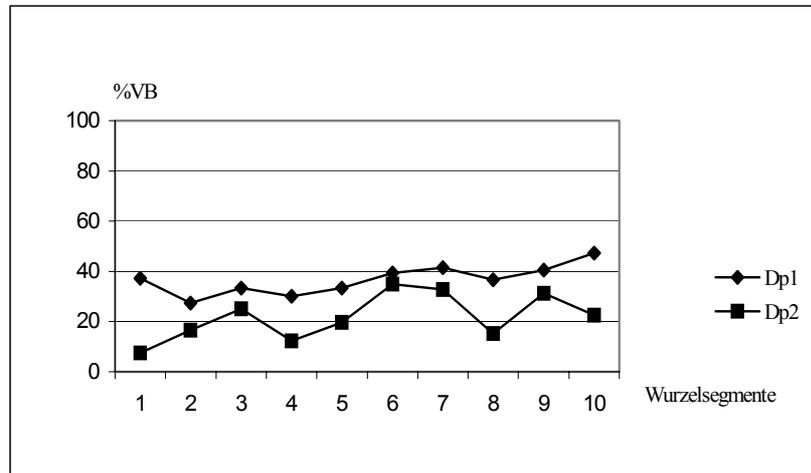


Abb. 7. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelzementproben (Dp₁) im Vergleich mit Zementproben nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften und AH Plus (Dp₂).

B.4. *S. sanguinis* – Keramikstift

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Nach 4 Wochen (Dp₁) war der Vitalitätsmittelwert bei 30,9% [KI: 26,8; 35,0] und damit der niedrigste der drei vorgenannten Gruppen. Nach Entfernung des Keramikstifts (Woche 32 = Dp₂) ergab sich als Mittelwert 45,7% [KI: 39,5; 51,9]. Die durchschnittliche Erhöhung betrug 14,9% [KI: 7,4; 22,4]. Lediglich bei einem Wurzelsegment blieb die %VB unverändert (s. S. 82 – Tabellen 19 und 20). Die Darstellung der einzelnen %VB-Werte ist in Abb. 8 dargestellt.

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die Bakteriengesamtzahl blieb bei Dp₁ und Dp₂ im Bereich von log 6,6 und log 6,4 (s. S. 82 – Tabellen 19 und 20).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Nach vier Wochen (Dp₁) wurde ein log CFU/mg Mittelwert von 4,0 [KI: 3,5; 4,5] festgestellt. Nach Entfernung des Keramikstifts (Dp₂) ließ sich nach 48 Stunden sowohl auf den Platten als auch in der Flüssigkultur kein Wachstum nachweisen (s. S. 82 – Tabelle 20).

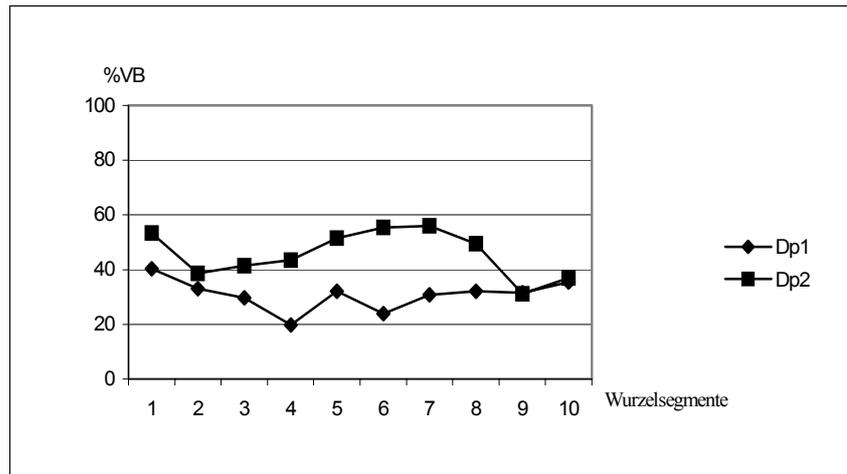


Abb. 8. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelzementproben (Dp₁) im Vergleich mit Zementproben nach 24 Wochen Liegedauer der Keramikstifte (Dp₂).

B.5. Zusammenfassung der Ergebnisse für *S. sanguinis*

Zum Zeitpunkt der Zementprobenentnahme nach 4 Wochen (Dp₁) zeigte die Ca(OH)₂-Gruppe den höchsten %VB-Mittelwert, gefolgt von der GP-Gruppe und KS-Gruppe. Die Auswirkung des Wurzelfüllmaterials bzw. der medikamentösen Einlage auf %VB war am deutlichsten in der GP-Gruppe und in der KS-Gruppe. In ersterer gingen die %VB-Werte deutlich zurück, in letzterer stiegen sie an. In allen Gruppen ließen sich jedoch nach Entfernung der Wurzelfüllmaterialien bzw. der Ca(OH)₂-Einlage kulturmikrobiologisch keine vitalen und teilungsaktiven Bakterien nachweisen. Ein näherer Vergleich der drei Gruppen ergibt sich aus den Abbildungen 9 und 10.

Eine Übersicht der Ergebnisse des Hauptversuchs im Hinblick auf die Vitalität der Wurzelkanalzementproben nach Infektion mit *S. sanguinis* gibt die Tabelle 3.

Tabelle 3. *S. sanguinis* – Gruppen Ca(OH)₂, GP und KS – Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 (Dp₁) Wochen Infektion und nach Entfernung von Ca(OH)₂ bzw. Guttaperchastifte und Keramikstifte (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; [] = 95% Konfidenzintervall.

Med.-Einlage bzw. WFMaterial	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ca(OH) ₂	42,1 [38,9; 45,4]	47,0 [35,8; 58,2]	6,5 [6,4; 6,7]	6,4 [6,2; 6,6]	4,0 [3,5; 4,5]	ϕ
GP	36,7 [32,5; 40,9]	21,8 [15,2; 28,4]	6,3 [6,2; 6,4]	6,5 [6,4; 6,6]	3,2 [2,6; 3,8]	ϕ
KS	30,9 [26,8; 35,0]	45,7 [39,5; 51,9]	6,6 [6,5; 6,7]	6,4 [6,3; 6,5]	4,0 [3,5; 4,5]	ϕ

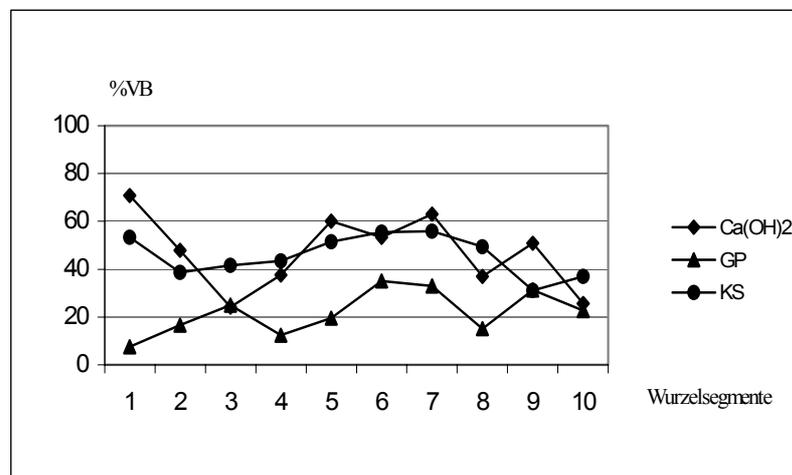


Abb. 9. Vergleich der Gruppen Ca(OH)₂, GP und KS: Anteil vitaler Bakterien (%VB) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Guttaperchastift und Keramikstift (Dp₂) aus den mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmenten.

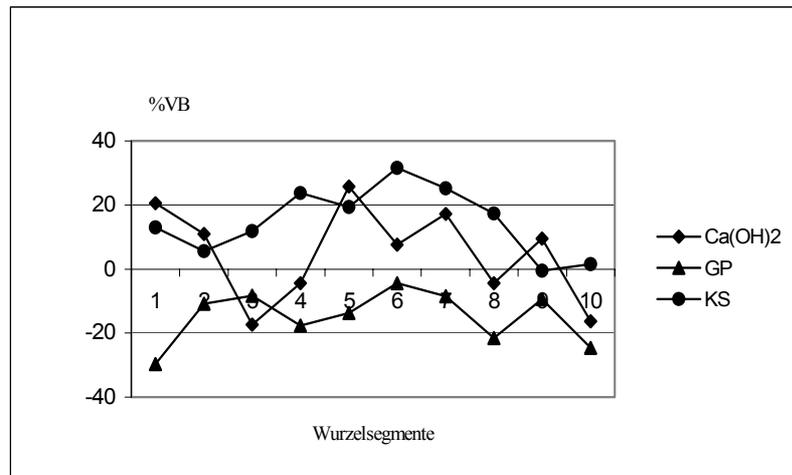


Abb. 10. Vergleich der Gruppen Ca(OH)₂, GP und KS: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB= Dp₂ – Dp₁) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Guttaperchastift und Keramikstift aus den mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmenten. Punkte im negativen Bereich weisen auf einen Rückgang der Vitalität hin.

B.6. *E. faecalis* – Calciumhydroxidpaste

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

Die %VB-Werte bei *E. faecalis* nach Applikation der Calciumhydroxidpaste (Dp₂) lagen bei allen Wurzelsegmenten deutlich höher als nach 4 Wochen (Dp₁) (s. S. 83 – Tabelle 21). Im Durchschnitt nahm die Vitalität um 29,5% zu (s. S. 83 – Tabelle 22). Die Vitalitätswerte für Dp₁ und Dp₂ sind in Abb. 11 dargestellt.

Das mit Dentinspänen angesetzte Kulturmedium zeigte nach 24 Stunden einen hohen Vitalitätswert von durchschnittlich 64,0%.

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die Bakterienzahlen änderten sich nur unwesentlich beim Vergleich von Woche 4 und 12 (s. S. 83 – Tabellen 21 und 22).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Die Wirkung von Calciumhydroxid auf *E. faecalis* äußerte sich in einem geringfügigen Rückgang von log CFU (s. S. 83 – Tabellen 21 und 22). In nur einem Fall ließen sich keine Kolonien nachweisen.

Im Kulturmedium, innokuliert mit Dentinspänen, betrug log CFU nach 24 Stunden durchschnittlich 8,36. Auch die Dentinprobe, die nach Ausplattierung keine Kolonien bildete, zeigte im flüssigen Medium Bakterienwachstum.

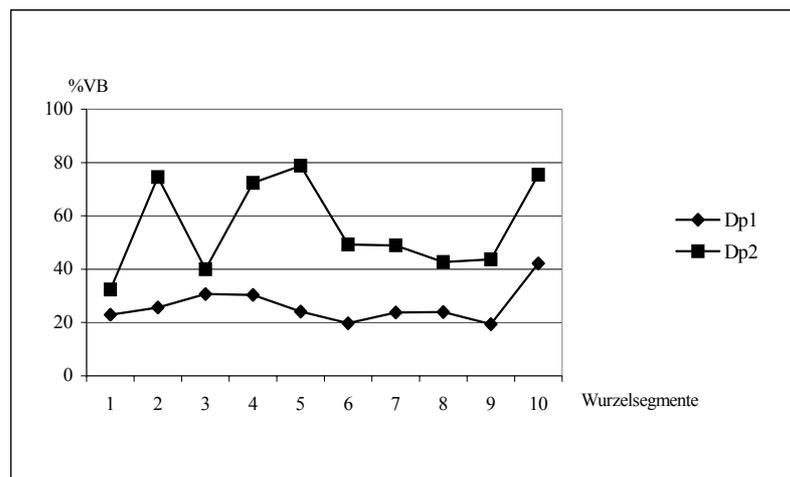


Abb. 11. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *E. faecalis* infizierten Wurzelzementproben (Dp₁) im Vergleich mit Zementproben nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp₂).

B.7. *E. faecalis* – Chlorhexidingel

Anteil vitaler Bakterien (%VB)

In dieser Gruppe variierten die %VB-Werte nach 4 Wochen zwischen 17,4% und 31,9% mit einem Mittelwert von 25,7% [KI: 22,5; 28,9]. Nach Entfernung der CHX-Gel Einlage nahmen diese Werte deutlich ab (\bar{x} = 15,4; [KI: 8,1; 22,7]) (s. S. 84 – Tabellen 23 und 24). Abb. 12 zeigt einen Vergleich dieser Werte nach Woche 4 und Woche 12.

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die durchschnittliche Bakteriengesamtzahl blieb unverändert (s. S. 84 – Tabellen 23 und 24).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Die Anzahl gebildeter Kolonien betrug nach 4 Wochen im Mittel 4,4 [KI: 4,1; 4,7]. Nach Entfernung des CHX-Gels wurde kein bakterielles Wachstum sowohl auf den Platten als auch in der Flüssigkultur nach 48 Stunden festgestellt.

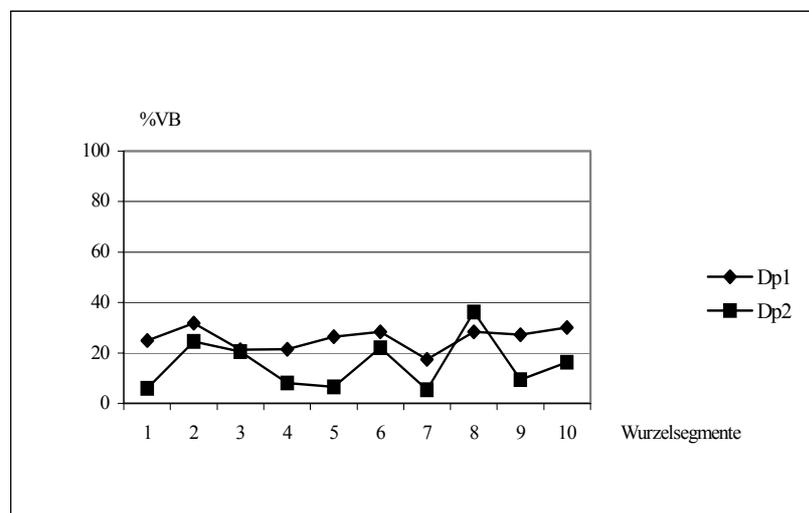


Abb. 12. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *E. faecalis* infizierten Wurzelzementproben (Dp₁) im Vergleich mit Zementproben nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Gel (Dp₂).

B.8. *E. faecalis* – chlorhexidinhaltige Guttaperchastifte**Anteil vitaler Bakterien (%VB)**

Nach vier Wochen (Dp₁) lag %VB im Mittel bei 34,2% [KI: 27,5; 40,9] (s. S. 85 – Tabelle 25). Eine deutliche Reduktion der Vitalität wurde nach Entfernung der CHX-Guttaperchastifte (Dp₂) bei allen 10 Wurzelsegmenten beobachtet (s. Abb. 13). Bei fünf Wurzelsegmenten wurden keine vitalen Bakterien gefunden (s. S. 85 – Tabelle 26).

Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg)

Die Bakteriengesamtzahl variierte nach 4 bzw. 12 Wochen zwischen log 6,0 und 6,7. In zwei Fällen erreichte log BZ nach 12 Wochen lediglich den Wert 4,9. (s. S. 85 – Tabellen 25 und 26).

Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg)

Die Ausgangsproben (Dp₁) wiesen ein Mittelwert von 5,0 [KI: 4,7; 5,3] auf (s. S. 85 – Tabelle 25). Nach Entfernung der CHX-GP-Stifte ließen sich – nach Ausplattierung der Dentinproben (Dp₂) – keine Kolonien feststellen. Auch keine der mit Dentinproben angesetzten Flüssigkulturen deuteten auf ein Bakterienwachstum hin.

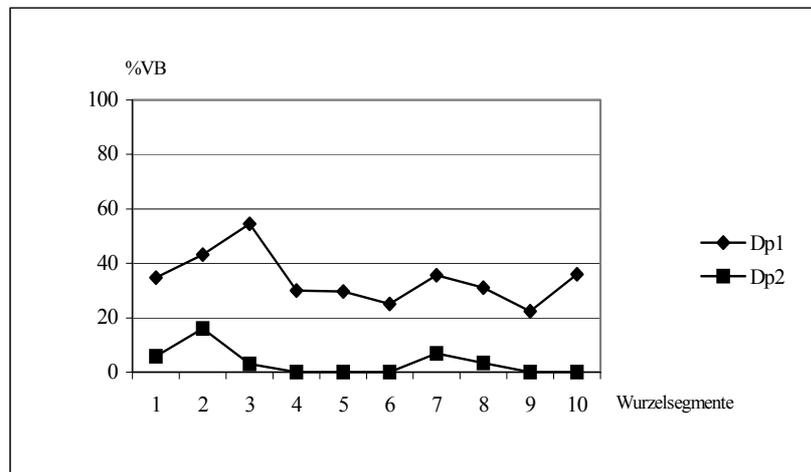


Abb. 13. Anteil vitaler Bakterien (%VB) in mit *E. faecalis* infizierten Wurzelentoproben (Dp₁) im Vergleich mit Dentinproben nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-GP-Stiften (Dp₂).

B.9. Zusammenfassung der Ergebnisse für *E. faecalis*

Nach vierwöchiger Inkubation wiesen die Dentinproben (Dp₁) in allen drei Gruppen durchschnittlich ähnliche %VB-Werte auf. Der Effekt der medikamentösen Einlage auf %VB war in der CHX-GP-Gruppe am deutlichsten. Es wurde im Durchschnitt eine Reduktion der %VB von 30,7% festgestellt. Die Gruppe CHX-Gel zeigte ebenfalls niedrigere Vitalitätswerte für Dp₂. In beiden Gruppen waren keine

teilungsaktive Bakterien in Form von koloniebildenden Einheiten nach Entfernung der medikamentösen Einlage nachzuweisen.

Im Gegensatz dazu wurde bei der $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Gruppe eine Zunahme von %VB in Dp_2 beobachtet. Die Dentinproben dieser Gruppe zeigten ebenfalls nach kultureller Anzucht Bakterienwachstum auf Platten und in der Flüssigkultur.

Eine Übersicht der Ergebnisse des Hauptversuchs im Hinblick auf die Vitalität der Wurzelkanaldentinproben nach Infektion mit *E. faecalis* geben die Tabelle 4 und die Abb. 14 und 15.

Tabelle 4. *E. faecalis* – Gruppen $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CHX-Gel und CHX-GP – Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 (Dp_1) Wochen Infektion und nach Entfernung der medikamentösen Einlage (Dp_2).

*Nicht auswertbare Probe; ϕ = kein Wachstum; [] = 95% Konfidenzintervall

Med.- Einlage	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp_1	Dp_2	Dp_1	Dp_2	Dp_1	Dp_2
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	26,3% [21,5; 31,1]	55,8% [43,2; 68,4]	6,5 [6,4; 6,6]	6,3 [6,2; 6,4]	4,7 [4,3; 5,1]	3,8* [3,2; 4,4]
CHX-Gel	25,7% [22,5; 28,9]	15,4% [8,1; 22,7]	6,2 [6,1; 6,3]	6,3 [5,9; 6,7]	4,4 [4,1; 4,7]	ϕ
CHX-GP	34,2% [27,5; 40,9]	3,5% [-0,2; 7,2]	6,3 [6,2; 6,4]	6,1 [5,7; 6,5]	5,0 [4,7; 5,3]	ϕ

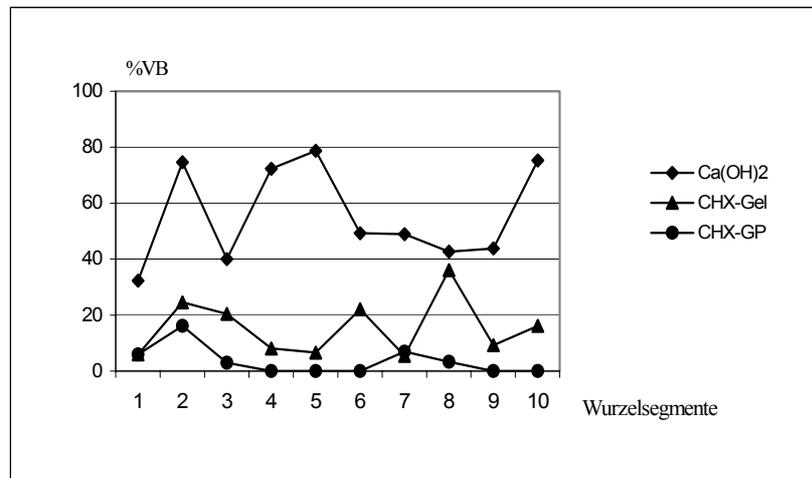


Abb. 14. Vergleich der Gruppen Ca(OH)₂, CHX-Gel und CHX-GP: Anteil vitaler Bakterien (%VB) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Chlorhexidingel und chlorhexidinhaltigen Guttaperchastiften (Dp₂) bei mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten.

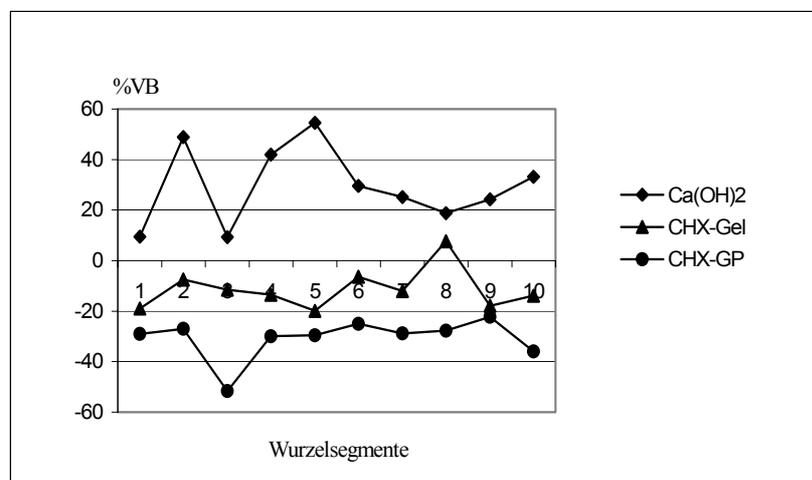


Abb. 15. Vergleich der Gruppen Ca(OH)₂, CHX-Gel und CHX-GP: Differenzwerte des Anteil vitaler Bakterien (%VB= Dp₂ - Dp₁) nach Entfernung von Calciumhydroxid, Chlorhexidingel und chlorhexidinhaltigen Guttaperchastiften (Dp₂) bei mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten. Punkte im negativen Bereich weisen auf einen Rückgang der Vitalität hin.

4. Diskussion

In dieser Arbeit wurden extrahierte menschliche Zähne zur Herstellung der Probekörper ausgewählt, obwohl in den meisten Untersuchungen Rinderzähne mit artifiziell infiziertem Dentin verwendet wurden (Haapasalo und Ørstavik, 1987, Ørstavik und Haapasalo, 1990, Siqueira Jr. und Uzeda, 1996, Heling und Chandler, 1998, Peters et al., 2000, Portenier et al., 2001). Zum einen sind Dentinkanälchen von Rinderzähnen im Durchmesser größer (Perez et al., 1993) und zum anderen ist die Zahl quer angeschnittener Dentinkanälchen pro mm² im Wurzelentin von Rinderzähnen im Vergleich höher, obwohl im Kronenteil Querschnitt und Anzahl von Dentinkanälchen bei Menschen- und Rinderzähne ähnlich sind (Schilke et al., 2000). Schmalz et al. (2001) untersuchten Wasserdiffusionsrate und Leitfähigkeit von Dentin. Die Variabilität von Proben menschlichen Dentins erwies sich als doppelt so groß wie bei Rinderdentinproben. Das Studienmodell wurde so gewählt, dass jedes einzelne Wurzelsegment als seine eigene Kontrolle diente, um die Variabilität der Proben zu kompensieren.

Durchmesser und Anzahl von Dentintubuli können unter anderem das Angebot von Substrat und den Raum, der den Bakterien zur Verfügung steht, beeinflussen. Das Angebot an Nahrung steht in direkter Verbindung mit den Überlebenschancen und möglicherweise mit der Penetration von Bakterien in Dentin. Adriaens et al. (1988) fanden bei 69 intakten Zähnen, die Läsionen mit Taschentieffen von über 5 mm in 95% der Fälle aufwiesen, eine repräsentative Zahl von Bakterien sowohl in den Dentinkanälchen unterhalb des Wurzelzements als auch im Pulpagewebe. Die Penetration von Bakterien ins Dentin bis zur Zementgrenze wurde bei 25 Zähnen mit ausschließlich periapikalen Läsionen endodontischen Ursprungs nachgewiesen (Peters et al., 2001). Anzüchtbare Bakterien ließen sich in den Dentinproben nachweisen, die sowohl aus pulpanahem als auch zementangrenzendem Wurzelentin stammten. Demnach wäre bei Anwesenheit intakten Zements die Diffusion von Nährstoffen über den Dentinliquor genau so zu erwarten wie die Penetration von Bakterien in Dentinkanälchen in beide Richtungen – abhängig vom Ursprung der Infektion (endodontisch oder parodontal). Peters et al. (2001) fanden in Proben aus dem mittleren Dentin eine geringere Anzahl anzüchtbarer Bakterien. Einerseits könnten mit dem

breiteren Querschnitt und der höheren Anzahl von Tubuli im pulpanahen Dentin (Pashley et al., 1985) besserer Lebensbedingungen für die pulpanah lokalisierten Bakterien assoziiert sein, andererseits könnte Substrat durch die Zementschicht von der parodontalen Seite für die zementnah lokalisierten Bakterien diffundieren, so dass nur ein kleiner Anteil von Bakterien in den mittleren Dentinschichten ausreichend Nahrung bekäme.

Die Relevanz des Substratangebots im Wurzeldentin wurde für vier Bakterienkeime *in vitro* verfolgt, nämlich für *S. sanguinis*, *E. faecalis*, *E. coli* und *P. aeruginosa* (Ørstavik und Haapasalo, 1990). Bei komplettem Substratzug überlebte *S. sanguinis* in einigen Proben bis zu 24 Stunden. *E. faecalis* blieb anzüchtbar für mindestens 7 Tage und *E. coli* und *P. aeruginosa* verlierten ihre Teilungsfähigkeit innerhalb von 4 Stunden. Im Wurzelkanalsystem kann durch Abdichtung des Wurzelkanals die Zufuhr von Substrat unterbunden werden, jedoch bietet der Liquor in Dentinkanälchen möglicherweise eine begrenzte Nahrungsquelle. Love (2001) untersuchte das Verhalten von *S. gordonii*, *S. mutans* und *E. faecalis* in Anwesenheit von Serum über 56 Tage. Dabei erwies sich das Serum gegenüber Bakterien inhibitorisch. Dentinkolonisierung und Kollagenbindungsfähigkeit von Streptokokken waren reduziert. Mit Serum vorbehandelte *E. faecalis* Zellen drangen in geringerem Maß in Dentinkanälchen ein als unbehandelte. Demnach waren alle drei Bakterienkeime in der Lage, im Serum für einen längeren Zeitraum zu überleben. Offensichtlich bietet das Serum durchaus eine Nahrungsquelle, verhindert jedoch in gewissem Umfang das Eindringen von Bakterien in Wurzeldentin. Da Serum auch im Inneren von Dentinkanälchen zu finden ist, wäre im Fall von *E. faecalis* sowohl das Serum als Nahrungsquelle sowie die Adhäsionsfähigkeit an Kollagen eine mögliche Erklärung für mit der Anwesenheit von *E. faecalis* in Verbindung stehende Mißerfolge nach Wurzelkanalbehandlung.

Die in dieser Studie verwendeten menschlichen Zähne wurden in Anlehnung an die von Haapasalo und Ørstavik (1987) beschriebene Methode vorbereitet.

Streptococcus sanguinis und *Enterococcus faecalis* wurden wegen ihrer Rolle bei Besiedlung des Wurzelkanalsystems als Zielkeime ausgewählt. Beide wurden oft in Wurzelkanalproben identifiziert. Insbesondere *E. faecalis* steht in Verbindung mit endodontischen Mißerfolgen (Siren et al., 1997, Sjögren et al., 1997, Sundqvist et al.,

1998, Molander et al., 1998). Außerdem verfügen *S. sanguinis* und *E. faecalis* über die Fähigkeit, innerhalb von wenigen Wochen tief in das Wurzel dentin einzudringen. Perez et al. (1993) stellte innerhalb von 28 Tage Penetrationstiefen bei *S. sanguinis* von bis zu 792 μm im Dentin von Rinderzähnen fest. *E. faecalis* wurde nach 14 Tage Inkubationszeit noch in einer Tiefe von über 500 μm entdeckt (Ørstavik und Haapasalo, 1990, Heling et al., 1992a).

Der Vorversuch (Teil A der vorliegenden Arbeit) bestätigte – für beide Keime - Eindringtiefen von mindestens 300 μm sowohl mikroskopisch als auch nach Ausplattierung von Dentinproben. Das Eindringen der Bakterien in das Wurzel dentin von der pulpalen Seite wurde durch die Entfernung der Schmierschicht auf der Wurzelkanalwand begünstigt (Perez et al., 1996). Die Applikation von Nagellack auf die Oberflächen der Wurzelsegmente verhinderte ein Eindringen von peripher. Obwohl die Schmierschicht nicht als undurchdringliche Barriere gilt (Sen et al., 1995b, Love et al., 1996, Chailertvanitkul et al., 1996), wurde sie entfernt, so dass die Penetration von Bakterien in Dentinkanälchen mit höherer Sicherheit eintrat (Perez et al., 1996). Die Entfernung der Schmierschicht wurde zu zwei Zeitpunkten vorgenommen - am Anfang des Experiments (Woche 0) und nach Entfernung der ersten Dentinproben (Woche 4). So waren nach weiteren 4 Wochen Inkubation ähnliche Verhältnisse vorhanden, was die Ergebnisse der Kontrollgruppen (Woche 8) im Rahmen des Vorversuchs (Teil A) bestätigten.

Ein wesentlicher Vorteil des Studienaufbaus liegt darin, dass die einzelnen Wurzelsegmente als eigene Kontrolle dienen. Bei jedem Wurzelsegment wurde das Ausmaß der Infektion nach 4 Wochen bestimmt, die Schmierschicht entfernt und frisches Innokulum zugesetzt. Nach 8 Wochen konnten die Dentinproben Dp_2 mit Dp_1 verglichen werden.

Der Abtrag von infiziertem Wurzel dentin erfolgte mit Hedström Feilen, um möglichst zirkumferent kleine Dentinchips zu gewinnen. Dadurch wurde die mikroskopische Untersuchung erleichtert; die grün oder rot fluoreszierenden Bakterien waren gegenüber autofluoreszierendem Dentin deutlich erkennbar.

Eine Verunreinigung der Dentinproben durch Bakterien aus dem Wurzelkanal oder der Wurzelkanalwand war aufgrund der Vorversuche unwahrscheinlich. Es zeigte sich, dass die Spülung des Wurzelkanals mit Kochsalzlösung und Trocknung mit zwei

Papierspitzen zur erheblichen Reduktion planktonischer und an der Kanalwand adhärierter Bakterien führte. Selbst wenn Bakterien noch an den Wurzelkanalwänden vorhanden gewesen wären, wären sie wahrscheinlich im Verhältnis zu der Dentinprobenmenge von im Durchschnitt 5,0 bis 7,0 mg zu vernachlässigen. Im Hauptversuch wurde auf eine Probe aus dem Wurzelkanal (Probe K im Teil A) verzichtet, weil die ins Wurzelkambium eingedrungenen Mikroorganismen im Zentrum des Interesses standen. Der Wurzelkanal wurde weiterhin vor Entnahme der Dentinproben gespült und getrocknet. Die Suspensionsproben (S₁, S₂) dienten der Überwachung von möglichen Verunreinigungen. Deutete eine Suspensionsprobe auf Kontamination hin, wurde das Wurzelsegment von der Studie ausgeschlossen.

Ein Grund für die Anwendung der Vitalfluoreszenz zusätzlich zur klassischen bakteriellen Anzucht war, dass Bakterienkulturen unter Laborbedingungen mit der Zeit ihre Fähigkeit verlieren können, sich zu vermehren (Barer und Harwood, 1999), obwohl ihre Zellaktivität (Stoffwechsel) aufrechterhalten bleibt. Diese Zellen werden als „viable but non-culturable cells“ in der Literatur beschrieben. Sie können überleben und ihre Vermehrungsfähigkeit wiedererlangen oder aber auch nach bestimmter Zeit zu Grunde gehen. Zur Untermauerung dieser Theorie wurden bisher verschiedene Methoden eingesetzt, wie z. B. die Bestimmung der enzymatischen Aktivität und der Membranintegrität. Letztere spielt eine Schlüsselrolle, da hiervon Zellvitalität und Vermehrungspotential abhängt (Nebe-von Caron et al., 1998).

Die Vitalfärbung findet seit einiger Zeit Anwendung in der zahnmedizinischen Forschung im Rahmen von Untersuchungen über bakterielle Zahnplaque (Netuschil, 1983, Netuschil et al., 1989, 1991) sowie Speichel (Weiger et al. 1997) und im Rahmen von Studien über die mikrobielle Adhäsion unter dem Einfluß verschiedener antibakterieller und antiadhäsiver Substanzen (Weiger et al. 1994, 1998b, 1999). In diesen Untersuchungen wurden Fluoresceindiacetat und Ethidiumbromid als Marker verwendet.

Die in dieser Arbeit eingesetzte Vitalfärbung verdankt ihre Eigenschaft, vitale und tote Zellen zu differenzieren, der Prüfung auf Integrität der Zellmembran. Die Kombination der beiden Farbstoffe Syto 9 und Propidiumjodid liefert laut Decker (2001) die beste Möglichkeit, den Vitalitätsstatus von Bakterien in ihren verschiedenen Wachstumsphasen zu charakterisieren. Es wurde die Wachstumskurve von *S. sanguinis*

und *S. mutans* in Flüssigkulturen anhand von Bakteriengesamtzahl, optische Dichte, Anzahl koloniebildender Einheiten und Vitalität, letztere wiederum mit sechs verschiedenen Kombinationen von fluoreszenzbasierten Farbstoffen charakterisiert. Die Farbstoffe Syto 9 und Propidiumjodid sind beide in der Lage mit Nukleinsäuren Verbindungen einzugehen. In das Zytoplasma gelangen sie durch unterschiedliche Mechanismen. Bei unbeschädigter Zellmembran wird nur Syto 9 wegen seiner kleinen Molekülgröße aufgenommen; die Bakterienzellen fluoreszieren grün. Fluoreszieren Bakterienzellen rot, wurde Propidiumjodid aufgenommen, weil die Zellmembran nachhaltig geschädigt und durchlässig für Propidiumjodid ist. Die grün fluoreszierende Bakterien sind potenziell vermehrungsfähig; in Laborkulturen sind die meisten dieser Zellen anzüchtbar (Bogosian et al., 1998, Decker und Weiger, 1998).

Es liegt kein Hinweis vor, ob grün angefärbte Bakterien in der Lage sind, sich unter den im Wurzelkanalsystem vorherrschenden Bedingungen zu reproduzieren. *In vitro* Untersuchungen, die sich mit dieser Frage beschäftigten, haben hierzu noch keine eindeutige Antwort vorgelegt. Im Rahmen dieses Projekts wurde der Versuch unternommen, mit Hilfe der Vitalfärbung zusätzliche Informationen im Zuge der Anwendung verschiedener für die Wurzelkanalbehandlung relevanter Substanzen zu gewinnen.

Es ergab sich aus dem Vorversuch der Studie, dass nach Calciumhydroxid-Einlage bei mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmenten vitale Bakterien gefunden wurden, obwohl auf den Blutagarplatten kein Bakterienwachstum feststellbar war. Ob diese Beobachtung in jedem Fall auf die tatsächlichen Verhältnisse übertragbar ist, kann nicht sicher vorhergesagt werden. Die grün fluoreszierenden Bakterien, die im Wurzelkanal dentin zurückgelassen werden, wären jedoch potenziell noch vermehrungsfähig. Ob hierdurch eine periapikale Läsion eines wurzelkanalbehandelten Zahnes unterhalten oder induziert werden kann, ist schwer zu sagen, da auch der Austausch von Dentinserum als Substratquelle im Inneren der Dentinkanälchen nach Wurzelkanalfüllung wahrscheinlich bei Zähnen mit intakten Zement beeinträchtigt ist. Eine mögliche Erklärung für einen periapikalen Effekt – trotz dichter Wurzelkanalfüllung – wäre die Diffusion bakterieller Endotoxine in Richtung Apex .

Ca(OH)₂ gilt als „goldener“ Standard unter den medikamentösen Zwischeneinlagen in der Endodontie. In der Tat zeigte Ca(OH)₂ seine Wirkung

gegenüber verschiedenen Mikroorganismen; die höchste Effizienz war bei direkten Kontakt festgestellt worden (Byström et al., 1985, Estrela et al., 2001). Der klinische Nutzen von Ca(OH)_2 bei Zähnen mit periapikaler Parodontitis wurde bisher unterschiedlich bewertet (Safavi et al., 1985, Molander et al., 1999, Trope et al., 1999, Weiger et al., 2000). Andere Eigenschaften wurden Ca(OH)_2 auch zugesprochen. Im Vordergrund steht der gewebeauflösende Effekt (Blomlöf et al., 1992, Siqueira Jr. und Lopes, 1999), wenn auch entzündliche Reaktionen nach Kontakt von periapikalem Gewebe mit Ca(OH)_2 bekannt sind (Nelson Filho et al., 1999). Kürzlich wurde die Neutralisierung bakterieller Endotoxine durch Ca(OH)_2 -Suspension beschrieben (Buck et al., 2001).

Die Wirkung von Ca(OH)_2 steht in Verbindung mit dem alkalischen pH-Wert, der durch Freisetzung von Hydroxylionen im wasserhaltigen Milieu erreicht wird. Hohe pH-Werte werden mit der Anwendung pastöser Ca(OH)_2 -Präparate realisiert. Schäfer und Al Behaissi (2000) verglichen Ca(OH)_2 -haltige Guttaperchastifte mit Ca(OH)_2 -Suspensionen; sie registrierten bei Anwendung von Ca(OH)_2 -Suspensionen die höchsten pH-Werte. Safavi und Nakayama (2000) untersuchten die Diffusion von Glycerin und Propylenglycol, die mit Ca(OH)_2 angemischt wurden. Beide Substanzen beeinträchtigten die Dissoziation von Calcium- und Hydroxylionen und verhindern somit eine pH-Erhöhung. In wässrigem Milieu dagegen findet diese Dissoziation statt. Aus diesen Gründe wurde in dieser Studie reines Ca(OH)_2 -Pulver und steriles destilliertes Wasser angemischt.

Im Vorversuch wurde die Ca(OH)_2 -Paste mit Papierspitzen in den Wurzelkanal eingebracht. Die Vermutung, dass der Entzug von Wasser durch Papierspitzen die Wirkung beeinträchtigender Faktor ist, erscheint eher unwahrscheinlich. Im Hauptversuch wurden jedoch anstatt der Papierspitzen Zementstopfer angewendet. Sowohl die Vitalitätswerte als auch die CFU-Werte deuteten auf keinen Unterschied zwischen beiden Methoden hin (de Lucena et al., 2002).

Im Zuge des Hauptversuchs wurden vitale Bakterien in allen analysierten Proben beobachtet. Dies gilt für *S. sanguinis* und *E. faecalis*. Mit der klassischen CFU-Methode war nach vierwöchiger Ca(OH)_2 -Einlage nur *E. faecalis* anzüchtbar. Hingegen ließ sich *S. sanguinis* kulturmikrobiologisch nicht mehr nachweisen, obwohl auch bei *S. sanguinis* grün angefärbte Zellen nach Ca(OH)_2 -Anwendung in allen Dentinproben

entdeckt wurden (%VB_{Dp2} in Teil A: $\bar{x} = 27,7\%$ [KI: 12,8; 42,6] und in Teil B: $\bar{x} = 47,0\%$ [KI: 35,8; 58,2]). Nach Ca(OH)₂ Einsatz kam es zur Reduktion der CFU-Werte in den mit *E. faecalis* infizierten Dentinproben (CFU_{Dp2-Dp1} in Teil A: $\bar{x} = -0,8$ [KI: -4,0; 2,3]; in Teil B: $\bar{x} = -0,9$ [KI: -1,4; -0,4]). Eine der Proben zeigte kein Wachstum; im Flüssigmedium waren jedoch nach 24 Stunden wieder vergleichbaren Werte festzustellen (%VB_S: $\bar{x} = 64,7\%$ [KI: 64,0; 65,5]; CFU_S: $\bar{x} = 8,3$). *S. sanguinis* dagegen war in Flüssigkultur nicht in der Lage, sich innerhalb von 48 Stunden zu vermehren.

Im Wurzelkanalsystem wäre die Infektion mit *S. sanguinis* wahrscheinlich allein durch Einsatz von Ca(OH)₂ zu kontrollieren. Gegenstand der Diskussion ist, ob eine dichte Wurzelkanalfüllung die im Dentin verbliebenen Bakterien die Zufuhr von Substrat sicher verhindert und diese als Folge absterben (Peters et al., 1995, Siqueira Jr., 2001). Zur Prüfung dieser Hypothese wurden zwei Testgruppen integriert. Die Wurzelkanäle wurden mit zwei verschiedenen Arten der „Wurzelkanalfüllung“ (GP oder KS) für die Dauer von sechs Monate verschlossen.

Der Keramikstift als inertes Material diene als positive Kontrolle für die lateralkondensierte Guttaperchastifte. Die antibakterielle Wirkung von Guttapercha wurde beschrieben und geht auf den hohen Anteil von Zinkoxid zurück (Podbielski et al., 2000). Als Sealer wurde AH Plus benutzt. Dieser wurde im Vergleich zu anderen Sealer als antibakteriell (Kaplan et al., 1999) und weitgehend biokompatibel (Leonardo et al., 1999a) beschrieben.

Am Ende der Einlagezeit wurde eine erhöhte Vitalität in der KS-Gruppe (%VB_{Dp2-Dp1}: $\bar{x} = 14,9$ [KI: 7,4; 22,4]) beobachtet, im Gegensatz zur GP-Gruppe (%VB_{Dp2-Dp1}: $\bar{x} = -14,9$ [KI: -20,8; -9,0]). Die fehlende antimikrobielle Wirkung von KS erklärt wahrscheinlich, weswegen Bakterien nach 6 Monaten in größerer Anzahl noch vital blieben. Allerdings waren nach Anzucht keine Kolonien mehr nachweisbar. Die Gruppe GP dagegen zeigte eine deutlichere Wirkung gegenüber *S. sanguinis* im Vergleich zu der Gruppe mit Ca(OH)₂-Einlage. Die verbliebenen vitalen Bakterien waren vermutlich nicht mehr innerhalb des antibakteriellen Wirkungsbereichs. Wie in der KS-Gruppe waren auch diese Bakterien nicht mehr anzüchtbar.

Mit den vorliegenden Ergebnissen steht die Problematik der Durchführung einer Wurzelkanalbehandlung in einer oder mehreren Sitzungen im Zusammenhang. Hält man sich die seit Jahren bekannten Ergebnisse negativer Kulturen von

Wurzelkanalproben nach Ca(OH)_2 -Einlage vor Augen, bleiben wenige Argumente für eine einphasige Wurzelkanalbehandlung ohne Ca(OH)_2 . Den vorliegenden Ergebnisse zu Folge wären auch mit *E. faecalis* infizierten Proben mit dem Risiko behaftet, negative Kulturen zu liefern, wie eine unserer Proben belegte. Auch bei *S. sanguinis* waren alle Kulturproben negativ nach vierwöchiger Ca(OH)_2 -Einlage. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass sich die zurückgelassenen vitalen Bakterien erholen und später in Folge von Vermehrung zum Mißerfolg der Wurzelkanalbehandlung beitragen könnten. Unter Berücksichtigung klinischer Studien zeigt sich, dass offensichtlich Ca(OH)_2 nicht die Bedeutung bei der Heilung periapikalen Parodontitiden hat als angenommen (Weiger et al., 2000). Mit oder ohne Ca(OH)_2 als Zwischeneinlage war die Heilungswahrscheinlichkeit bei 90% innerhalb eines Beobachtungszeitraum von 5 Jahren bei Zähnen mit periapikalen Läsionen.

Enterokokken sind gegenüber Ca(OH)_2 bekanntlich resistent. Auch Ca(OH)_2 -enthaltende Guttaperchastifte zeigen im Vergleich zu CHX-Guttaperchastiften keinen Einfluss auf die Vermehrungsfähigkeit von *E. faecalis* (Podbielski et al., 2000). Deswegen war die Ca(OH)_2 -Gruppe mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten in der vorliegenden Studie die positive Kontrolle. Hingegen wirkt CHX gegen ein breites Spektrum von Gram-positiven und Gram-negativen Mikroorganismen, Hefen und Pilzen (Henessey, 1973, Davies, 1973, Fardal und Turnbuhl, 1986). Abhängig von der Konzentration kann CHX bakteriostatisch oder bakterizid wirken. Der bakteriostatische Effekt wird in Verbindung mit der Substantivität von CHX gebracht; CHX kann nach initialer Bindung an Oberflächen im Mund und an Hydroxylapatit langsam innerhalb von 24 Stunden wieder freigesetzt werden (Fardal und Turnbuhl, 1986). Daher wird CHX unter anderem zur Plaquekontrolle eingesetzt (Brex et al., 1990).

Seit einiger Zeit wird CHX als antimikrobielle Spüllösung oder medikamentöse Zwischeneinlage im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung diskutiert (Heling et al., 1992b, Vahdaty et al., 1993, Buck et al., 1999) mit guten klinischen Ergebnissen (Leonardo et al., 1999b). Die Zuverlässigkeit von CHX wurde auch in Bezug auf dessen Substantivität untersucht. Es zeigte sich eine verminderte Teilungsaktivität von *E. faecalis* nach einwöchiger Vorbehandlung von Wurzelentinscheiben in CHX-Lösung (0,2%) im Vergleich zu nicht vorbehandeltem Dentin (Komorowski et al., 2000).

Beim Einsatz von CHX während der Wurzelkanalbehandlung ist zu bedenken, dass CHX Pulpagewebe nicht auflöst und durch Proteine inaktiviert wird. Um dieser Problematik zu begegnen, wurden Untersuchungen durchgeführt, die CHX-Lösungen oder CHX-Gel mit Natriumhypochlorit kombiniert einsetzen. Natriumhypochlorit wird als potentes antimikrobielles Hilfsmittel zur Entfernung von Geweberesten bei der chemomechanischen Reinigung des Wurzelkanals empfohlen (Baumgartner und Cuenin, 1992, Oguntebi, 1994, Ayhan et al., 1999, Siqueira Jr. et al., 2000). Die antibakterielle Wirkung beider Substanzen gegenüber *E. faecalis* und *C. albicans*, zwei bekannten Pathogenen, ist ähnlich anzustufen (Vahdaty et al., 1993, Waltimo et al., 1999, Gomes et al., 2001). In Kombination ergab sich die stärkste antibakterielle Wirkung. Die Autoren vermuteten die mögliche Bildung von „Chlorhexidinchlorid“, wodurch die ionisierende Wirkung der CHX-Moleküle verstärkt werden soll (Kuruvilla und Kamath, 1998).

CHX-Gel (2%) wurde auf seine reinigende Wirkung im Wurzelkanal untersucht; nach Einsatz fanden sich saubere Wurzelkanalwände als nach Anwendung von Natriumhypochloritlösung (5,25%) und CHX-Lösung (2%). Es wurde vermutet, daß die Viskosität des Gel möglicherweise die mechanische Reinigung der Wurzelkanalwände vereinfacht, was die fehlende gewebeauflösende Wirkung kompensieren könnte (Ferraz et al., 2001). Die Substantivität ist bei einem CHX-Gel (2%) wahrscheinlich größer als bei anderen CHX-Präparaten. Die Wirksamkeit gegenüber *E. faecalis* blieb für weitere 21 Tage erhalten nach 7-tägiger Inkubation der Wurzelsegmente (Komorowski et al., 2000, Lenet et al., 2000).

In der vorliegenden Studie wurden zwei CHX-enthaltende Präparate ausgewählt. Ein experimentelles CHX-Gel mit höherer Chlorhexidindigluconatkonzentration (5%) wurde für die spezifischen Zwecke dieser Untersuchung von der Universitätsapotheke angefertigt. Die Einlagedauer bei den mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten betrug 4 Wochen. Auch Barthel et al. (2000) verwendeten ein 5%iges CHX-Gel. Darüber hinaus entspricht die CHX Konzentration der von CHX-haltigen Guttaperchastiften (CHX-GP), die zum Vergleich herangezogen wurden.

Aufgrund der Substantivität von CHX und zum Ausschluß dessen Wirkung, wurden alle Wurzelsegmente unmittelbar vor Entnahme der Dentinproben in einer

Inaktivierungslösung (Kampf et al., 1998) für 1 Minute geschüttelt, dort für 15 Minuten belassen und anschließend in Kochsalzlösung gewaschen.

Die mit CHX-Gel behandelten Wurzelsegmente zeigten im Durchschnitt nach vierwöchiger Liegedauer eine Reduktion der Vitalität von 10,3% [KI: -16,5; -4,1] (%VB_{Dp2-Dp1}). Es wurden bei allen Dentinproben vitale *E. faecalis* Zellen beobachtet; bei einem Wurzelsegment nahm die Vitalität zu. Nach vierwöchiger Applikation der CHX-Guttaperchastifte (CHX-GP) ließen sich in den Dentinproben von 5 Wurzelsegmenten keine vitalen Bakterien nachweisen. Die Vitalität ging im Mittel um 30,7% [KI: -36,5; -24,9] (%VB_{Dp2-Dp1}) zurück. Eine Zunahme der Vitalität wurde in keinem Fall beobachtet.

Nach Kultivierung der CHX angesetzten Proben bildete *E. faecalis* keine einzige Kolonie auf den Platten; auch in der Flüssigkultur ergab sich kein Hinweis auf Wachstum.

Die vorliegenden Ergebnisse für *E. faecalis* stimmen zum Teil mit denen anderer Autoren überein. Sie belegen die Resistenz von *E. faecalis* gegenüber Ca(OH)₂ (Haapasalo und Ørstavik, 1987, Siqueira Jr. und Uzeda, 1996, Haapasalo et al., 2000, Portenier et al., 2001). Zum anderen bestätigen diese die Überlegenheit von CHX-Guttaperchastiften im Vergleich zu dem CHX-Gel.

Haapasalo et al. (2000) und Portenier et al. (2001) untersuchten den Einfluß von Dentin auf die Wirkung verschiedener Medikamente und Spüllösungen. Es stellte sich heraus, daß alle Substanzen, einschließlich Ca(OH)₂ und CHX, dem „neutralisierenden“ Effekt von Dentin unterliegen. Andere Einflußgrößen waren die Konzentration und die Expositionszeit der getesteten Substanzen mit Dentin vor Kontakt mit *E. faecalis*. Die hohe Konzentration der in der vorliegenden Studie verwendeten Substanzen (CHX-Gel und CHX-GP) mag – trotz der vermutlich „neutralisierenden“ Wirkung von Dentin – den beobachteten antibakteriellen Effekt erklären, der sich zumindest nach kulturmikrobiologischer Anzucht bei allen hier getesteten Substanzen fand. Den Ergebnissen der Vitalfärbung zu Folge gingen nur nach Anwendung von CHX-GP aller Bakterien bei der Hälfte der analysierten Dentinproben zugrunde. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass CHX und Zinkoxid, welches in den Guttaperchastiften enthalten ist, sich in ihrer Wirkung potenzieren (Podbielski et al., 2000).

Schlußfolgerungen

Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin,

- dass die Vitalfärbung mit Syto 9 / Propidiumjodid eine geeignete Methode zur Bestimmung des Vitalitätszustands von verbliebenen Bakterien im Wurzelkollagen ist,
- dass die klassische Kultivierung von Wurzelkanalproben eine unzureichende Methode zum Nachweis von Bakterien im Wurzelkanalsystem ist. Es besteht das Risiko von falsch negativen Ergebnissen.

Weiterhin läßt sich unter Berücksichtigung der Limitierungen experimenteller Untersuchungen festhalten,

- dass *S. sanguinis* und *E. faecalis* in der Lage sind, menschliches Dentin zu infizieren und in der Tiefe der Dentinkanälchen für mindestens 6 Monate, im Fall von *S. sanguinis*, zu überleben, jedoch ohne Anzeichen von Teilungsaktivität zu zeigen,
- dass mit CHX-Präparaten im Wurzelkanal eine zuverlässige Desinfektion im Hinblick auf *E. faecalis* möglich ist,
- dass Calciumhydroxid zur Eliminierung resistenter im Wurzelkollagen zurückgebliebener Bakterien – insbesondere *E. faecalis* – ungeeignet ist.

Aus den Ergebnissen läßt sich für das praktische Vorgehen bei therapieresistenter apikaler Parodontitis weiterhin ableiten,

- dass sich CHX-Präparate - nach vollständiger Wurzelkanalaufbereitung und Einsatz von Natriumhypochlorit – als ergänzende abschließende Spüllösung und medikamentöse Einlage zur Beherrschung einer von *E. faecalis* dominierten Infektion eignen,
- dass sich CHX in Form von CHX-haltigen Guttaperchastiften (oder als CHX-Gel, sofern verfügbar!) als Zwischeneinlage für 4 Wochen anbietet.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Ziel konzipiert, den Vitalitätszustand von im Wurzelkambium verbliebenen Bakterien nach Applikation von medikamentösen Einlagen bzw. nach Wurzelkanalfüllung zu charakterisieren. Hierzu sollten menschliche Zähne verwendet werden. Zur Bestimmung des Lebend-/Totanteils sollte die Fluoreszenzfärbung eingeführt und dieser als Maß für den Vitalitätszustand von Mikroorganismen mit den Ergebnissen klassischer Kultivierungsmethoden verglichen werden.

Im Vorversuch wurden 24 vorbereitete Wurzelsegmente extrahierter menschlicher Zähne, die jeweils mit *Streptococcus sanguinis* bzw. *Enterococcus faecalis* infiziert wurden, 2 Kontrollgruppen und 2 Testgruppen zugeteilt. In beiden Gruppen wurden nach 4 Wochen u. a. Dentinproben entnommen. Die Wurzelsegmente wurden für weitere 4 Wochen der jeweiligen Bakterien suspension ausgesetzt. In der Kontrollgruppe (n=2 x 6) folgte wiederum eine Dentinprobenentnahme, während in der Testgruppe (n=2 x 6) die Wurzelsegmente mit Calciumhydroxidpaste gefüllt wurden. Nach weiteren 4 Wochen wurde die Ca(OH)₂-Paste entfernt und die Wurzelkambiumproben entnommen. Zur näheren Charakterisierung des Vitalitätszustands wurden der Anteil vitaler Bakterien (%VB) sowie die Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml) für jede Probe ermittelt.

Im Hauptversuch wurden nach Detailoptimierung des Versuchsaufbaus 60 Wurzelsegmente 6 Gruppen (n= 6 x 10) zugeordnet. In die mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente wurde Ca(OH)₂, lateral kondensierte Guttaperchastifte mit Sealer („GP“) oder paßgenaue Keramikstifte („KS“) als „Wurzelkanalfüllmaterial“ eingebracht. Ca(OH)₂ verblieb 4 Wochen, die „Wurzelkanalfüllmaterialien“ 24 Wochen im Wurzelkanal. Die mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmente wurden mit Ca(OH)₂, einem experimentellen Chlorhexidingel (5%iges „CHX-Gel“) oder mit chlorhexidinhaltigen Guttaperchastiften („CHX-GP“) als medikamentöse Wurzelkanaleinlage versehen. Die Liegedauer betrug einheitlich 4 Wochen. Dentinproben der Dentinwand wurden nach 4, 12 [Ca(OH)₂, „CHX-Gel“ und „CHX-GP“] und 32 Wochen („GP“ und „KS“) entnommen. Der Vitalitätszustand wurde anhand von %VB und CFU/mg abgeschätzt.

Das Studienmodell eignete sich zur Bestimmung des Anteils vitaler im Wurzelkanal verbliebenen Bakterien. Die fluoreszenzmarkierten Bakterien ließen sich deutlich von den Dentinspänen trotz derer Eigenfluoreszenz unterscheiden.

In allen Proben des Vorversuchs ließen sich vitale und avitale Bakterien nachweisen. %VB lag in der Mehrzahl der Fälle unter 50%. In der Kontrollgruppe wurden nach 4 und 8 Wochen ähnliche Werte für %VB und CFU festgestellt. Dies belegt, dass die Verhältnisse auf ein Wurzelsegment bezogen weitgehend reproduzierbar waren und die Werte zum Zeitpunkt Woche 4 als individuelle Referenzwerte herangezogen werden konnten. In der Testgruppe wurden im Fall von *S. sanguinis* nach vierwöchiger Ca(OH)₂-Einlage noch vitale Bakterien im Wurzelkandentin festgestellt, obwohl sich diese Proben konventionell nicht anzüchten ließen. Die mit *E. faecalis* infizierten Proben wiesen erhöhte %VB-Werte und Bakterienwachstum trotz Exposition mit Calciumhydroxid auf.

Im Hauptversuch bestätigten sich die Ergebnisse des Vorversuchs in Bezug auf die Wirkung von Ca(OH)₂ gegenüber *S. sanguinis* und *E. faecalis*. Im Fall der mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente resultierte die Obturation des Wurzelkanals in einem Rückgang von CFU unterhalb der Nachweisgrenze. Die KS-Gruppe wies erhöhte %VB-Werte in Woche 32 auf. Hingegen stellten sich in der GP-Gruppe deutlich niedrigere %VB-Werte von durchschnittlich 21,8% ein. Bei den mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmenten erzielten die CHX-GP-Stifte die niedrigsten %VB-Werte. Eine Reduktion von %VB von durchschnittlich 34,2% auf 3,5% wurde festgestellt. Das CHX-Gel zeigte ebenfalls niedrigere Vitalitätswerte. In beiden Fällen war kein Wachstum nach Entfernung der Medikamente nachweisbar.

Zusammenfassend ergibt sich, dass der Vitalitätszustand von Bakterien im Wurzelkandentin durch alleinige Wurzelkanalfüllung oder geeignete medikamentöse Einlagen beeinflusst werden kann. Die Obturation des Wurzelkanals führte bei *S. sanguinis* zu einem Rückgang der vitalen und teilungsaktiven Bakterien, ohne dass auf eine vorherige antibakterielle Einlage zurückgegriffen werden muss. Im Falle von *E. faecalis* führte CHX als Einlage im Gegensatz zu Calciumhydroxid zu einer deutlichen Reduktion von vitalen und teilungsaktiven Zellen.

6. Literaturverzeichnis

- Adriaens, P. A., de Boever, J. A. und Loesche, W. J. (1988)
Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans.
J Periodontol 59, 222-230
- Akpata, E. S. und Blechman, H. (1982)
Bacterial invasion of pulpal dentin wall *in vitro*.
J Dent Res 61, 435-438
- Ando, N. und Hoshino, E. (1990)
Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine.
Int Endod J 23, 20-27
- Ayhan, H., Sultan, N., Çirak, M., Ruhi, M. Z. und Bodur, H. (1999)
Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms.
Int Endod J 32, 99-102
- Barer, M. R. und Harwood, C. R. (1999)
Bacterial viability and culturability.
Adv Microb Physiol 41, 93-137
- Barthel, C. R., Zimmer, S., West, G. und Roulet, J.-P. (2000)
Bacterial leakage in obturated root canals following the use of different intracanal medicaments.
Endod Dent Traumatol 16, 282-286
- Baumgartner, J. C. und Cuenin, P. R. (1992)
Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation.
J Endod 18, 605-612
- Blomlöf, L., Lengheden, A. und Lindskog, S. (1992)
Endodontic infection and calcium hydroxide-treatment. Effects on periodontal healing in mature and immature replanted monkey teeth.
J Clin Periodontol 19, 652-658
- Bogosian, G., Morris, P. J. L. und O'Neil, J. P. (1998)
A mixed culture recovery method indicates that enteric bacteria do not enter the viable but nonculturable state.
Appl Environ Microbiol 64, 1736-1742
- Brecx, M., Netuschil, L., Reichert, B. und Schreil, G. (1990)
Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses on plaque, gingivitis and plaque bacteria vitality.
J Clin Periodontol 17, 292-297

- Buck, R. A., Cai, J., Eleazer, P. D., Staat, R. H. und Hurst, H. E. (2001)
Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide.
J Endod 27, 325-327
- Buck, R., Eleazer, P. D. und Staat, R. H. (1999)
In vitro disinfection of dentinal tubules by various endodontics irrigants.
J Endod 25, 786-788
- Byström, A., Cleasson, R. und Sundqvist, G. (1985)
The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol
and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals.
Endod Dent Traumatol 1, 170-175
- Chailertvanitkul, P., Saunders, W. P. und Mackenzie, D. (1996)
The effect of smear layer on microbial coronal leakage of gutta-percha root fillings.
Int Endod J 29, 242-248
- Davies, A. (1973)
The mode of action of chlorhexidine.
J Periodontol Res 8, 68-75
- Decker, E.-M. (2001)
The ability of direct fluorescence-based, two-colour assays to detect different
physiological states of oral streptococci.
Lett Appl Microbiol 33, 188-192
- Decker, E.-M. und Weiger, R. (1998)
Cell vitality of *Streptococcus sanguinis* in growth cultures.
J Dent Res 77, 984 (Abstract 2824)
- Estrela, C., Bammann, L. L., Pimenta, F. C. und Pécora, J. D. (2001)
Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes.
Int Endod J 34, 341-345
- Fardal, O. und Turnbuhl, R. S. (1986)
A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry.
J Am Dent Assoc 112, 863-869
- Ferraz, C. C. R., Gomes, B. P. F. A., Zaia, A. A., Teixeira, F. B. und Souza-Filho, F. J.
(2001)
In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of
chlorhexidine gel as an endodontic irrigant.
J Endod 27, 452-455

Gomes, B. P. F. A., Ferraz, C. C. R., Vianna, M. E., Berber, V. B., Teixeira, F. B. und Souza-Filho, F. J. (2001)

In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*.

Int Endod J 34, 424-428

Haapasalo, H. K., Sirén, E. K., Waltimo, T. M. T., Ørstavik, D. und Haapasalo, M. P. P. (2000)

Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study.

Int Endod J 33, 126-131

Haapasalo, M. und Ørstavik, D. (1987)

In vitro infection and disinfection of dentinal tubules.

J Dent Res 66, 1375-1379

Heling, I. und Chandler, N. P. (1998)

Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules.

Int Endod J 31, 8-14

Heling, I., Sommer, M., Steinberg, D., Friedman, M. und Sela, M. N. (1992a)

Microbiological evaluation of the efficacy of chlorhexidine in a sustained-release device for dentine sterilization.

Int Endod J 25, 15-19

Heling, I., Steinberg, D., Kenig, S., Gavrilovich, I., Sela, M. N. und Friedman, M. (1992b)

Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules.

Int Endod J 25, 20-24

Henessey, T. D. (1973)

Some antibacterial properties of chlorhexidine.

J Periodontol Res 8, 61-67

Takehashi, S., Stanley, H. R., Fitzgerald, R. J. (1965)

The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats.

Oral Surg 20, 340-349

Kampf, G., Höfer, M. und Rüden, H. (1998)

Inaktivierung von Chlorhexidine bei der *in vitro* Desinfektionsmitteltestung.

Zentralbl Hyg Umweltmed 200, 457-464

Kaplan, A. E., Picca, M., Gonzales, M. I., Macchi, R. L. und Molgatini, S. L. (1999)

Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an *in vitro* evaluation.

Endod Dent Traumatol 15, 42-45

- Kaprelyants, A. S., Gottschal, J. C. und Kell, D. B. (1993)
Dormancy in non-sporulating bacteria.
FEMS Microbiol Rev 104, 271-286
- Komorowski, R., Grad, H., Wu, X. Y. und Friedman, S. (2000)
Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentine.
J Endod 26, 315-317
- Kuruville, J. R. und Kamath, M. P. (1998)
Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants.
J Endod 24, 472-476
- Lenet, B. J., Komorowski, R., Wu, X. Y., Huang, J., Grad, H., Lawrence, H. P. und Friedman, S. (2000)
Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles.
J Endod 26, 652-655
- Leonardo, M. R., Silva, L. A. B., de Almeida, W. A. und Utrilla, L. S. (1999a)
Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer.
Endod Dent Traumatol 15, 28-32
- Leonardo, M. R., Tanomaru Filho, M., Silva, L. A. B., Nelson Filho, P., Bonifácio, K. C. und Ito, I. Y. (1999b)
In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution.
J Endod 25, 167-171
- Lin, L. M., Pascon, E. A., Skribner, J., Gaengler, P. und Langeland, K. (1991)
Clinical, radiographic, and histopathological study of endodontic treatment failures.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 71, 603-611
- Love, R. M. (2001)
Enterococcus faecalis – a mechanism for its role in endodontic failure.
Int Endod J 34, 399-405
- Love, R. M., Chandler, N. P. und Jenkinson, H. F. (1996)
Penetration of smeared or nonsmeared dentine by *Streptococcus gordonii*.
Int Endod J 29, 2-12
- Mason, C. A., Hamer, G. und Bryers, J. D. (1986)
The death and lysis of microorganisms in environmental processes.
FEMS Microbiol Rev 39, 373-401

- Molander, A., Reit, C. und Dahlén, G. (1999)
The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide.
Endod Dent Traumatol 15, 205-209
- Molander, A., Reit, C., Dahlén, G. und Kvist, T. (1998)
Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis.
Int Endod J 31, 1-7
- Nagaoka, S., Miyazaki, Y., Liu, H.-J., Iwamoto, Y., Kitano, M. und Kawagoe, M. (1995)
Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth.
J Endod 21, 70-73
- Nair, R. P. N. (1987)
Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions.
J Endod 13, 29-39
- Nair, R. P. N., Sjögren, U., Krey, G., Kahnberg, K.-E. und Sundqvist, G. (1990)
Intraradicular bacteria and fungi in root-filled asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study.
J Endod 16, 580-588
- Nebe-von Caron, G., Stephens, P. und Badley, R. A. (1998)
Assessment of bacterial viability status by flow cytometry and single cell sorting.
J Appl Microbiol 84, 988-998
- Nelson Filho, P., Bezerra Silva, L. A., Leonardo, M. R., Utrilla, L. S. und Figueiredo, F. (1999)
Connective tissue responses to calcium hydroxide-based root canal medicaments.
Int Endod J 32, 303-311
- Netuschil, L. (1983)
Vitalfärbung von Plaque-Mikroorganismen mit Fluoresceindiacetat und Ethidiumbromid.
Dtsch zahnärztl Z 38, 914-917
- Netuschil, L., Barthold, G. und Brecx, M. (1991)
Vitalfluoreszenzfärbung von Plaque auf Kunststoff-Filmen mit Fluoresceindiacetat und Ethidiumbromid.
Z Stomatol 88, 147-153
- Netuschil, L., Reich, E. und Brecx, M. (1989)
Direct measurement of the bactericidal effect of chlorhexidine on human dental plaque.
J Clin Periodontol 16, 484-488

- Oguntebi, B. R. (1994)
Dentine tubule infection and endodontic therapy implications.
Int Endod J 27, 218-222
- Oliver, J. D. (1995)
The viable but non-culturable state in the human pathogen, *Vibrio fulnificus*.
FEMS Microbiol Lett 133, 203-208
- Ørstavik, D. und Haapasalo, M. (1990)
Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules.
Endod Dent Traumatol 6, 142-149
- Pashley, D., Okabe, A. und Parham, P. (1985)
The relationship between dentin microhardness and tubule density.
Endod Dent Traumatol 1, 176-179
- Perez, F., Calas, P. und Rochd, T. (1996)
Effect of dentin treatment on in vitro root tubule bacterial invasion.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 82, 446-451
- Perez, F., Rochd, T., Lodter, J.-P., Calas, P. und Michel, G. (1993)
In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 76, 97-103
- Peters, L. B., Wesselink, P. R. und Moorer, W. R. (1995)
The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules.
Int Endod J 28, 95-99
- Peters, L. B., Wesselink, P. R., Buijs, J. F. und van Winkelhoff, A. J. (2001)
Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis.
J Endod 27, 76-81
- Peters, L., Wesselink, P. R. und Moorer, W. R. (2000)
Penetration of bacteria in bovine root dentine *in vitro*.
Int Endod J 33, 28-36
- Podbielski, A., Boeckh, C. und Haller, B. (2000)
Growth inhibitory activity of gutta-percha points containing root canal medications on common endodontic bacterial pathogens as determined by an optimized quantitative *in vitro* assay.
J Endod 26, 398-403
- Portenier, I., Haapasalo, H., Rye, A., Waltimo, T., Ørstavik, D. und Haapasalo, M. (2001)
Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin.
Int Endod J 34, 184-188

- Safavi, K. und Nakayama, T. A. (2000)
Influence of mixing vehicle on dissociation of calcium hydroxide in solution.
J Endod 26, 649-651
- Safavi, K., Dowden, W.E., Introcaso, J. H. und Langeland, K. (1985)
A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide.
J Endod 11, 454-456
- Schäfer, E. und Al Behaissi, A. (2000)
pH changes in root dentin after root canal dressing with gutta-percha points containing calcium hydroxide.
J Endod 26, 665-667
- Schilke, R., Lisson, J. A., Bauß, O. und Geurtsen, W. (2000)
Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation.
Arch Oral Biol 45, 355-361
- Schmalz, G., Hiller, K.-A., Nunez, L. J., Stoll, J. und Weis, K. (2001)
Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions.
J Endod 27, 23-30
- Sen, B. H., Piskin, B. und Demirci, T. (1995a)
Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM.
Endod Dent Traumatol 11, 6-9
- Sen, B. H., Wesselink, P. R. und Türkün, M. (1995b)
The smear layer: a phenomenon in root canal therapy.
Int Endod J 28, 141-148
- Siqueira Jr., J. F. (2001)
Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail.
Int Endod J 34, 1-10
- Siqueira Jr., J. F. und de Uzeda, M. (1996)
Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligates and one facultative anaerobic bacteria.
J Endod 22, 674-676
- Siqueira Jr., J. F. und Lopes, H. P. (1999)
Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review.
Int Endod J 32, 361-369

Siqueira Jr., J. F., Araújo, M. C. P., Filho, P. F. G., Fraga, R. C. und Saboia Dantas, C. J. (1997)

Histological evaluation of the effectiveness of five instrumentation techniques for cleaning the apical third of root canals.

J Endod 23, 499-502

Siqueira Jr., J. F., de Uzeda, M. und Fonseca, M. E. F. (1996)

A scanning electron microscopic evaluation of *in vitro* dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria.

J Endod 22, 308-310

Siqueira Jr., J. F., Rôças, I. N., Favieri, A. und Lima, K. C. (2000)

Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite.

J Endod 26, 331-334

Siren, E. K., Haapasalo, M. P. P., Ranta, K., Salmi, P. und Kerosuo, E. N. (1997)

Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation.

Int Endod J 30, 91-95

Sjögren, U., Figdor, D., Persson, S. und Sundqvist, G. (1997)

Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis.

Int Endod J 30, 297-306

Sundqvist, G. (1976)

Bacteriological studies of necrotic dental pulps.

Umea University Odontological Dissertations

Sundqvist, G., Figdor, D., Persson, S. und Sjögren, U. (1998)

Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 85, 86-93

Trope, M., Delano, O. und Ørstavik, D. (1999)

Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment.

J Endod 25, 345-350

Vahdaty, A., Pitt Ford, T. R. und Wilson, R. F. (1993)

Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules *in vitro*.

Endod Dent Traumatol 9, 243-248

Waltimo, T. M. T., Ørstavik, D., Sirén, E. K. und Haapasalo, M. P. P. (1999)

In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations.

Int Endod J 32, 421-429

Weiger, R. und Löst, C. (1993)
Mikrobielle Infektion des Endodonts.
Endodontie 1, 15-23

Weiger, R., Axmann-Krcmar, D. und Löst, C. (1998a)
Prognosis of conventional root canal treatment reconsidered.
Endod Dent Traumatol 14, 1-9

Weiger, R., Decker, E.-M., Krastl, G. und Brex, M. (1999)
Deposition and retention of vital and dead *Streptococcus sanguinis* cells to glass surfaces in a flow chamber system.
Arch Oral Biol 44, 621-628

Weiger, R., Friedrich, C., Netuschil, L. und Schlagenhaut, U. (1994)
Effect of chlorhexidine-containing Varnish (Cervitec[®]) on microbial vitality and accumulation of supragingival dental plaque in humans.
Caries Res 28, 267-271

Weiger, R., Netuschil, L., Wester-Ebbinghaus, T. und Brex, M. (1998b)
An approach to differentiate between antibacterial and antiadhesive effects of mouthrinses *in vivo*.
Arch Oral Biol 43, 559-565

Weiger, R., Rosendahl, R. und Löst, C. (2000)
Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions.
Int Endod J, 33, 219-226

Weiger, R., von Ohle, C., Decker, E.-M., Axmann-Krcmar, D. und Netuschil, L. (1997)
Vital microorganisms in early supragingival dental plaque and in stimulated human saliva.
J Periodontol Res 32, 233-240

7. Anhang

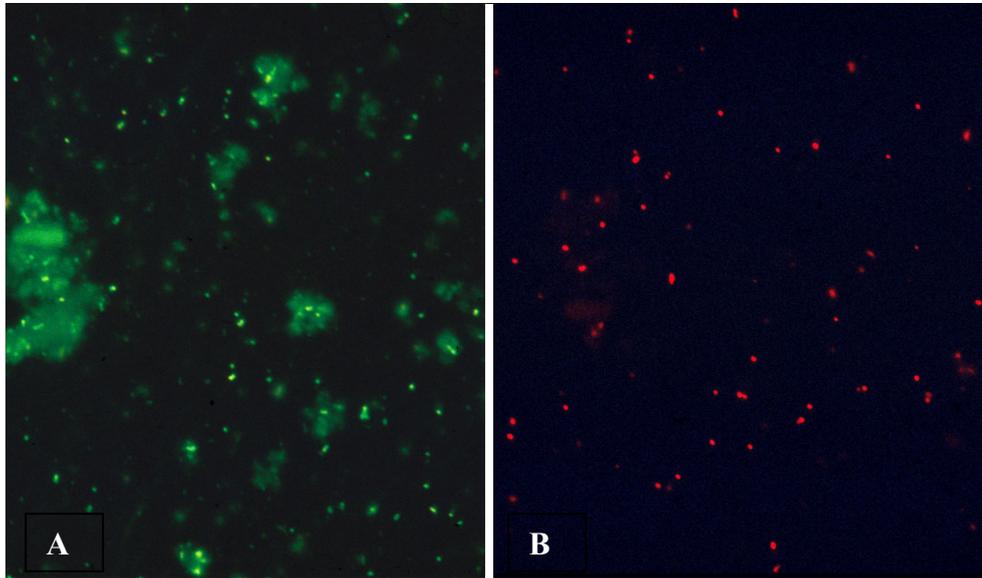


Abb. 16. *S. sanguinis*: Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach vierwöchiger $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Einlage. A. Vitale Bakterien fluoreszieren grün (FITC: 450-490 nm). B. Avitale Bakterien fluoreszieren rot (Rhodamin: 540 nm). In dieser Probe wurde ein %VB-Wert von 37,5% festgestellt.

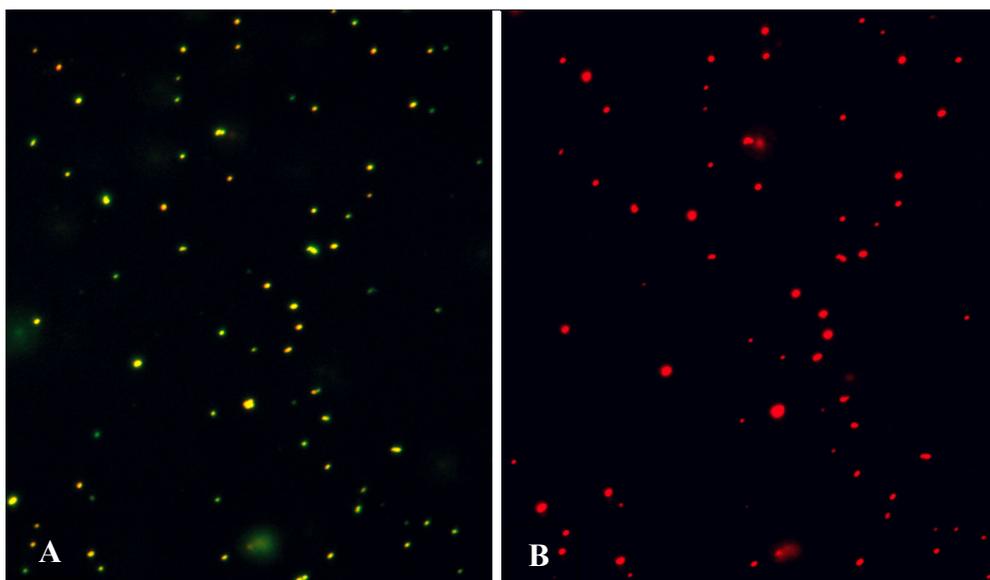


Abb. 17. *S. sanguinis*: Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzelentinprobe nach 24 Wochen Wurzelkanalfüllung mit Guttaperchastiften und AH Plus. A. Vitale Bakterien fluoreszieren grün (FITC: 450-490 nm). B. Avitale Bakterien fluoreszieren rot (Rhodamin: 540 nm). In dieser Probe lag der %VB-Wert bei 15,2%.

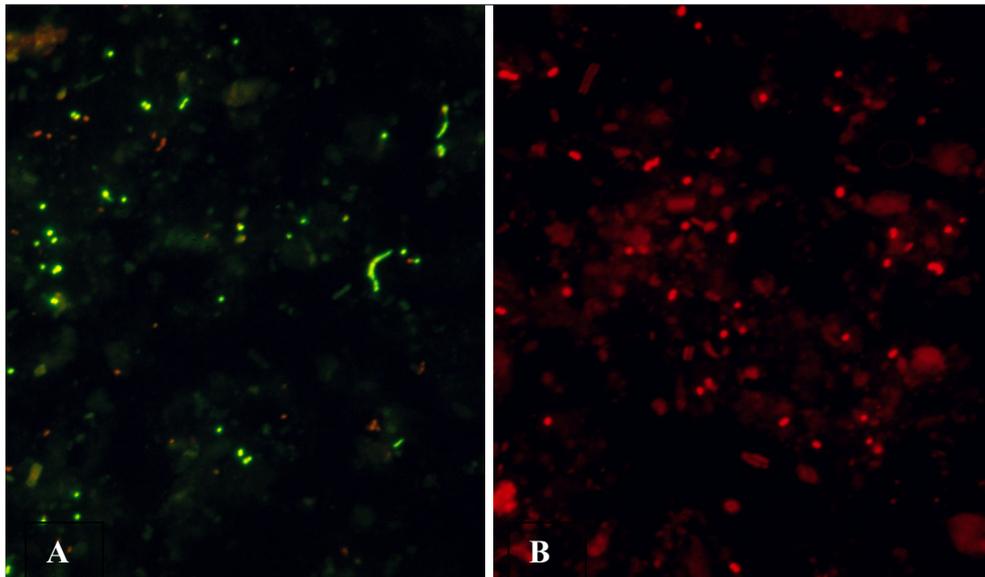


Abb. 18. *E. faecalis*: Beispiel einer fluoreszenzmarkierten Wurzel dentinprobe nach vierwöchiger Ca(OH)_2 -Einlage. A. Vitale Bakterien fluoreszieren grün (FITC: 450-490 nm). B. Avitale Bakterien fluoreszieren rot (Rhodamin: 540 nm). In dieser Probe wurde einen %VB-Wert von 78,0 % festgestellt.

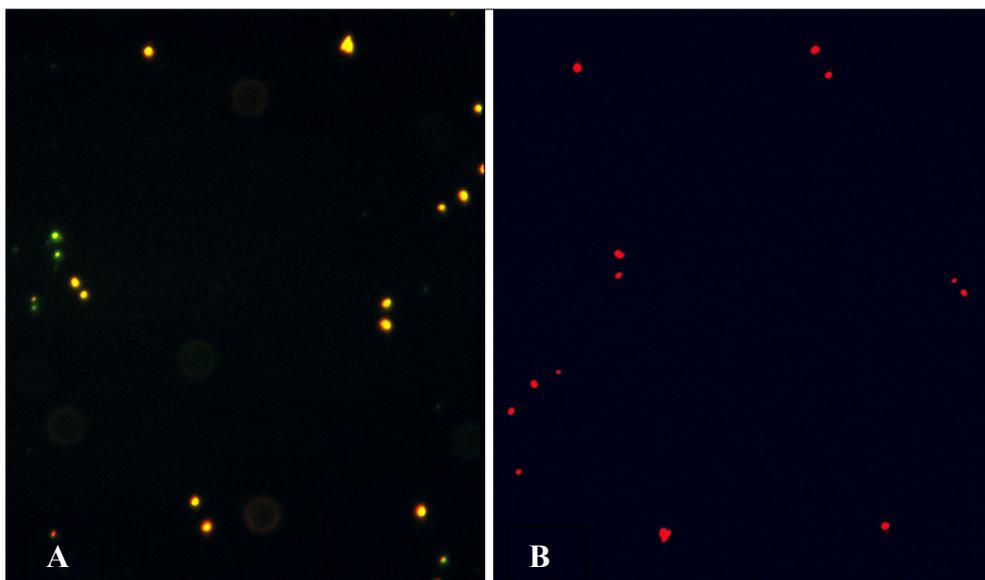


Abb. 19. *E. faecalis*: Beispiel einer nach vierwöchiger CHX-GP-Einlage angefärbten Wurzel dentinprobe. A. Vitale Bakterien fluoreszieren grün (FITC: 450-490 nm). B. Avitale Bakterien fluoreszieren rot (Rhodamin: 540 nm). In dieser Probe lag der %VB-Wert bei 16,1%.

Tabelle 5. *S. sanguinis* – Woche 4: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml), Bakteriengsamtzahl (log CFU/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml).

Ss1 ... Ss12 = Verschiedene mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanalentin; φ = Nicht auswertbare Probe;
 \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₁	K ₁	Dp ₁	S ₁	K ₁	Dp ₁	S ₁	K ₁	Dp ₁
Ss1	60,0	28,0	58,4	8,5	6,6	6,9	7,2	4,7	3,8
Ss2	75,0	67,9	12,7	9,2	7,2	7,3	10,3	φ	6,3
Ss3	60,0	52,2	20,4	8,9	7,7	8,2	10,1	7,2	8,2
Ss4	55,0	23,5	31,6	9,2	7,3	8,4	10,3	7,7	9,0
Ss5	50,0	26,9	26,4	8,8	7,5	8,0	8,2	6,2	5,9
Ss6	60,0	35,6	36,3	8,8	7,5	7,6	7,6	6,2	6,1
\bar{X}	60,0	39,0	31,0	8,9	7,3	7,7	8,9	6,4	6,5
s	8,4	17,5	15,8	0,3	0,4	0,6	1,5	1,1	1,9
95% KI	[51,2; 68,8]	[20,7; 57,3]	[14,4; 47,6]	[8,6; 9,2]	[6,9; 7,7]	[7,1; 8,3]	[7,4; 10,4]	[5,0; 7,8]	[4,6; 8,4]
Testgruppe									
Ss7	60,0	27,7	34,0	9,6	7,3	8,1	10,7	7,4	7,9
Ss8	65,0	48,0	38,1	9,6	8,0	9,1	11,2	8,5	9,6
Ss9	65,0	41,1	52,0	8,7	7,4	7,9	8,0	5,9	5,9
Ss10	55,0	34,2	42,0	8,8	7,7	7,4	7,9	5,8	5,8
Ss11	60,0	36,5	27,8	8,5	7,5	8,2	8,0	6,0	6,0
Ss12	60,0	23,9	24,1	8,3	7,4	8,2	7,3	5,3	5,8
\bar{X}	60,8	35,2	36,3	8,9	7,5	8,1	8,8	6,5	6,8
s	3,8	8,8	10,1	0,6	0,3	0,6	1,7	1,2	1,6
95% KI	[56,9; 64,7]	[26,0; 44,4]	[25,7; 46,9]	[8,2; 9,6]	[7,2; 7,8]	[7,6; 8,7]	[7,1; 10,6]	[5,2; 7,8]	[5,2; 8,5]

Tabelle 6. *S. sanguinis* – Woche 4: Differenzwerte zwischen den Proben.

Ss1 ... Ss12 = Verschiedene mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanaldentin; φ = Nicht auswertbare Probe;
 \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁
Ss1	-32,0	-1,6	30,4	-1,9	-1,6	0,4	-2,4	-3,3	-0,9
Ss2	-7,1	-62,3	-55,3	-2,0	-2,0	0,0	-10,3	-4,0	6,3
Ss3	-7,8	-39,6	-31,8	-1,2	-0,7	-0,5	-2,9	-1,9	1,0
Ss4	-31,5	-23,4	8,1	-1,9	-0,8	1,1	-2,7	-1,3	1,4
Ss5	-23,1	-23,6	-0,5	-1,4	-0,8	0,6	-2,0	-2,3	-0,4
Ss6	-24,4	-23,7	0,7	-1,3	-1,2	0,1	-1,4	-1,5	-0,2
\bar{X}	-21,0	-29,0	-8,1	-1,6	-1,2	0,3	-3,6	-2,4	1,2
s	11,1	20,3	30,5	0,4	0,5	0,5	3,3	1,1	2,6
95% KI	[-32,6; -9,4]	[-50,3; -7,7]	[-40,1; 23,9]	[-2,0; -1,2]	[-1,7; -0,7]	[-0,2; 0,8]	[-7,1; -0,1]	[-3,5; -1,3]	[-1,5; 2,9]
Testgruppe									
Ss7	-32,3	-26,0	6,3	-2,4	-1,5	0,8	-3,4	-2,8	-0,6
Ss8	-17,0	-26,9	-9,9	-1,5	-0,5	1,0	-2,7	-1,7	1,1
Ss9	-23,9	-13,0	10,9	-1,3	-0,8	-0,5	-2,0	-2,0	0,0
Ss10	-20,8	-13,0	7,8	-1,1	-1,4	-0,3	-2,1	-2,1	-0,1
Ss11	-23,5	-32,2	-8,7	-1,1	-0,3	0,8	-2,0	-2,0	0,0
Ss12	-36,1	-35,9	0,3	-0,9	-0,1	0,8	-2,1	-1,5	0,5
\bar{X}	-25,6	-24,5	1,1	-1,4	-0,8	0,4	-2,4	-2,0	0,2
s	7,2	9,6	8,8	0,5	0,6	0,7	0,6	0,4	0,6
95% KI	[-33,1; -18,1]	[-34,6; -14,4]	[-8,1; 10,2]	[-1,9; -0,9]	[-1,4; -0,2]	[-0,3; 1,1]	[-3,0; -1,8]	[-2,4; -1,6]	[-0,4; 0,8]

Tabelle 7. *S. sanguinis* - Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und 12 (Testgruppe): Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml).

Ss1 ... Ss12 = Verschiedene mit *S. sanguinis* infizierte Wurzelsegmente; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalentin – Woche 8 (Kontrollgruppe); Dp₂ * = Wurzelkanalentin – Woche 12 (Testgruppe); φ = Nicht auswertbare Probe; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment Kontrollgruppe	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₂	K ₂	Dp ₂	S ₂	K ₂	Dp ₂	S ₂	K ₂	Dp ₂
Ss1	65,0	42,2	22,7	9,5	8,1	8,5	12,0	8,6	9,3
Ss2	70,0	47,8	36,0	9,4	8,4	9,4	10,7	8,9	8,9
Ss3	65,0	33,2	24,4	9,1	7,9	8,1	9,2	7,4	8,6
Ss4	75,0	42,3	33,6	9,6	8,2	8,4	10,8	8,2	10,1
Ss5	70,0	27,4	42,5	8,9	8,0	8,3	φ	φ	φ
Ss6	70,0	48,6	53,9	8,4	7,7	8,2	6,8	5,2	6,4
\bar{X}	69,2	40,2	35,5	9,2	8,1	8,5	9,9	7,7	8,7
s	3,8	8,4	11,7	0,4	0,2	0,5	2,0	1,5	1,4
95% KI	[65,3; 73,1]	[31,5; 49,0]	[23,3; 47,7]	[8,7; 9,7]	[7,7; 8,3]	[8,0; 9,0]	[7,4; 12,4]	[5,8; 9,5]	[7,0; 10,4]
Testgruppe			Dp₂*			Dp₂*			Dp₂*
Ss7	65,0	41,0	12,5	8,9	7,8	7,8	φ	φ	φ
Ss8	70,0	37,1	16,4	8,9	8,1	8,3	8,2	5,9	φ
Ss9	55,0	40,6	23,4	8,6	8,2	7,9	7,4	5,9	φ
Ss10	65,0	40,1	25,7	8,5	7,9	7,7	5,7	4,6	φ
Ss11	60,0	49,3	51,0	8,8	7,9	7,1	6,0	5,8	φ
Ss12	60,0	48,8	37,2	8,7	7,9	7,8	6,6	5,5	φ
\bar{X}	62,5	42,8	27,7	8,7	8,0	7,8	6,8	5,6	φ
s	5,2	5,0	14,2	0,2	0,1	0,4	1,0	0,6	φ
95% KI	[57,0; 68,0]	[37,5; 48,1]	[12,8; 42,6]	[8,6; 8,9]	[7,8; 8,1]	[7,3; 8,2]	[5,5; 8,0]	[4,8; 6,3]	φ

Tabelle 8. *S. sanguinis* - Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und 12 (Testgruppe): Differenzwerte zwischen den Proben.

Ss1 ... Ss12 = Verschiedene mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalentin – Woche 8 (Kontrollgruppe); Dp₂ * = Wurzelkanalentin - Woche 12 (Testgruppe); φ = Bei nicht auswertbare Proben nach 4, 8 oder 12 Wochen wurde kein Differenz berechnet; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	K ₂ - S ₂	Dp ₂ - S ₂	Dp ₂ - K ₂	K ₂ - S ₂	Dp ₂ - S ₂	Dp ₂ - K ₂	K ₂ - S ₂	Dp ₂ - S ₂	Dp ₂ - K ₂
Kontrollgruppe									
Ss1	-22,8	-42,3	-19,5	-1,4	-1,0	-0,4	-3,4	-2,8	-0,7
Ss2	-22,2	-34,0	-11,9	-1,0	0,0	1,0	-1,8	-1,8	0,0
Ss3	-31,8	-40,6	-8,8	-1,2	-1,0	0,2	-1,9	-0,6	1,2
Ss4	-32,7	-41,4	-8,7	-1,5	-1,2	0,2	-2,6	-0,7	1,9
Ss5	-42,6	-27,5	15,2	-0,9	-0,5	0,3	φ	φ	φ
Ss6	-21,4	-16,1	5,3	-0,7	-0,2	0,5	-1,7	-0,4	1,3
\bar{X}	-28,9	-33,6	-4,7	-1,1	-0,7	0,3	-2,3	-1,2	0,7
s	8,4	10,3	12,6	0,3	0,5	0,5	0,7	1,0	1,0
95% KI	[-37,7; -20,1]	[-44,4; -22,8]	[-18,0; 8,5]	[-1,4; -0,8]	[-1,2; -0,1]	[-0,2; 0,8]	[-3,2; -1,3]	[-2,5; 0,0]	[-0,5; 2,0]
Testgruppe									
Ss7	-24,0	-52,5	-28,5	-1,1	-1,1	0,0	φ	φ	φ
Ss8	-32,9	-53,4	-20,7	-0,8	-0,6	0,2	-2,2	φ	φ
Ss9	-14,4	-31,6	-17,2	-0,4	-0,6	-0,3	-1,5	φ	φ
Ss10	-24,9	-39,3	-14,4	-0,6	-0,9	-0,2	-1,1	φ	φ
Ss11	-10,7	-9,0	1,7	-0,9	-1,7	-0,8	-0,2	φ	φ
Ss12	-11,2	-22,8	-11,7	-0,8	-0,9	0,0	-1,1	φ	φ
\bar{X}	-19,7	-34,8	-15,1	-0,8	-1,0	-0,2	-1,2	φ	φ
s	9,0	17,3	10,1	0,2	0,4	0,4	0,7	φ	φ
95% KI	[-29,1; -10,3]	[-52,9; -16,6]	[-25,7; -4,5]	[-1,0; -0,5]	[-1,4; -0,5]	[-0,6; 0,2]	[-2,1; -0,3]	φ	φ

Tabelle 9. *S. sanguinis* – Woche 4 und 8 (Kontrollgruppe) und Woche 4, 8 und 12 (Testgruppe): Differenzwerte innerhalb den Proben.

Ss1 ... Ss12 = Verschiedene mit *S. sanguinis* infizierten Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanalidentin – Woche 4; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalidentin – Woche 8 (Kontrollgruppe) und 12 (Testgruppe); ϕ = Bei nicht auswertbare Proben nach 4, 8 oder 12 Wochen wurde kein Differenz berechnet; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₂ – S ₁	K ₂ – K ₁	Dp ₂ – Dp ₁	S ₂ – S ₁	K ₂ – K ₁	Dp ₂ – Dp ₁	S ₂ – S ₁	K ₂ – K ₁	Dp ₂ – Dp ₁
Ss1	5,0	14,1	-35,7	1,0	1,5	1,6	4,9	3,9	5,4
Ss2	-5,0	-20,1	23,3	0,2	1,2	2,2	0,4	ϕ	2,6
Ss3	5,0	-19,0	4,0	0,2	0,2	-0,1	-0,9	0,2	0,4
Ss4	20,0	18,7	2,0	0,4	0,9	0,0	0,5	0,6	1,1
Ss5	20,0	0,5	16,1	0,0	0,5	0,3	ϕ	ϕ	ϕ
Ss6	10,0	13,0	17,6	-0,4	0,2	0,6	-0,8	-1,1	0,4
\bar{X}	9,2	1,2	4,6	0,2	0,7	0,8	0,8	0,9	2,0
s	9,7	17,2	21,4	0,4	0,6	0,9	2,3	2,1	2,1
95% KI	[-1,0; 19,3]	[-16,8; 19,2]	[-17,9; 27,0]	[-0,2; 0,7]	[0,2; 1,3]	[-0,2; 1,7]	[-2,1; 3,7]	[-2,4; 4,2]	[-0,7; 4,6]
Testgruppe			Dp ₂ * – Dp ₁			Dp ₂ * – Dp ₁			Dp ₂ * – Dp ₁
Ss7	5,0	13,3	-21,5	-0,7	0,6	-0,3	ϕ	ϕ	ϕ
Ss8	5,0	-10,9	-21,7	-0,7	0,1	-0,7	-3,1	-2,6	-9,6
Ss9	-10,0	-0,6	-28,6	-0,1	0,8	0,1	-0,5	0,0	-5,9
Ss10	10,0	5,9	-16,3	-0,3	0,2	0,3	-2,2	-1,3	-5,8
Ss11	0,0	12,8	23,2	0,3	0,5	-1,1	-2,0	-0,2	-6,0
Ss12	0,0	25,0	13,1	0,4	0,5	-0,4	-0,8	0,3	-5,8
\bar{X}	1,7	7,6	-8,7	-0,2	0,4	-0,4	-1,7	-0,8	-6,6
s	6,8	12,4	21,3	0,5	0,3	0,5	1,1	1,2	1,7
95% KI	[-5,5; 8,8]	[-5,5; 20,7]	[-31,0; 13,7]	[-0,7; 0,3]	[0,2; 0,7]	[-0,9; 0,2]	[-3,0; -0,4]	[-2,2; 0,7]	[-8,7; -4,5]

Tabelle 10. *E. faecalis* – Woche 4: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml).

Ef1 ... Ef12 = Verschiedene mit *E. faecalis* infizierte Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Nicht auswertbare Probe;
 \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₁	K ₁	Dp ₁	S ₁	K ₁	Dp ₁	S ₁	K ₁	Dp ₁
Ef1	50,0	55,3	60,7	8,9	8,3	8,7	φ	φ	φ
Ef2	40,0	30,5	22,1	8,2	6,7	7,1	10,9	7,1	7,8
Ef3	50,0	40,0	51,8	9,2	6,9	7,0	12,3	9,3	9,3
Ef4	50,0	74,0	29,7	9,2	7,1	7,4	9,8	8,1	7,9
Ef5	50,0	23,3	42,1	8,1	6,9	7,3	7,8	6,0	6,2
Ef6	50,0	52,6	41,1	8,2	7,2	7,8	7,9	6,2	6,8
\bar{X}	48,3	46,0	41,3	8,6	7,2	7,5	9,8	7,3	7,6
s	4,1	18,5	14,1	0,5	0,6	0,6	1,9	1,4	1,2
95% KI	[44,0; 52,6]	[26,6; 65,4]	[26,5; 56,0]	[8,1; 9,2]	[6,6; 7,8]	[6,9; 8,2]	[7,3; 12,1]	[5,6; 9,0]	[6,1; 9,1]
Testgruppe									
Ef7	50,0	47,2	43,1	8,4	7,1	8,2	7,0	6,0	6,3
Ef8	50,0	49,8	40,7	8,3	7,1	8,0	8,0	6,3	6,2
Ef9	45,0	52,3	39,6	8,3	7,1	7,8	8,1	6,0	5,7
Ef10	55,0	62,2	60,4	8,3	7,1	7,3	8,0	6,2	5,8
Ef11	50,0	44,3	36,7	8,3	7,1	7,5	7,8	5,9	6,0
Ef12	60,0	37,3	37,2	8,3	7,3	7,8	7,9	6,2	6,8
\bar{X}	51,7	48,8	43,0	8,3	7,1	7,7	7,8	6,1	6,1
s	5,2	8,3	8,9	0,0	0,1	0,3	0,4	0,2	0,4
95% KI	[46,3; 57,1]	[40,1; 57,6]	[33,7; 52,3]	[8,3]	[7,1; 7,2]	[7,4; 8,1]	[7,4; 8,2]	[5,9; 6,2]	[5,7; 6,6]

Tabelle 11. *E. faecalis* – Woche 4: Differenzwerte zwischen den Proben.

Ef1 ... Ef12 = verschiedene mit *E. faecalis* infizierte Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanalentin; φ = Bei nicht auswertbare Proben nach 4, 8 oder 12 Wochen wurde kein Differenz berechnet; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁	K ₁ - S ₁	Dp ₁ - S ₁	Dp ₁ - K ₁
Ef1	5,3	10,7	5,3	-0,7	-0,2	0,4	φ	φ	φ
Ef2	-9,5	-17,9	-8,4	-1,5	-1,1	0,4	-3,9	-3,1	0,8
Ef3	-10,0	1,8	11,8	-2,3	-2,2	0,8	-3,0	-3,0	-0,4
Ef4	24,0	-20,3	-44,3	-2,1	-1,7	0,4	-1,7	-1,9	-0,1
Ef5	-26,7	-7,9	18,8	-1,2	-0,8	0,4	-1,8	-1,6	0,2
Ef6	2,6	-9,0	-11,5	-1,0	-0,4	0,6	-1,7	-1,1	0,6
\bar{X}	-2,4	-7,1	-4,7	-1,4	-1,1	0,5	-2,4	-2,1	0,2
s	17,2	11,8	22,6	0,6	0,7	0,2	1,0	0,9	0,5
95% KI	[-20,4; 15,7]	[-19,4; 5,2]	[-28,4; 19,0]	[-2,1; -0,8]	[-1,9; -0,3]	[0,3; 0,7]	[-3,6; -1,2]	[-3,2; -1,1]	[-0,4; 0,8]
Testgruppe									
Ef7	-2,8	-6,9	-4,0	-1,3	-0,2	1,1	-1,0	-0,7	-0,3
Ef8	-0,2	-9,3	-9,1	-1,1	-0,3	0,8	-1,8	-1,8	0,0
Ef9	7,3	-5,4	-12,7	-1,2	-0,5	0,7	-2,1	-2,4	-0,3
Ef10	7,2	5,4	-1,8	-1,2	-1,0	0,2	-1,8	-2,2	-0,4
Ef11	-5,7	-13,3	-7,6	-1,2	-0,8	0,4	-2,0	-1,8	0,1
Ef12	-22,7	-22,8	-0,1	-1,1	-0,5	0,5	-1,8	-1,1	0,7
\bar{X}	-2,83	-8,70	-5,87	-1,18	-0,57	0,61	-1,73	-1,67	-0,05
s	11,08	9,34	4,74	0,07	0,31	0,33	0,36	0,65	0,41
95% KI	[-14,4; 8,8]	[-18,5; 1,1]	[-10,8; -0,9]	[-1,2; -1,1]	[-0,9; -0,2]	[0,3; 1,0]	[-2,1; -1,3]	[-2,3; -1,0]	[-0,5; 0,4]

Tabelle 12. *E. faecalis* – Woche 8 (Kontroll- und Testgruppe) und Woche 12 (Testgruppe): Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/ml) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/ml).

Ef1 ... Ef12 = Verschiedene mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmente; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalidentin – Woche 8 (Kontrollgruppe);

Dp₂ * = Wurzelkanalidentin – Woche 12 (Testgruppe); φ = Nicht auswertbare Probe; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment Kontrollgruppe	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₂	K ₂	Dp ₂	S ₂	K ₂	Dp ₂	S ₂	K ₂	Dp ₂
Ef1	35,0	57,6	43,4	9,0	6,9	7,1	11,4	8,9	8,3
Ef2	45,0	54,5	44,3	8,5	7,0	8,0	10,4	9,2	8,2
Ef3	50,0	45,8	48,6	9,2	8,0	8,2	11,3	9,4	9,9
Ef4	55,0	25,2	35,6	9,2	7,8	9,0	11,6	9,5	9,7
Ef5	55,0	32,6	32,7	8,2	7,4	7,5	7,9	6,3	6,1
Ef6	60,0	48,5	15,6	8,3	7,4	8,1	8,1	6,5	6,8
\bar{X}	50,0	44,0	36,7	8,7	7,4	8,0	10,1	8,3	8,2
s	8,9	12,7	11,9	0,4	0,4	0,6	1,7	1,5	1,5
95% KI	[40,6; 59,4]	[30,7; 57,3]	[24,3; 49,1]	[8,3; 9,2]	[7,0; 7,9]	[7,3; 8,6]	[8,3; 11,9]	[6,7; 9,8]	[6,6; 9,7]
Testgruppe			Dp₂ *			Dp₂ *			Dp₂ *
Ef7	50,0	55,0	78,0	8,2	7,4	8,2	7,9	6,6	4,0
Ef8	50,0	59,2	9,8	8,4	7,3	8,0	8,0	5,9	3,4
Ef9	45,0	64,1	57,8	8,3	7,3	8,2	8,0	6,1	8,1
Ef10	55,0	56,7	68,8	8,3	6,9	7,7	8,2	6,2	7,3
Ef11	60,0	68,4	76,1	8,4	7,3	8,3	8,0	6,7	φ
Ef12	φ	φ	46,5	8,1	7,3	7,6	7,9	6,6	3,9
\bar{X}	52,0	60,7	56,2	8,3	7,2	8,0	8,0	6,3	5,3
s	5,7	5,5	25,6	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	2,2
95% KI	[44,6; 59,4]	[53,8; 67,5]	[29,3; 83,0]	[8,2; 8,4]	[7,0; 7,4]	[7,7; 8,3]	[7,8; 8,1]	[6,0; 6,7]	[2,6; 8,0]

Tabelle 13. *E. faecalis* – Woche 8 (Kontrollgruppe) und Woche 12 (Testgruppe): Differenzwerte zwischen den Proben.

Ef1 ... Ef12 = verschiedene mit *E. faecalis* infizierten Wurzelsegmente; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalidentin – Woche 8 (Kontrollgruppe); Dp₂ *= Wurzelkanalidentin – Woche 12 (Testgruppe); φ = Nicht auswertbare Probe; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	K ₂ – S ₂	Dp ₂ – S ₂	Dp ₂ – K ₂	K ₂ – S ₂	Dp ₂ – S ₂	Dp ₂ – K ₂	K ₂ – S ₂	Dp ₂ – S ₂	Dp ₂ – K ₂
Ef1	22,6	8,4	-14,1	-2,1	-1,9	0,2	-2,5	-3,1	-0,6
Ef2	9,5	-0,7	-10,2	-1,5	-0,5	1,0	-1,2	-2,2	-1,0
Ef3	-4,2	-1,5	2,7	-1,3	-1,0	0,3	-1,8	-1,4	0,4
Ef4	-29,8	-19,4	10,4	-1,4	-0,2	1,2	-2,1	-1,9	0,2
Ef5	-22,4	-22,3	0,1	-0,9	-0,7	0,2	-1,6	-1,8	-0,2
Ef6	-11,5	-44,4	-32,9	-0,9	-0,3	0,6	-1,5	-1,2	0,3
\bar{X}	-6,0	-13,3	-7,3	-1,3	-0,8	0,6	-1,8	-1,9	-0,1
s	19,6	19,2	15,4	0,5	0,6	0,4	0,5	0,7	0,6
95% KI	[-26,5; 14,6]	[-33,5; 6,9]	[-23,3; 8,8]	[-1,8; -0,9]	[-1,4; -0,1]	[0,1; 1,0]	[-2,3; -1,3]	[-2,6; -1,2]	[-0,7; 0,4]
Testgruppe									
Ef7	5,0	28,0	23,0	-0,8	-0,1	0,8	-1,3	-3,9	-2,6
Ef8	9,2	-40,1	-49,3	-1,0	-0,4	0,7	-2,1	-4,6	-2,5
Ef9	19,1	12,8	-6,3	-1,0	-0,1	1,0	-1,9	0,1	2,0
Ef10	1,7	13,8	12,1	-1,5	-0,6	0,9	-2,0	-0,9	1,1
Ef11	8,4	16,1	7,7	-1,1	-0,1	0,9	-1,3	φ	φ
Ef12	φ	φ	φ	-0,8	-0,5	0,4	-1,3	-3,9	-2,7
\bar{X}	8,7	6,1	-2,6	-1,0	-0,3	0,8	-1,6	-2,6	-0,9
s	6,5	26,6	28,2	0,2	0,2	0,2	0,4	2,1	2,3
95% KI	[0,5; 16,8]	[-26,8; 39,1]	[-37,5; 32,4]	[-1,3; -0,8]	[-0,5; 0,0]	[0,5; 1,0]	[-2,0; -1,2]	[-5,2; 0,0]	[-3,7; 1,9]

Tabelle 14. *E. faecalis* – Woche 4 und 8 (Kontrollgruppe) und Woche 4, 8 und 12 (Testgruppe): Differenzwerte innerhalb den Proben.

Ef1 ... Ef12 = Verschiedene mit *E. faecalis* infizierte Wurzelsegmente; S₁ = Suspension; K₁ = Wurzelkanal; Dp₁ = Wurzelkanalidentin – Woche 4; S₂ = Suspension; K₂ = Wurzelkanal; Dp₂ = Wurzelkanalidentin – Woche 8 (Kontrollgruppe); Dp₂ * = Wurzelkanalidentin - Woche 12 (Testgruppe); φ = Bei nicht auswertbare Proben nach 4, 8 oder 12 Wochen wurde kein Differenz berechnet; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB			log BZ/ml			log CFU/ml		
	S ₂ - S ₁	K ₂ - K ₁	Dp ₂ - Dp ₁	S ₂ - S ₁	K ₂ - K ₁	Dp ₂ - Dp ₁	S ₂ - S ₁	K ₂ - K ₁	Dp ₂ - Dp ₁
Ef1	-15,0	2,2	-17,3	0,1	-1,4	-1,6	φ	φ	φ
Ef2	5,0	24,0	22,2	0,3	0,3	0,9	-0,5	2,2	0,4
Ef3	0,0	5,8	-3,3	0,0	1,0	1,2	-1,0	0,1	0,6
Ef4	5,0	-48,8	5,9	0,0	0,8	1,6	1,8	1,4	1,7
Ef5	5,0	9,3	-9,4	0,2	0,5	0,2	0,0	0,3	-0,1
Ef6	10,0	-4,1	-25,5	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,0
\bar{X}	1,7	-1,9	-4,5	0,1	0,2	0,4	0,1	0,9	0,5
s	8,8	24,8	17,0	0,1	0,8	1,1	1,1	0,9	0,7
95% KI	[-7,5; 10,9]	[-28,0; 24,1]	[-22,4; 13,3]	[0,0; 0,2]	[-0,6; 1,1]	[-0,7; 1,6]	[-1,2; 1,4]	[-0,2; 1,9]	[-0,4; 1,4]
Testgruppe			Dp₂ * - Dp₁			Dp₂ * - Dp₁			Dp₂ * - Dp₁
Ef7	0,0	7,8	34,9	-0,2	0,3	0,0	0,9	0,6	-2,3
Ef8	0,0	9,4	-30,9	0,1	0,2	0,1	-0,1	-0,4	-2,8
Ef9	0,0	11,8	18,2	0,0	0,2	0,4	-0,1	0,1	2,3
Ef10	0,0	-5,5	8,3	0,1	-0,3	0,4	0,2	0,0	1,5
Ef11	10,0	24,1	39,4	0,1	0,2	0,8	0,2	0,8	φ
Ef12	φ	φ	9,3	-0,2	0,0	-0,2	-0,1	0,4	-2,9
\bar{X}	2,0	9,5	13,2	0,0	0,1	0,3	0,2	0,3	-0,8
s	4,5	10,6	25,1	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	2,6
95% KI	[-3,5; 7,5]	[-3,6; 22,6]	[-13,2; 39,6]	[-0,2; 0,1]	[-0,1; 0,3]	[-0,1; 0,6]	[-0,2; 0,5]	[-0,2; 0,7]	[-4,0; 2,3]

Tabelle 15. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ss 1	50,3	70,8	6,6	6,0	4,3	ϕ
Ss 2	36,9	47,8	6,4	6,7	3,8	ϕ
Ss 3	41,5	24,1	6,5	6,3	3,5	ϕ
Ss 4	42,0	37,5	6,6	6,1	4,3	ϕ
Ss 5	34,2	60,0	6,4	6,5	4,9	ϕ
Ss 6	45,8	53,4	6,1	6,2	3,8	ϕ
Ss 7	45,8	63,0	6,7	6,7	4,3	ϕ
Ss 8	41,5	37,0	6,8	6,3	2,9	ϕ
Ss 9	41,2	50,8	6,7	6,4	3,3	ϕ
Ss 10	42,0	25,7	6,4	6,7	5,1	ϕ
\bar{X}	42,1	47,0	6,5	6,4	4,0	ϕ
s	4,5	15,7	0,2	0,3	0,7	ϕ
95% KI	[38,9; 45,4]	[35,8; 58,2]	[6,4; 6,7]	[6,2; 6,6]	[3,5; 4,5]	ϕ

Tabelle 16. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxid (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB	log BZ/mg	log CFU/mg
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁
Ss 1	20,6	-0,6	ϕ
Ss 2	10,9	0,3	ϕ
Ss 3	-17,4	-0,1	ϕ
Ss 4	-4,4	-0,5	ϕ
Ss 5	25,8	0,1	ϕ
Ss 6	7,6	0,1	ϕ
Ss 7	17,2	-0,1	ϕ
Ss 8	-4,5	-0,4	ϕ
Ss 9	9,6	-0,5	ϕ
Ss 10	-16,3	0,3	ϕ
\bar{X}	4,9	-0,1	ϕ
s	15,0	0,3	ϕ
95% KI	[-5,8; 15,6]	[-0,4; 0,1]	ϕ

Tabelle 17. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 24: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB		log BZ/mg		log CFU/mg		
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	
Ss 11	37,3	7,6	6,0	6,6	2,5		ϕ
Ss 12	27,4	16,6	6,3	6,4	2,7		ϕ
Ss 13	33,4	25,1	6,3	6,7	1,7		ϕ
Ss 14	30,2	12,5	6,3	6,6	3,8		ϕ
Ss 15	33,3	19,6	6,6	6,8	3,0		ϕ
Ss 16	39,4	35,0	6,6	6,4	4,6		ϕ
Ss 17	41,4	32,9	5,8	6,1	2,9		ϕ
Ss 18	36,8	15,2	6,3	6,1	4,1		ϕ
Ss 19	40,6	31,3	6,5	6,4	3,5		ϕ
Ss 20	47,3	22,7	6,5	6,6	3,3		ϕ
\bar{X}	36,7	21,8	6,3	6,5	3,2		ϕ
s	5,9	9,2	0,2	0,2	0,8		ϕ
95% KI	[32,5; 40,9]	[15,2; 28,4]	[6,2; 6,4]	[6,4; 6,6]	[2,6; 3,8]		ϕ

Tabelle 18. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 24: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Guttaperchastiften (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	% VB	log BZ/mg	log CFU/mg	
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	
Ss 11	-29,7	0,5		ϕ
Ss 12	-10,8	0,0		ϕ
Ss 13	-8,3	0,4		ϕ
Ss 14	-17,7	0,3		ϕ
Ss 15	-13,7	0,2		ϕ
Ss 16	-4,4	-0,2		ϕ
Ss 17	-8,5	0,3		ϕ
Ss 18	-21,6	-0,2		ϕ
Ss 19	-9,3	-0,1		ϕ
Ss 20	-24,7	0,2		ϕ
\bar{X}	-14,9	0,1		ϕ
s	8,2	0,2		ϕ
95% KI	[-20,8; -9,0]	[0,0; 0,2]		ϕ

Tabelle 19. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 24: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Keramikstifte (Dp₂).

φ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ss 21	40,4	53,4	6,3	6,6	φ	φ
Ss 22	33,0	38,6	6,7	6,1	3,4	φ
Ss 23	29,6	41,5	6,9	6,6	4,9	φ
Ss 24	19,8	43,5	6,6	6,6	5,2	φ
Ss 25	32,0	51,5	6,7	6,5	4,1	φ
Ss 26	23,8	55,4	6,9	6,3	3,4	φ
Ss 27	30,8	56,0	6,4	6,4	3,4	φ
Ss 28	32,1	49,4	6,3	6,6	4,1	φ
Ss 29	31,6	31,1	6,6	6,4	4,3	φ
Ss 30	35,5	37,0	6,4	6,5	3,0	φ
\bar{X}	30,9	45,7	6,6	6,4	4,0	φ
s	5,7	8,6	0,2	0,2	0,7	φ
95% KI	[26,8; 35,0]	[39,5; 51,9]	[6,5; 6,7]	[6,3; 6,5]	[3,5; 4,5]	φ

Tabelle 20. *S. sanguinis* – Woche 4 vs. Woche 24: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach 24 Wochen Liegedauer von Keramikstifte (Dp₂).

φ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB	log BZ/mg	log CFU/mg
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁
Ss 21	13,0	0,3	φ
Ss 22	5,6	-0,6	φ
Ss 23	11,9	-0,3	φ
Ss 24	23,7	0,0	φ
Ss 25	19,4	-0,3	φ
Ss 26	31,6	-0,6	φ
Ss 27	25,1	-0,1	φ
Ss 28	17,3	0,3	φ
Ss 29	-0,5	-0,2	φ
Ss 30	1,5	0,1	φ
\bar{X}	14,9	-0,1	φ
s	10,5	0,3	φ
95% KI	[7,4; 22,4]	[-0,3; 0,1]	φ

Tabelle 21. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxidpaste (Dp₂).

φ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ef1	22,9	32,3	6,4	6,2	4,2	3,2
Ef2	25,7	74,6	6,2	6,2	4,2	2,5
Ef3	30,7	40,0	6,8	6,1	4,8	4,4
Ef4	30,4	72,4	6,4	6,3	4,7	4,1
Ef5	24,1	78,7	6,2	6,3	4,5	2,5
Ef6	19,8	49,2	6,6	6,8	4,7	4,7
Ef7	23,8	48,9	6,7	6,6	5,7	4,1
Ef8	23,9	42,7	6,7	6,4	4,4	4,1
Ef9	19,4	43,8	6,8	6,4	5,2	φ
Ef10	42,1	75,3	6,4	6,3	5,1	4,5
\bar{X}	26,3	55,8	6,5	6,3	4,7	3,8
s	6,7	17,5	0,2	0,2	0,5	0,8
95% KI	[21,5; 31,1]	[43,2; 68,4]	[6,4; 6,6]	[6,2; 6,4]	[4,3; 5,1]	[3,2; 4,4]

Tabelle 22. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitalen Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Calciumhydroxidpaste (Dp₂).

φ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB	log BZ/mg	log CFU/mg
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁
Ef1	9,4	-0,2	-0,9
Ef2	49,0	0,0	-1,7
Ef3	9,3	-0,7	-0,4
Ef4	42,0	-0,2	-0,7
Ef5	54,6	0,2	-1,9
Ef6	29,5	0,2	-0,1
Ef7	25,2	-0,1	-1,6
Ef8	18,8	-0,3	-0,3
Ef9	24,3	-0,4	φ
Ef10	33,2	-0,1	-0,7
\bar{X}	29,5	-0,2	-0,9
s	15,4	0,3	0,7
95% KI	[18,4; 40,6]	[-0,4; 0,0]	[-1,4; -0,4]

Tabelle 23. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Chlorhexidingel (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ef11	24,9	5,9	6,2	5,1	4,4	ϕ
Ef12	31,9	24,5	5,9	6,4	4,2	ϕ
Ef13	21,3	20,5	6,3	6,7	5,0	ϕ
Ef14	21,5	8,0	6,3	6,7	4,1	ϕ
Ef15	26,5	6,6	6,2	6,5	3,8	ϕ
Ef16	28,4	22,0	6,1	6,5	4,5	ϕ
Ef17	17,4	5,4	6,3	6,3	4,6	ϕ
Ef18	28,4	36,1	6,3	6,2	4,0	ϕ
Ef19	27,2	9,3	6,0	6,1	4,8	ϕ
Ef20	30,0	16,2	6,0	6,5	4,8	ϕ
\bar{X}	25,7	15,4	6,2	6,3	4,4	ϕ
s	4,5	10,2	0,2	0,5	0,4	ϕ
95% KI	[22,5; 28,9]	[8,1; 22,7]	[6,1; 6,3]	[5,9; 6,7]	[4,1; 4,7]	ϕ

Tabelle 24. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von Chlorhexidingel (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB	log BZ/mg	log CFU/mg
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁
Ef11	-19,0	-1,1	ϕ
Ef12	-7,4	0,6	ϕ
Ef13	-0,8	0,4	ϕ
Ef14	-13,5	0,4	ϕ
Ef15	-19,9	0,3	ϕ
Ef16	-6,4	0,5	ϕ
Ef17	-12,0	0,0	ϕ
Ef18	7,7	-0,1	ϕ
Ef19	-17,9	0,2	ϕ
Ef20	-13,8	0,4	ϕ
\bar{X}	-10,3	0,2	ϕ
s	8,7	0,5	ϕ
95% KI	[-16,5; -4,1]	[-0,2; 0,6]	ϕ

Tabelle 25. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Anteil vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Guttaperchastiften (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB		log BZ/mg		log CFU/mg	
	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂	Dp ₁	Dp ₂
Ef21	34,8	5,9	6,6	6,2	5,2	ϕ
Ef22	43,2	16,1	6,4	6,2	5,2	ϕ
Ef23	54,5	2,9	6,3	6,5	4,8	ϕ
Ef24	29,9	0,0	6,1	6,7	5,1	ϕ
Ef25	29,6	0,0	6,2	6,7	5,9	ϕ
Ef26	25,0	0,0	6,6	5,8	5,1	ϕ
Ef27	35,6	6,9	6,6	6,4	4,5	ϕ
Ef28	31,0	3,4	6,3	6,0	5,2	ϕ
Ef29	22,3	0,0	6,1	4,9	4,5	ϕ
Ef30	36,0	0,0	6,0	5,2	4,7	ϕ
\bar{X}	34,2	3,5	6,3	6,1	5,0	ϕ
s	9,3	5,1	0,2	0,6	0,4	ϕ
95% KI	[27,5; 40,9]	[-0,2; 7,2]	[6,2; 6,4]	[5,7; 6,5]	[4,7; 5,3]	ϕ

Tabelle 26. *E. faecalis* – Woche 4 vs. Woche 12: Differenzwerte des Anteils vitaler Bakterien (%VB), Bakteriengesamtzahl (log BZ/mg) und Anzahl koloniebildender Einheiten (log CFU/mg) nach 4 Wochen Infektion (Dp₁) und nach vierwöchiger Liegedauer von CHX-Guttaperchastiften (Dp₂).

ϕ = kein Wachstum; \bar{X} = Mittelwert; s = Standardabweichung; KI = Konfidenzintervall

Wurzelsegment	%VB	log BZ/mg	log CFU/mg
	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁	Dp ₂ -Dp ₁
Ef21	-28,9	-0,4	ϕ
Ef22	-27,1	-0,3	ϕ
Ef23	-51,6	0,2	ϕ
Ef24	-29,9	0,6	ϕ
Ef25	-29,6	0,5	ϕ
Ef26	-25,0	-0,8	ϕ
Ef27	-28,8	-0,1	ϕ
Ef28	-27,6	-0,3	ϕ
Ef29	-22,3	-1,2	ϕ
Ef30	-36,0	-0,9	ϕ
\bar{X}	-30,7	-0,3	ϕ
s	8,1	0,6	ϕ
95% KI	[-36,5; -24,9]	[-0,7; 0,1]	ϕ

Aus der vorliegenden Arbeit entstanden folgende Publikationen:

Weiger, R., de Lucena, J. M. V. M., Decker, E.-M. und Löst, C. (2002)
Vitality status of microorganisms in infected human root dentine.
Int Endod J 35, 166-171

de Lucena, J. M. V. M., Weiger, R., Decker, E.-M. und Löst, C. (2002)
Influence of calcium hydroxide on bacterial vitality in root dentine.
Int Endod J 35, 82 (Abstract R4)

Weiger, R., de Lucena, J. M. V. M., Decker, E.-M. und Löst, C. (2000)
Vitality of microorganisms on root canal walls and in dentinal tubules.
XI World Congress on Dental Trauma, Research Reports

Danksagung

Zunächst möchte ich meine Dankbarkeit an allen unten aufgelisteten Personen und Institutionen zeigen, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben:

- Professor Dr. C. Löst für die Erlaubnis als Gastassistentin bei der Abteilung für Zahnerhaltung zu arbeiten, die Hilfsbereitschaft, Freundlichkeit und Offenheit, womit er mich als brasilianische Mitarbeiterin empfangen hat;
- Professor Dr. R. Weiger für die Überlassung des Themas, die persönliche und unermüdliche Betreuung;
- Die Mitarbeiterinnen des mikrobiologischen und Zellkultur Labors für die Gastfreundschaft. Danke insbesondere an Fr. Dr. E.-M. Decker und MTA Fr. I. Wiech für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente;
- Herrn Zahntechnikermeister M. Wolf und seinem Team im zahntechnischen Labor für die Herstellung der Keramikstifte;
- Allen Mitarbeitern der Abteilung für Zahnerhaltung für den freundlichen Umgang und Unterstützung;
- Dem brasilianischen Kultusministerium – CAPES – für die Bewilligung meines Stipendiums;
- Dem „CEFET – Am“, das mir eine Sondergenehmigung zur Durchführung meiner Doktorarbeit im Ausland erteilt hat.

Lebenslauf

Name: Juliana Mesquita Vidal Martínez de Lucena

Geburtsdatum: 17.07.1969 in Manaus, Brasilien

Schulbildung:

1976 – 1983 – Grundschule bei „Centro Educacional Santa Teresinha“ in Manaus

1984 – 1986 – Gymnasium und Berufsausbildung bei „Centro Federal de Ensino Tecnológico do Amazonas“ – Abschluß als Chemietechnikerin

Studium:

1987 – 1991 – Biologiewissenschaft – Universität von Amazonas

1992 – 1997 – Zahnmedizin – Universität von Amazonas

Berufserfahrung:

1986 – Praktikum als Chemietechnikerin im mykologischen Labor – „Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA“

1989 - 1990 – Praktikum als Studentin der Biologiewissenschaft – „Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA“

1990 - 1991 – Lehre der Biologiewissenschaft im Gymnasium „Colégio Dom Bosco“

1997 – Praxis als Zahnärztin in Gemeinschaftspraxis

seit 1994 – Lehre der Biologiewissenschaft im „Centro Federal de Ensino Tecnológico do Amazonas – CEFET/AM“

seit 1998 – Wissenschaftliche Gastassistentin in der Abteilung für Zahnerhaltung am Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Eberhard-Karls-Universität Tübingen (Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Löst; Sektion Endodontie: Professor Dr. R. Weiger)