

**UNIVERSITÄT GREIFSWALD**

**Wissen lockt. Seit 1456**



# **DISSERTATION**

**Der Einfluss einer Vorbehandlung der  
Wurzelkanaloberfläche mit kalt-atmosphärischem  
Plasma auf die Qualität der Wurzelkanalfüllung**

**Franziska Lieselotte Hille**

**2020**

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Endodontologie,  
Präventive Zahnmedizin und Kinderzahnheilkunde  
(Direktor: Prof. Dr. med. dent. T. Kocher)  
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

**Der Einfluss einer Vorbehandlung der  
Wurzelkanaloberfläche mit kalt-atmosphärischem  
Plasma auf die Qualität der Wurzelkanalfüllung**

Inaugural – Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Zahnmedizin

(Dr. med. dent.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2020

vorgelegt von:

Franziska Lieselotte Hille

geb. am: 1. Oktober 1985

in: Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Thomas Kocher

2. Gutachter: Frau PD Dr. Kerstin Bitter

Ort, Raum: Greifswald, Hörsaal ZZMK,

Tag der Disputation: 19.01.2021

*Meiner Familie gewidmet.*

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielstellung.....	1
2	Literaturübersicht.....	3
2.1	Grundlagen physikalischer Plasmen .....	3
2.2	Anwendung physikalischer Plasmen in der Zahnmedizin.....	6
2.2.1	Antimikrobielle Wirkung und Anwendung physikalischer Plasmen ....	8
2.2.2	Oberflächenveränderung der Zahnhartsubstanz durch Plasma .....	11
2.2.3	Anwendung physikalischer Plasmen in der Endodontie .....	13
2.3	Bedeutung und Schwierigkeiten der Wurzelkanalfüllung.....	15
2.4	Bedeutung des pathogenen Keims <i>E. faecalis</i> in der Endodontie ...	18
3	Material und Methode.....	22
3.1	Material.....	22
3.1.1	Auswahl der Zähne.....	22
3.2	Methode .....	22
3.2.1	Vorbereitung der Wurzelstümpfe.....	22
3.2.2	Plasmabehandlung der Wurzelstümpfe.....	24
3.2.3	Wurzelkanalfüllung .....	24
3.2.4	Aufbau des Testsystems .....	25
3.2.5	Testreihen .....	29
3.2.6	Vorbereitung des Arbeitsplatzes.....	31

3.2.7	Mikrobiologische Untersuchungen.....	32
4	Ergebnisse .....	35
4.1	Überprüfung des Testsystems.....	35
4.2	Multiple Regressionsanalyse.....	36
4.3	Kontamination der Testreihen IV-VI im Einzelnen .....	39
4.4	Testreihe IV-VI im Vergleich.....	42
4.5	Testreihe IV, V und VI im direkten Vergleich der absoluten Werte ..	44
4.6	Statistische Auswertung der Testreihen IV-VI .....	44
4.7	Games-Howell-Test.....	45
4.8	Ergebnis der Bestimmung der koloniebildenden Einheiten .....	46
4.8.1	Interpretation der Ergebnisse auf Basis von Box-Plots.....	46
4.8.2	Interpretation der Ergebnisse auf Basis der Standardabweichung ..	51
5	Diskussion .....	54
5.1	Diskussion der Methodik .....	54
5.1.1	Auswahl der Materialien und des Versuchskeims .....	54
5.1.2	Aufbereitung und Abfüllen der Wurzelkanäle .....	57
5.1.3	Quantitativer Nachweis.....	59
5.2	Diskussion der Testergebnisse .....	60
5.2.1	Vergleich der mikrobiologischen Ergebnisse.....	61
5.2.2	Wirkeffekt von kaltem Atmosphärendruckplasma.....	62
5.3	Schlussfolgerung .....	66

6	Zusammenfassung.....	67
7	Literaturverzeichnis .....	69
8	Tabellenverzeichnis.....	97
9	Abbildungsverzeichnis.....	98
10	Abkürzungsverzeichnis.....	100
11	Anhang.....	101
12	Danksagung .....	108

# 1 Einleitung und Zielstellung

Das Ziel der endodontischen Behandlung ist die möglichst vollständige Eliminierung einer Infektion des Wurzelkanalsystems und ein abschließender bakteriendichter Verschluss, um eine Reinfektion zu verhindern. Der Schlüssel zu einer erfolgreichen endodontischen Behandlung ist unter anderem die Desinfektion. Etablierte Desinfektionsmedien sind jedoch in deren Wirkung limitiert. So ist beispielsweise das Penetrationsvermögen in die Dentintubuli durch die Oberflächenspannung der Spüllösung vermindert. Darüber hinaus erreicht die mechanische Instrumentation trotz der stetigen Weiterentwicklung von Feilsystemen oft nur etwa 50 % der Kanaloberfläche. Aus diesem Grund ist eine Weiterentwicklung der Desinfektionsmöglichkeiten notwendig.

Neben der Desinfektion und der mechanischen Aufbereitung des Wurzelkanals spielt die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung zum Dentin eine wichtige Rolle, um abschließend einen homogenen, bakteriendichten Verschluss zu gewährleisten. Unter Wandständigkeit wird der Verbund von Wurzelkanaldentin und Füllmaterial verstanden, welche durch die Penetrationstiefe und Haftung des Sealers bestimmt wird.

In der Medizin wird physikalisches Plasma bereits zur Desinfektion eingesetzt. Aufgrund der volatilen (chem.: flüchtig, verdunstend) Eigenschaft von Plasma werden selbst unwegsame und damit schwer zu instrumentierende Gebiete, wie Isthmen und Ramifikationen erschlossen. Das macht den Einsatz für die endodontische Behandlung interessant. Ein Vorteil von kaltatmosphärischem Plasma (KAP) ist seine geringe Temperatur. Diese ermöglicht den direkten Einsatz am Patienten. Gegenwärtig existieren nur wenige Untersuchungen, welche die komplexe Wirkung von KAP auf die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung untersucht haben. Diese Fragestellung soll im Hinblick auf die Qualität der Wurzelkanalfüllung bezogen auf die Dichtigkeit der Füllmaterialien in der vorliegenden In-vitro Studie untersucht werden.



In dieser Arbeit soll folgende Hypothese überprüft werden: „Eine Vorbehandlung der Wurzelkanaloberfläche mit KAP steigert die Qualität der Wurzelkanalfüllung hinsichtlich der Wandständigkeit signifikant gegenüber der konventionellen Wurzelkanalfüllung ohne eine Plasmavorbehandlung und verringert so die Gefahr einer bakteriellen Reinfektion.“

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Grundlagen physikalischer Plasmen

Über die Zufuhr von Energie kann ein fester Stoff über einen flüssigen und einen gasförmigen Zustand in den sogenannten vierten Aggregatzustand, das Plasma, überführt werden. Bei Plasma handelt es sich um ein ionisiertes Gas. Die zugeführte Energiemenge bestimmt den Ionisationsgrad des Plasmas, der gleichsam für die Reaktionsfreudigkeit steht (Gerling et al., 2016). In der Natur können physikalische Plasmen, ausgelöst durch Sonnenwinde, als Polarlichter wahrgenommen werden. Außerhalb unseres Planeten kommt Plasma in der Sonne vor. Die Sonne besteht überwiegend aus Wasserstoff, der bei den vorherrschenden Temperaturen als Plasma vorliegt. Wasserstoffplasma ist zugleich der Antriebsstoff der Kernfusion, welche als eine neue Energiequelle diskutiert wird. Letztendlich kann Plasma über ein breites Feld des Wellenspektrums als ein Teil des sichtbaren Lichts wahrgenommen werden (Altenburg et al., 1990). Da sich Plasma in einem energetisch angeregten Zustand befindet, besitzt Plasma für den Einsatz in der Medizin nutzbare physikalische und chemische Wirkmechanismen (Gerling et al., 2016).

In Abbildung 1 sind die Bestandteile und Eigenschaften von Plasma dargestellt. Neben Wärme- und UV-Strahlung zählen reaktive Sauerstoff- (ROS) und Stickstoffspezies (RNS) zu den Hauptbestandteilen (Heinlin et al., 2010; Seyfarth et al., 2014; Gerling et al., 2016). Die ROS lassen sich unter anderem weiter in Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) und Ozon ( $O_3$ ) aufteilen (Kieft, 2005; Seyfarth et al., 2014). Als RNS spielen Nitrite ( $NO_2^-$ ) und Nitrate ( $NO_3^-$ ) eine wichtige Rolle beim Zelltod (Jablonowski et al., 2015; Girard et al., 2016; Yan et al., 2017).

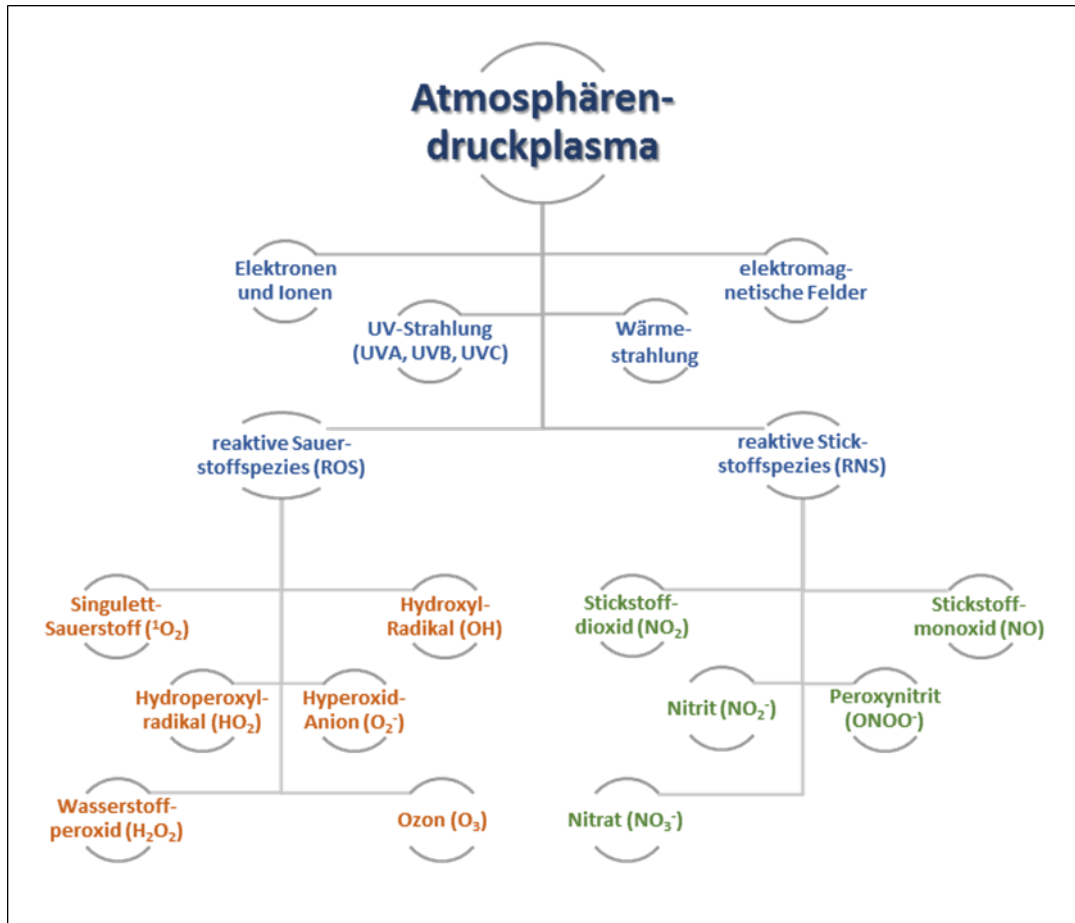


Abbildung 1: Zusammensetzung von Plasma.

Das Plasma lässt sich in nicht-thermisches und thermisches Plasma klassifizieren. Thermisches Plasma befindet sich in einem thermodynamischen Gleichgewicht und weist Temperaturen von über 5000 K auf (Klee et al., 2009; Ehlbeck et al., 2011; Gerling et al., 2016). Ein typisches Anwendungsfeld für thermisches Plasma ist das Schweißen bei hohen Temperaturen (Beer et al., 2009; Gerling et al., 2016).

Nicht-thermisches Plasma, auch „kaltes Plasma“ genannt, befindet sich dagegen in einem thermodynamischen Ungleichgewicht. Dabei können die Elektronen Temperaturen von bis zu 10.000 K erreichen (Gerling et al., 2016), währenddessen Gaspartikel und Ionen im Plasma bei Raumtemperatur verbleiben. Dieser Effekt begründet sich in den unterschiedlichen Massen von Elektronen

und Ionen. Die Elektronen sind leichter als Ionen und zeigen eine höhere Teilchenbewegung, die als höhere Temperatur wahrgenommen wird. In der Gesamtheit entspricht die Temperatur des kalten Plasmas der Umgebungstemperatur, welche durch den Überschuss an neutralen Teilchen bestimmt wird (Ehlbeck et al., 2011; Gerling et al., 2016).

Kaltes Plasma wird bei Atmosphären- oder niedrigerem Druck erzeugt. Daraus folgt, dass die Teilchen nicht sehr eng zusammenliegen und es seltener zu Zusammenstößen mit den neutralen Teilchen kommt als beim Hochdruckplasma (Klee et al., 2009). Diese Besonderheit macht kaltes Plasma für den Einsatz in temperaturempfindlichen Umgebungen interessant, da chemische oder physikalische Prozesse aktiviert werden können, welche nur mit einer geringen thermischen Belastung einhergehen (Klee et al., 2009). Der Vorteil von Atmosphärendruckplasma gegenüber Niedrigdruckplasma ist die einfache Herstellung ohne Vakuumtechnik und die Möglichkeit der unmittelbaren Anwendung am Einsatzort.

Ausschlaggebend für die Eigenschaft des Plasmas ist unter anderem das verwendete Trägergas. Vorrangig kommen Edelgase wie Argon und Helium oder ein Gasgemisch mit Sauerstoff oder Stickstoff zum Einsatz. Typische Anwendungsgebiete des Atmosphärendruckplasmas sind die Aktivierung, die Beschichtung und die Reinigung. Bei der Aktivierung werden Oberflächen (Metalle oder Kunststoffe) vorbehandelt, um diese im Anschluss weiterzuverarbeiten, beispielsweise beim Verkleben, Lackieren oder Löten (Melamies, 2007; Beer et al., 2009). Beim Beschichten werden durch Atmosphärendruckplasma Monomere auf einer Oberfläche polymerisiert und erlauben dem zu behandelnden Objekt additiv neue Eigenschaften, wie zum Beispiel korrosionsvorbeugende oder hydrophile Schichten aufzutragen. Der Desinfektionseffekt wurde bereits in Pilotstudien bei der Behandlung von chronischen Wunden nachgewiesen (Isbary et al., 2012; Isbary et al., 2013). Die hohe Reaktionsfreudigkeit und eine körpernahe Temperatur eröffnen für KAP neue Anwendungsfelder im medizinischen Bereich.

## 2.2 Anwendung physikalischer Plasmen in der Zahnmedizin

Heiße Plasmen werden bereits erfolgreich zur Sterilisation von zahnmedizinischen Instrumenten und Materialien eingesetzt und sind darauf ausgerichtet, letale Effekte, wie Inaktivierung oder Zerstörung von Zellen auszulösen. Anders als bei heißen Plasmen wird bei der Behandlung mit KAP die nichtletale Wirkung ausgenutzt. Mithilfe des kalten Plasmas kann das Einsatzgebiet auf temperaturempfindliche Bereiche erweitert werden. Es ermöglicht die Anwendung am Patienten, ohne thermische Schädigungen hervorzurufen. Die Effekte von kalten Plasmen wirken indirekt über das Medium, direkt über den Stoffwechsel oder sie können die Zellstruktur der Mikroorganismen stimulieren und beeinflussen (Virard et al., 2015; Woedtke et al., 2016).

Goree et al. (2006) demonstrieren unter Einsatz einer Plasmanadel das erfolgreiche Abtöten von *Streptococcus mutans*, welcher einer der Hauptverursacher von Wurzelkaries ist. Weitere Studien stellen bei der Behandlung mit KAP eine Dezimierung des Keims oder zumindest die Verlangsamung seines Wachstums fest (Sladek et al., 2007; Park et al., 2014). Aufgrund seiner volatilen Eigenschaften können durch kaltes Plasma selbst unwegsame Kavitäten im Zahn ohne eine Präparation dekontaminiert werden (Sladek et al., 2004). Weitere Studien bestätigen die antimikrobielle Wirksamkeit bei der Behandlung mit KAP bei *Escherichia coli* und *Candida albicans* (Rupf et al., 2010). Bei der Kariestherapie wird physikalischem Plasma in Verbindung mit einer Bioglas-Phosphorsäure-Paste zudem eine remineralisierende Wirkung auf den Zahnschmelz zugesprochen (El-Wassefy, 2017a).

Ähnlich wie bei Karies handelt es sich bei Erregern der *Parodontitis marginalis* um unerwünschte Biofilme, deren Behandlung mit KAP zur Eliminierung der Keime vergleichbare Ergebnisse zeigt. Dabei wird der Erreger *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*, gramnegativ, anaerob), einer der Verursacher von Parodontitis, in den Mittelpunkt von Studien mit KAP-Behandlung gestellt. Es zeigt sich, dass Plasma selbst Biofilme mit etwa 30 Schichten *P. gingivalis*-Zellen durchdringen und diese effektiv deaktivieren kann (Xiong et al., 2011).

Zahlreiche Studien thematisieren zudem die erfolgreiche Therapie der Periimplantitis mit physikalischem Plasma (Duske et al., 2012; Koban et al., 2012; Duske et al., 2015; Shi et al., 2015). Durch eine Kombination von KAP und einer mechanischen Oberflächenreinigung können mikrobiell kontaminierte Implantate gereinigt und effektiv vor einer Periimplantitis geschützt werden (Duske et al., 2015). In dieser Studie zeigen Duske et al. (2015), dass sich Osteoklasten nach erfolgter Plasmabehandlung genauso gut wie auf sterilen Oberflächen entwickeln. Ein weiteres Forschungsgebiet stellen antimikrobielle Prothesenbeschichtungen in Verbindung mit KAP zur Bekämpfung des Biofilms unter anderem mit *Candida albicans* dar. Die antimikrobielle Wirkung des Plasmas soll nicht nur eine prothesenassoziierte Stomatitis verringern, sondern die Oberfläche derart modifizieren, dass die mikrobielle Adhärenz an der Prothesenoberfläche verändert wird (Jablonowski et al., 2016).

Die kosmetische Zahnaufhellung ist ein weiteres Einsatzgebiet von KAP. Lee et al. (2009) nutzen eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Plasma Kombination und erzielen ein dreimal wirksameres Ergebnis als beim alleinigen Einsatz von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Das Hydroxyl-Radikal, welches bei der Behandlung mit KAP entsteht, entfernt oberflächige, färbende Proteine und dringt in die Zahnhartsubstanz ein, um Chromophore und andere Farbstoffe zu oxidieren, die im Schmelz und im Dentin eingelagert sind (Eimar et al., 2012; Kwon et al., 2015). Auch beim Einsatz von kaltem Plasma und einer 0,9%igen Salzlösung gibt es bei einer 20-minütigen Behandlung einen signifikanten Aufhellungseffekt gegenüber dem alleinigen Einsatz von 0,9%iger Salzlösung oder einer 35%igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung (Sun et al., 2010).

El-Wassefy (2017b) behandelt erfolgreich Dentalfluorosen mit KAP und bioaktiver Glas-Paste (Bioglas). Das Experiment besteht aus einer Kontrollgruppe und drei zu vergleichenden Gruppen: die erste Gruppe blieb unbehandelt, in der zweiten Gruppe wurde KAP vor und nach der Applikation von Bioglas angewandt, in der dritten Gruppe erfolgte die Behandlung mit KAP vor der Applikation von Bioglas und in der vierten Gruppe wurde nur mit Bioglas behandelt. Dabei erzielt die zweite Gruppe die besten Ergebnisse. Durch die Verringerung des Wasserkontaktwinkels penetriert das Bioglas leichter in das

Dentin und trägt somit zu einer stärkeren Remineralisierung bei. Abbildung 2 illustriert die Veränderung des Wasser-Oberflächen-Kontaktwinkels.

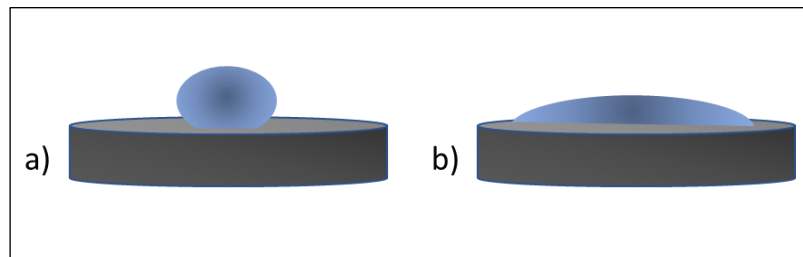


Abbildung 2: Eine Oberflächenbehandlung mit physikalischem Plasma (Grafik b) reduziert den Kontaktwinkel vergleichend zur unbehandelten Oberfläche (Grafik a) und steigert die Benetzbarkeit (Quelle: eigene Abbildung in Anlehnung an Jablonowski et al., 2016, S. 125).

Darüber hinaus zeigt sich neben einer reinigenden und desinfizierenden Wirkung von KAP auch die Stimulation der Wundheilung im Hinblick auf beispielsweise Aphthen, Mykosen oder Stomatitis (Seyfarth et al., 2014; Švarcová et al., 2014; Fathollah et al., 2016). Klinische In-vivo Studien bestätigen eine verträgliche und schmerzfreie Anwendung von KAP ohne Nebenwirkungen auf die Haut (Isbary et al., 2010; Daeschlein et al., 2012; Isbary et al., 2012; Emmert et al., 2013; Isbary et al., 2013; Brehmer et al., 2015). KAP unterstützt den Wundheilungsprozess durch seine antiseptische Wirkung, indem es die Proliferation gesunder Zellen stimuliert. Darüber hinaus beeinflusst KAP die Angiogenese sowie die Aktivierung als auch Hemmung der Integrinrezeptoren auf der Zelloberfläche (Haertel et al., 2014). Die Integrinrezeptoren verantworten die Signalweitergabe ins Innere der Zelle, um im Rahmen des Entzündungs- und Wundheilungsprozesses die Zellproliferation (Zellwachstum und Zellteilung) zu steuern (Egger, 2005).

### 2.2.1 Antimikrobielle Wirkung und Anwendung physikalischer Plasmen

Die antimikrobielle Wirkung des Plasmas beruht auf zwei wesentlichen Effekten: der Zelloberflächenveränderung und der Zerstörung des Genmaterials (Moisan et al., 2001). Das Wirkspektrum von KAP reicht von Bakterien über

Pilze bis hin zu Viren, ohne dass bisher Resistenzen bekannt sind (Goree et al., 2006; Sladek et al., 2007; Rupf et al., 2010; Zimmermann et al., 2011; Zimmermann et al., 2012).

Es wird angenommen, dass die antimikrobielle Wirkung des KAP vorrangig auf reaktive Sauerstoffspezies (ROS; Abbildung 1) zurückzuführen ist (Tipa et al., 2011). Die UV-Strahlung kann je nach Behandlungsdistanz sowie -zeit zu einer Dezimierung der Bakterien führen. Saad et al. (2015) sprechen der UV-Strahlung eine Nebenrolle bei der antimikrobiellen Wirkung von KAP zu. Bei der Gesamtbetrachtung des Effekts von KAP kann UV-Strahlung nicht ausgeblendet werden. Schneider et al. (2012) haben Experimente über die Rolle bei der Inaktivierung von *E. coli* durch KAP durchgeführt. Innerhalb des Plasmage-mischs wird mit UV-Strahlung eine schnellere Inaktivierung von *E. Coli* erzielt, was sich womöglich auf die verstärkte Bildung von Sauerstoffatomen und Ozon durch UV-Strahlung zurückführen lässt (Schneider et al., 2012). Laut Saad et al. (2015) verantworten die ROS- und RNS-Spezies als primäre Komponenten die Dezimierung von u. a. *E. Coli*. Bei weiteren Untersuchungen wird den reaktiven Stickstoffspezies ein wesentlicher Anteil bei der Bekämpfung von Mikroorganismen zugesprochen (Girard et al., 2016; Yan et al., 2017). Darunter sind dies im speziellen  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{NO}_3^-$ , die gemeinsam mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  für den Zelltod verantwortlich sind (Jablonowski et al., 2015; Girard et al., 2016; Yan et al., 2017). Dabei werden bei der Behandlung von Eukaryoten mit KAP zwei verschiedene Vorgänge des Zelltodes unterschieden: die Apoptose (programmierter Zelltod) und die Nekrose (nicht programmierter Zelltod) (Hoffmann et al., 2013; Girard et al., 2016). Beide Vorgänge sind abhängig von der Expositionszeit und der Plasmaleistung (Hoffmann et al., 2013). Kürzere Expositionszeiten führen bei eukaryotischen Zellen zur Apoptose und bei längeren Expositionszeiten zur Nekrose (Dobrynin et al., 2009; Hoffmann et al., 2013). Eine Nekrose fördert die Immunaktivierung des Körpers, währenddessen ein apoptotischer Zelltod eine immunsuppressive Reaktion fördert (Voll et al., 1997; Melcher et al., 1999). Beim apoptotischen Wirkmechanismus des KAP kommt es laut Ahn et al. (2011) zu einer Dysfunktion der Mitochondrien durch ROS. Panngom et al. (2013) stellen zusätzlich eine Verringerung des



mitochondrialen Membranpotenzials, der Enzymaktivitäten und der Respirationsrate fest. Yan et al. (2012) führen weiter aus, dass KAP zu oxidativem Stress führt und demnach die intrazellulären Konzentrationen von ROS, NO und Lipidperoxiden beeinflusst.

Der Wirkmechanismus von KAP lässt sich auf die Wechselwirkung des geladenen Trägergases mit der Umgebungsluft zurückführen. Bei der Anwendung von KAP wird Ozon freigesetzt, welches bereits erfolgreich bei der Behandlung von Biofilmen eingesetzt wird. Es wird jedoch auch ein Hydroxyl-Radikal freigesetzt, das ein weitaus höheres Oxidationspotenzial als Ozon besitzt (Grabowski, 2006; Sladek et al., 2007). Die reaktionsfreudigen Radikale greifen die Zellmembran bzw. das Capsid an, sodass sich das Bakterium nicht mehr an einer Zelloberfläche anheften kann. Nach der Schwächung der Zellmembran können vermehrt Radikale ins Zellinnere eindringen. Die darauffolgende Schädigung der Enzyme, der Proteine und der freiliegenden DNA blockieren die Replikation (Sies et al., 1992; Sies, 1993). Aus ihrem Experiment schlussfolgern Kalghatgi et al. (2012), dass das Ozon nicht der Hauptfaktor des intrazellulären Veränderungsprozesses ist. Welche der reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies im Einzelnen dafür verantwortlich sind, ist noch nicht abschließend geklärt. Weitere Studien sind notwendig, um den genauen Wirkmechanismus zu ergründen.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der antimikrobiellen Anwendung von KAP ist die gezielte Wirkung auf Prokaryoten und der nichtletale Effekt auf eukaryotische Zellen. Bei der Plasmaanwendung steigt der oxidative Stressfaktor durch ROS auf Bakterien signifikant (Pai et al., 2018). Dobrynin et al. (2009) untersuchen die Wirkung von KAP auf lebende Zellen und stellen fest, dass eukaryotische Zellen gegenüber Prokaryoten durch ihren Metabolismus und Enzyme mit ROS-Einflüssen einen höheren Schutz vor ROS aufweisen. Anders als bei Prokaryoten agieren Eukaryoten in organisierten Zellverbänden, welche die negativen ROS-Einflüsse auf den Verbund verteilen. Prokaryoten, insbesondere Bakterien, weisen dagegen nur geringe bis keine Resistenzen oder

Abwehrmechanismen gegenüber ROS auf. In weiteren Studien wird eine höhere Effizienz bei der Dezimierung von gramnegativen als von grampositiven Bakterien durch KAP festgestellt (Gadri et al., 2000; Daeschlein, 2016). Daraus lässt sich ableiten, dass mit steigender Zellwanddicke (von gramnegativ zu grampositiv) die Behandlungsdauer zur Dezimierung von Bakterien zunimmt (Mai-Prochnow et al., 2016).

Zahlreiche Studien zeigen zudem eine erfolgreiche Desinfektion mit KAP von Dentin (Sladek et al., 2004) und von Wurzelkanälen (Lu et al., 2009; Zhou et al., 2016). In einer weiteren Studie können Goree et al. (2006) das grampositive, kariogene Bakterium *Streptococcus mutans*, das auf einer Agar-Kulturplatte ausgestrichen wurde, ortsspezifisch durch KAP eliminieren. Rupf et al. (2013) beschreiben die Wirkweise von KAP zur Abtötung von oralen, adhären Mikroben und bestätigen die Desinfektion von Zahnoberflächen. Joaquin et al. (2009) entfernen in einem Experiment auf Helium-Stickstoff-Basis fast vollständig Biofilme, die Ursache von parodontalen Taschen. Weitere Studien weisen zudem eine erfolgreiche Dezimierung bis hin zur Elimination von *E. faecalis* durch KAP auf dem Wurzelkanaldentin nach (Zhang et al., 2015). Bei der Desinfektionseffektivität stellen Schaudinn et al. (2013) eine Überlegenheit von NaOCl gegenüber KAP fest, während Üreyen Kaya et al. (2014) zu dem Ergebnis gelangen, dass KAP und NaOCl ähnlich starke Desinfektionseigenschaften besitzen. Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) kann in Kombination mit Chlorhexidindigluconat (CHX), NaOCl und KAP unterstützend wirken, hat aber nur einen geringen Einfluss bei der direkten Bekämpfung von *E. faecalis* (Koban et al., 2013; Zhang et al., 2015; Vouzara et al., 2016).

### **2.2.2 Oberflächenveränderung der Zahnhartsubstanz durch Plasma**

Über die Reinigung und Desinfektion hinaus wird durch die Behandlung mit Plasma die Zahnhartsubstanz dazu angeregt, neue chemische Strukturen an

der Oberfläche zu bilden. Dies führt zu einer Verbesserung der Adhäsionseigenschaft sowie der Oberflächenqualität des Dentins (Ritts et al., 2010; Yu et al., 2012; Dong et al., 2013; Dong et al., 2015). KAP spaltet die Kohlenwasserstoffverbindungen an der Schmelz- und Dentinoberfläche auf und erreicht dadurch eine bessere Benetzbarkeit (Chen et al., 2013; Lehmann et al., 2013; Dong et al., 2015; Gu et al., 2016), was beispielsweise den Haftverbund von Adhäsiven unterstützt. Chen et al. (2013) stellen mittels Röntgenphotoelektronenspektroskop eine signifikante Erhöhung des O/C-Verhältnisses nach einer KAP-Behandlung auf Zahnschmelz und -dentin fest. Demnach bilden sich auf der Oberfläche neue sauerstoffhaltige polare Anteile. Ritts et al. (2010) und Yu et al. (2012) stellen fest, dass es bei der Anwendung von KAP zu einer Veränderung der chemischen Struktur freigelegter Kollagenfasern im Dentin kommt, welche eine höhere Hydrophilie bewirkt. Eine Studie von Gu et al. (2016) zeigt, dass eine Behandlung der Schmelzoberfläche mit KAP die Bindungsstärke zum Adhäsiv signifikant verbessert und eine selektive Ätzung ersetzt.

Die beschriebenen Oberflächenmodifikationen werden bereits zur Verbesserung des Haftverbundes von Kompositen zur Zahnhartsubstanz diskutiert, wobei die Behandlung mit Plasma eine formschlüssige und spaltfreie Verbindung zulässt (Ritts et al., 2010; Al Muhammad et al., 2013). Eine Studie von Yu et al. (2012) zur Plasmabehandlung von Kompositrestaurationen zeigt eine höhere Bindungsstärke des angeätzten Dentins in der Interaktionszone zwischen Zahn und Komposit. Gleichzeitig ist eine stärkere Hybridisierung des Dentins und des Adhäsivsystems nachweisbar (Yu et al., 2012). Für einen praxisnahen Einsatz fehlen noch weitere In-vivo Studien, welche die pulpalen Reaktionen beim Einsatz von KAP näher untersuchen (Rupf et al., 2016).

Im Bereich der Kieferorthopädie wird an einer Weiterentwicklung der Adhäsivsysteme geforscht. Glasionomerelemente (GIZ) kommen ohne das klassische Ätzverfahren mit Phosphorsäure aus, indem sie einen chemischen Verbund mit dem Zahnschmelz eingehen. Die Bracket-Verlustrate ist jedoch gegenüber Kompositen noch zu hoch (Metelmann et al., 2016). Durch die Anwendung von KAP kann der Zahnschmelz für die Aufbringung von GIZ

vorbehandelt werden, um die adhäsiven Eigenschaften der zu behandelnden Schmelzoberflächen zu verbessern. Eine der ersten Studien, welche die Steigerung der Haftfestigkeit von kieferorthopädischen Brackets mittels KAP untersucht, verzeichnet keine signifikante Verbesserung (Metelmann et al., 2016b). Innerhalb der Studie kommt es zu einer Abnahme der Scherhaftfestigkeit. Um eine gesicherte Aussage treffen zu können, sind weitere Untersuchungen notwendig.

### **2.2.3 Anwendung physikalischer Plasmen in der Endodontie**

Eines der Hauptprobleme bei der Wurzelkanalbehandlung ist eine unzureichende Desinfektion, was eine persistierende intrakanalikuläre Infektion zur Folge haben kann (Nair, 1997; Lin et al., 2005). Studien zeigen, dass bei den konventionellen Behandlungsmethoden die Biofilme oft nicht vollständig entfernt werden können (Siqueira et al., 2002; Matsuo et al., 2003; Soares et al., 2006).

Die antimikrobielle Wirkung und der volatile Zustand des KAP, welcher es ermöglicht, auch schwer zugängliche und verzweigte Hohlräume zu erreichen, sind für einen Einsatz in der Endodontie vielversprechend (Lu et al., 2009). In diesem Zusammenhang stellen Li et al. (2009) in einer Untersuchung eine stärkere Desinfektion durch KAP gegenüber Kalziumhydroxid ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), 2%igem CHX sowie einer Kombination von  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  und CHX (2 %) fest. Durch eine Kombination von KAP und CHX (2 %) steigern Du et al. (2013) den desinfizierenden Effekt gegenüber dem alleinigen Einsatz von KAP oder CHX (2 %) noch weiter. Weitere Forschungen verdeutlichen eine Überlegenheit gegenüber  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Wang et al., 2011). Eine Studie von Koban et al. (2011) zur Wirksamkeit verschiedener Plasmageräte bei Biofilmen auf Titanscheiben zeigt eine deutliche Überlegenheit von KAP gegenüber einer CHX-Spülung. Dabei beträgt die Reduktion durch KAP im Speichelbiofilm 5,67 KBE, wohingegen CHX einen Rückgang von 1,50 KBE verzeichnet.

Pan et al. (2013) verwenden ein  $\text{Ar}/\text{O}_2$ -Gasgemisch mit erhöhten Sauerstoffanteil (2 %) und eliminieren *E. faecalis* nach einer 10-minütigen Behandlung

einwurzeliger Zähne mit KAP fast vollständig. Jiang et al. (2009) beobachten in einer Studie bei einer 180-sekündigen KAP-Behandlung an menschlichen Wurzelkanälen eine signifikante Reduktion der Bakterienanzahl. Im Vorfeld wird der Kanal zur Erzeugung eines Biofilms mit menschlichem Speichel beimpft. Für die Plasmabehandlung der Wurzelkanäle kommen zwei Trägergase zum Einsatz: He und He/O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub> 1 %). Mit dem He/O<sub>2</sub>-Gemisch zeichnet sich eine höhere Desinfektionsrate der Wurzelkanäle gegenüber dem alleinigen Einsatz von He als Trägergas ab (Jiang et al., 2009). Durch die Veränderung der Expositionszeit steigern Wang et al. (2011) die Inaktivierungsrate von *E. faecalis*. Dabei erreichen sie mit einer 8-minütigen KAP-Behandlung eine 98,8%ige Dezimierung von *E. faecalis* bei einwurzeligen humanen Zähnen, wobei Wang et al. (2011) nach sieben Tagen eine 62%ige Reinfektionsrate feststellen. Bei dem Studiendesign ist zu beachten, dass Wang et al. (2011) die Wurzelkanäle über den Untersuchungszeitraum mit Cavit (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) versiegelten. Durch eine 30-minütigen Anwendung mit KAP kann die Reinfektionsrate nach sieben Tagen auf 0,8 % verringert werden (Wang et al., 2011). Sie zeigen so, dass erst durch die Erhöhung der Expositionszeit das gesamte Wurzelkanalsystem von koronal bis apikal desinfiziert wird.

Eine vergleichende Untersuchung mit NaOCl (5,25 %) gegenüber KAP weist keinen signifikanten Unterschied bei der Dezimierung von *E. faecalis* auf (Jiang et al., 2012). Auch Jablonowski et al. (2013) kommen zu dem Ergebnis, dass sich der antimikrobielle Effekt im Wurzelkanal von KAP (120 s) bei endodontischen Behandlungen mit dem von NaOCl (0,6 %) vergleichen lässt. Schaudinn et al. (2012) weisen bei ihrer Untersuchung eine stärkere Dezimierung von *E. faecalis* mit NaOCl (6 %) gegenüber KAP bei der Wurzelkanalbehandlung nach. Hüfner et al. (2017) vergleichen in einer Studie die Wirksamkeit von NaOCl gegenüber Argon-O<sub>2</sub>-Plasma bei einer 6-minütigen sowie 12-minütigen Expositionszeit und kommen zu dem Ergebnis, dass durch den Einsatz von NaOCl (3 %) eine stärkere Keimreduzierung von *E. faecalis* erreicht wird. Eine Kombination von NaOCl und Argon-O<sub>2</sub>-Plasma bringt innerhalb der Studie die besten Ergebnisse.

Aktuelle Untersuchungen bestätigen die Wirksamkeit von KAP bei der Beseitigung von Mikroorganismen innerhalb der Wurzelkanäle. Durch die Plasmaeigenschaft werden selbst unregelmäßige Wurzelkanalsysteme dekontaminiert (Lu et al., 2009; Wang et al., 2011; Li et al., 2015; Jablonowski et al., 2016; Liu et al., 2016). Dahingehend untersuchen Herbst et al. (2015) die Wirtiefe von KAP und einer Kombination von KAP und CHX in infizierten Wurzelkanälen. Dabei finden sie heraus, dass in den ersten Dentinschichten von 0-300  $\mu\text{m}$  und 300-500  $\mu\text{m}$  der alleinige Einsatz von KAP zur Reduzierung von Keimen effektiv ist. In der tieferen Schicht von 800  $\mu\text{m}$  fällt die Wirksamkeit von KAP gegenüber CHX geringer aus.

### **2.3 Bedeutung und Schwierigkeiten der Wurzelkanalfüllung**

Die Wurzelkanalfüllung soll das Wurzelkanalsystem volumenstabil und dreidimensional verschließen (Weber, 2010) und verhindert zusammen mit der koronalen Restauration die Rekontamination des Wurzelkanalsystems. Je nach Anatomie des Zahns kann das Wurzelkanalsystem durch Verzweigungen, Isthmen, Ramifikationen und zusätzliche Seitenkanäle die vollständige Wurzelkanalaufbereitung und darauffolgende Füllung erschweren. Zudem bieten Dentintubuli mit einem Durchmesser von 1-2  $\mu\text{m}$  Rückzugsmöglichkeiten für Mikroorganismen (Weber, 2010), welche durch die Spüllösungen nur bedingt erreicht werden. Weitere Probleme der Wurzelkanalfüllung stellen verbliebene Bakterien im endodontischen System dar, als auch der Zutritt von Mikroorganismen und Substrat durch ein apikales oder koronales Leakage (Khayat et al., 1993; Safavi et al., 1993; Saunders et al., 1994). In einer Studie zur Qualität stufen Hülsmann et al. (1991) mehr als die Hälfte der untersuchten Wurzelkanalfüllungen als insuffizient im Hinblick auf Homogenität, Blasenfreiheit, überpresstes Material und Vollständigkeit der Wurzelkanalfüllung ein. Weitere Studien zeigen ähnliche Tendenzen (Klimek J. et al., 1995; Weiger et al., 1997; Schulte et al., 1998). Dichte und homogene Wurzelkanalfüllungen führen durch eine Barriere der Substratzufuhr zum Absterben von Bakterien

und verbessern die Prognose zum Erhalt des Zahns (Kerekes et al., 1979; Sjogren et al., 1990; Orstavik, 2005).

Bei der mechanischen Aufbereitung des Wurzelkanalsystems entsteht eine der Kanalwand anhaftende Schmierschicht. Diese Smear-Layer ist eine Mischung aus Dentinspänen, Pulparesten und Bakterien, organisiert in planktonischer Form oder in einem Biofilm (Pashley, 1992; Sen et al., 1995). Die Smear-Layer kann darüber hinaus persistierenden Mikroorganismen als Substrat dienen, die Haftung der Füllmaterialien an der Kanalwand reduzieren oder die Dichtigkeit der Wurzelkanalfüllung vermindern und so eine Rekontamination des Zahnes begünstigen (Violich et al., 2010). Nach der mechanischen Instrumentation wird über aktivierte Spüllösungen eine weitgehende Elimination der Smear-Layer angestrebt. Eine saubere Kanalwand ermöglicht eine gute Penetration des Sealers in die Dentintubuli und eine optimale Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung.

In Anlehnung an die Ausführungen von Saunders et al. (1994) wird in dieser Studie unter Wandständigkeit die Eigenschaft von Wurzelkanal und Füllmaterial, im Detail des Sealers, zur spaltfreien Verbindung untereinander verstanden. Dabei wird die Wandständigkeit von der Penetrationstiefe und Haftung des Sealers bestimmt (Saunders et al., 1994; Macedo et al., 2017).

Das weltweit gebräuchlichste Wurzelfüllmaterial ist Guttapercha in Verbindung mit einem Sealer, einer erhärtenden Füllpaste, welche u. a. feine Unebenheiten zwischen Kanalwand und Guttapercha versiegelt. Dentale Guttapercha ist ein kautschukähnlicher Milchsaft tropischer Bäume, versetzt mit Zinkoxid, Bariumsulfat, Wachsen, Kunst- und Farbstoffen. Ein dimensionsstabiler, vollständiger Verschluss des Wurzelkanalsystems schränkt den Platz ein, der für die Vermehrung von Mikroorganismen notwendig ist, und verhindert ein erneutes Eindringen von Bakterien und Flüssigkeiten. Zusätzlich wird die Substratzufuhr unterbrochen, was eine mögliche Rekolonisierung der im Kanal verbliebenen Mikroorganismen einschränkt (Walker, 1996). Dabei muss ein reizloser Wundverschluss am apikalen Wurzelende ermöglicht werden, um die Reinfektions-

wahrscheinlichkeit zu minimieren (Weber, 2010). Die aufgezeigten Ziele der Wurzelkanalbehandlung lassen sich nur mit einem geeigneten Wurzelkanalfüllmaterial realisieren.

Es ergeben sich die folgenden Anforderungen an das Wurzelkanalfüllmaterial (Grossman, 1978; Koçkapan, 2003; Orstavik, 2005):

- dimensionsstabil (geringe Expansion und geringe Schrumpfung)
- dabei leicht einführbar und zugleich leicht entfernbar bei Revision
- erhärtend, wasserunlöslich und nicht resorbierbar
- gewebeverträglich, nicht mutagen sowie nicht kanzerogen
- röntgenopak
- autosteril
- bakteriostatisch

Die Obturationsmethode kann die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung und eine postendodontische Rekonstruktion entscheidend verbessern. Dabei steht dem Behandler eine breite Vielfalt an Techniken zur Verfügung.

Bei der Zentral- oder Einstifttechnik wird der Wurzelkanal mit *einem* passenden Guttaperchastift und einem zumeist hohen Sealeranteil gefüllt. Diese Technik setzt einen annähernd rund präparierten Wurzelkanal voraus. Anatomische Abweichungen wie ovale Wurzelquerschnitte führen konsequenterweise zu einem hohen Substanzabtrag beziehungsweise zu inhomogenen bis undichten Wurzelkanalfüllungen (Baumann, 2001).

Bei der lateralen Kondensationstechnik wird zunächst ein der Aufbereitung entsprechender Masterpoint in den Wurzelkanal eingebracht, welcher durch zusätzliche Guttaperchastifte kleinerer Größe ergänzt wird. Die Stifte werden dabei lateral mittels Spreader komprimiert, um Raum für die nachfolgenden Guttaperchastifte zu schaffen. Die laterale Kondensation zeigt auch bei ovalen oder nierenförmigen Wurzelquerschnitten gute Ergebnisse (Seltzer, 1988; Heidemann, 1989), hat jedoch ihre Grenzen bei anatomischen und pathologischen Besonderheiten, wie beispielsweise stark gekrümmten Wurzelspitzen,



der internen Resorption oder bei iatrogen verursachten Komplikationen wie der *via falsa* (Wu et al., 2001a).

Bei den beschriebenen irregulären Konfigurationen können homogene Wurzelkanalfüllungen mit guter Wandständigkeit qualitativ besser durch die vertikale Kondensation nach Schilder (1967) erreicht werden (Smith et al., 2000; Wu et al., 2001b). Hierbei wird in wiederholten Sequenzen erwärmte Guttapercha mithilfe eines Pluggers nach apikal und lateral kondensiert (downpack). Bei 3-5 mm vor dem Apex folgen Sequenzen von Plastifizierung und Kompaktion bis zur vollständigen Wurzelkanalfüllung.

Eine Vereinfachung der zeitintensiven Schilder-Technik stellt die „Continuous Wave of Obturation“ nach Buchanan (2004) dar. Diese Technik arbeitet beim Downpack in nur einer Arbeitsphase mit elektrischen Hitzepluggern und beim Backpack über ein Guttapercha-Injektionsverfahren und zeigt ähnlich gute Ergebnisse einer homogenen, vollständigen Wurzelkanalfüllung (Weber, 2010).

Eine schnelle, thermoplastische Wurzelkanalfüllung durch trägerstiftbasiertes Füllen wird erstmals von Johnson (1978) erwähnt. Hierbei wird ein mit Guttapercha ummantelter Kunststoffträger in einem Ofen erwärmt und in den Wurzelkanal eingebracht (Weber, 2010). Der Kunststoffkern minimiert durch einen geringeren Guttapercha-Anteil die Schrumpfung der Wurzelkanalfüllung und sorgt nach der Abkühlung für eine gute Adaptation zur Kanalwand.

### **2.4 Bedeutung des pathogenen Keims *E. faecalis* in der Endodontie**

Das Darmbakterium *E. faecalis* ist ein grampositives, kugelförmig bis elongiertes, fakultativ anaerobes Bakterium der Familie der Enterokokken (Abbildung 3) (Murray, 1990). *E. faecalis* ist fakultativ oder opportunistisch pathogen und einer der vorherrschenden Keime bei persistierenden intraradikulären Infektionen (Love, 2001; BVL, 2004; Klimm, 2010; Zhu et al., 2010).

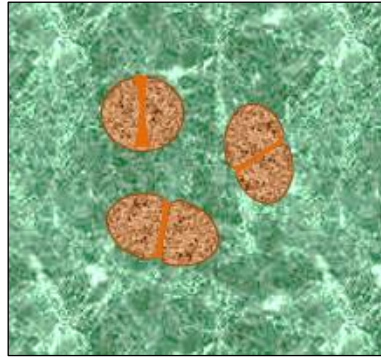


Abbildung 3: Schematische Darstellung des grampositiven Kettenkokken-Bakteriums *E. faecalis*.

Das Bakterium verursacht durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen eine Reihe antimikrobieller Spülungen und medikamentöser Einlagen endodontische Misserfolge (Zehnder et al., 2004; Oehler, 2009; Saatchi et al., 2014; Sun et al., 2016), weist eine hohe Proliferationsrate auf und ist resistent gegen länger andauernde Hungerperioden (Figdor et al., 2003). *E. faecalis* regeneriert sich nahezu vollständig, sobald eine neue Nährstoffquelle vorhanden ist (Siren et al., 1997; Wang et al., 2012). *E. faecalis* zeigt eine hohe Toleranz gegenüber schwierigen Umweltbedingungen (hitzestabil, salztolerant) (Huycke et al., 1998), übersteht große pH-Schwankungen und überlebt auch im alkalischen Milieu (Orstavik et al., 1990; Love, 2001). Im Vergleich zu anderen endopathogenen Keimen wie *S. sanguis*, *E. coli* und *P. aeruginosa* durchdringt *E. faecalis* am schnellsten die Dentintubuli und infiziert diese der ganzen Länge nach (Orstavik et al., 1990). Ferner zeigen In-vitro Studien, dass *E. faecalis* Biofilme mit anderen Spezies an der Wurzelwand bilden kann (George et al., 2005; Kishen et al., 2006; Jhajharia et al., 2015). Organisiert in einem Biofilm ergeben sich weitere Vorteile gegenüber der planktonischen Lebensform von *E. faecalis*: eine optimale Kommunikation und Nährstoffversorgung der Mikroorganismen sowie eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber mechanischen Scherkräften, Umwelteinflüssen und antimikrobiellen Substanzen (Costerton et al., 1987; Davies et al., 1998). Durch die Produktion von  $\beta$ -Lactamase-Enzymen durch *E. faecalis* (Murray, 1992; Miller et al., 2014) und die Barriereigenschaften der Biofilmstruktur wird die Wirksamkeit von einigen Antibiotika und antimikrobiellen Mitteln erschwert (Dunavant et al., 2006; Stewart

et al., 2008; Usha et al., 2010). Innerhalb des Biofilms liegt eine Heterogenität der Mikroorganismen vor (Stewart et al., 2008). Dies ist eine Folge der unterschiedlichen metabolischen Aktivitäten der Zellen, der Nährstoffkonzentration und der lokalen, chemischen Bedingungen (Stewart et al., 2008). So gibt es im Biofilm Bereiche mit niedriger Wachstumsrate und höherer Resistenz gegenüber antimikrobiellen Mitteln (Evans et al., 1990; Xu et al., 1998; Sternberg et al., 1999; Donlan et al., 2002).

Bei der Wurzelkanalbehandlung wird vorrangig  $\text{Ca(OH)}_2$  als Medikament zur antibakteriellen Einlage genutzt (Foreman et al., 1990; Dammaschke, 2008).  $\text{Ca(OH)}_2$  ist mit einem pH-Wert von 12,4 stark basisch und setzt in wässriger Lösung Hydroxidionen frei (Damaschke, 2008). Die antimikrobielle Wirkung wird durch die Denaturierung von Proteinen und Enzymen, durch Schädigung von DNA und Zellmembran erreicht (Siqueira et al., 1999; Mohammadi et al., 2012). Weiterhin löst  $\text{Ca(OH)}_2$  Weichgewebe auf und regt die Hartgewebekonstruktion an (Martin, 1979; Dammaschke, 2008). *E. faecalis* weist auch im alkalischen Milieu durch Protonenpumpen gegenüber  $\text{Ca(OH)}_2$  eine hohe Resistenz auf und hält das Zellinnere im sauren pH-Bereich (Stuart et al., 2006; Wagner et al., 2011; Ganesh et al., 2016). CHX zeigt dagegen nachweislich eine antimikrobielle Wirkung auf *E. faecalis* (Gomes et al., 2001; Basrani et al., 2003; Gomes et al., 2003; Hofer et al., 2005; Schäfer et al., 2005; Athanassiadis et al., 2007). Der Wirkmechanismus von CHX soll auf der Anheftung an den Phospholipiden und Lipopolysacchariden der Zellmembran der Mikroorganismen beruhen, die zu einer Aufnahme der toxischen CHX-Moleküle ins Zellinnere führt (Hauman et al., 2003; Safavi et al., 2006; Athanassiadis et al., 2007; Dammaschke, 2008).

NaOCl hat sich durch seine schnelle Wirksamkeit und kurze Wirkdauer im Wurzelkanal als Spüllösung etabliert (Damaschke, 2008). Dabei löst NaOCl nekrotisches sowie vitales Gewebe (Andersen et al., 1992) und Lipopolysaccharide der Zellmembran auf (Buttler et al., 1982). Auch für *E. faecalis* liegen Studien vor, welche die hohen Desinfektionseigenschaften von NaOCl bestätigen (Vianna et al., 2004; Dunavant et al., 2006). Dabei wird die mikrobizide

Wirkung von NaOCl unter anderem durch die Applikationsmenge, Applikationsdauer, Temperatur, Aktivierung und Konzentration bestimmt (Hand et al., 1978; Baumgartner et al., 1992; Berber et al., 2006; Retamozo et al., 2010; Forough Reyhani et al., 2017). Des Weiteren untersuchten Berber et al. (2006) die Wirksamkeit verschiedener NaOCl-Konzentrationen in Kombination mit unterschiedlichen Instrumentierungstechniken. Dafür wurden 180 extrahierte Prämolaren mit *E. faecalis* infiziert und aufgeteilt in zwölf Gruppen unterschiedlich aufbereitet und gespült. Nach einem Untersuchungszeitraum von 21 Tagen wurde mit einem Bohrer Späne der Wurzelkanäle entfernt und diese mikrobiologisch über Agar-Kulturplatten ausgewertet. Bei der Analyse der Dentintubuli zeigt eine 5,25%ige NaOCl für alle verwendeten Techniken die effektivste Reinigung.

## **3 Material und Methode**

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Auswahl der Zähne**

Als Untersuchungsobjekte dienten zu Forschungszwecken gesammelte, extrahierte Zähne niedergelassener Zahnarztpraxen aus Greifswald. Diese wurden dauerhaft in 0,9%iger physiologischer NaCl-Lösung gelagert, um ein Austrocknen der Zahnhartsubstanz zu vermeiden. Für die vorliegende Studie wurden 51 einwurzelige und einkanalige, kariesfreie, unrestaurierte, obere mittlere und seitliche Inzisivi als auch untere erste Prämolaren ausgewählt. Die Zähne wiesen äußerlich keine Dilazationen, Obliterationen oder tiefe apikale Aufzweigungen auf. Allgemein weist diese Zahngruppen einen geraden Wurzelkanalverlauf auf und neigen selten dazu, einen Isthmus auszubilden (Baumann et al., 2008). Die Selektion der Zähne nach diesen Kriterien diente dazu, die Zähne der In-vitro Studie besser untereinander vergleichen zu können. Die ausgewählten Zähne wiesen ein abgeschlossenes Wurzelwachstum auf und waren nach der Extraktion unversehrt.

### **3.2 Methode**

#### **3.2.1 Vorbereitung der Wurzelstümpfe**

Zunächst wurden anhaftendes Weichgewebe und Konkreme der Wurzeloberflächen mithilfe von Küretten entfernt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Zähne wurden sie unter ständiger Wasserkühlung am Nasstrimmer von koro-  
nal auf eine Wurzellänge von 10 mm gekürzt (Abbildung 4).

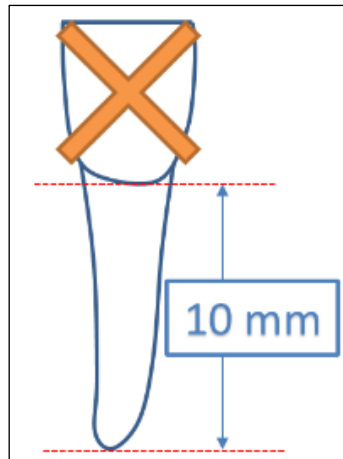


Abbildung 4: Wurzelstümpfe mit einer Länge von 10 mm.

Anschließend wurde die Arbeitslänge der verbliebenen Wurzelkanäle jedes einzelnen Zahns mit einer K-Feile ISO-Größe 10 ermittelt. Dabei wurde die Feile so weit in den Wurzelkanal geschoben, dass sie an der Wurzelspitze sichtbar war. Der Silikonstopp wurde auf den Referenzpunkt gesetzt und die Länge an einem Messblock abgelesen. Die Arbeitslänge ergab sich aus der Messlänge abzüglich eines Millimeters. Mit Pathfiles (Dentsply Sirona, Deutschland) wurde ein Gleitpfad angelegt und der Wurzelkanal mit 0,6%iger NaOCl-Lösung gespült. Die Aufbereitung erfolgte mit PRO TAPER NEXT™-Feilen (Dentsply Sirona, Deutschland) einheitlich bis auf eine ISO-Größe 40 unter kontinuierlicher Spülung mit 0,6%iger NaOCl-Lösung. Anschließend wurde die Oberfläche der Wurzelstümpfe zweifach mit Nagellack rot lackiert und dadurch die Wurzeloberfläche versiegelt. Eine Kontamination erfolgte so über die Länge des Hauptkanals und wurde nicht über möglicherweise vorkommende Seitenkanäle verfälscht. Mit einer K-Feile ISO-Größe 10 wurde die Gängigkeit über das *Foramen apikale* sichergestellt. Die Lagerung vor, während und nach der Vorbehandlung erfolgte in 0,9%iger NaCl-Lösung. Um ein Austrocknen der Zahnhartsubstanz zu vermeiden, wurde am Tag vor dem Versuchsaufbau jeder Stumpf einzeln mit einem in NaCl-Lösung getränkten Tupfer eingeschweißt. Um Keimfreiheit zu gewährleisten, wurden die Päckchen zur Sterilisation bei 121 °C und 1 bar für 20 min autoklaviert.

### 3.2.2 Plasmabehandlung der Wurzelstümpfe

Für die Untersuchung der Wurzelkanalfüllung nach Plasmabehandlung wurden drei Testreihen zufällig gebildet. Zwei davon wurden mit dem PlasmaJet kINPen® (neoplas-tools, Greifswald, Deutschland) (Abbildung 5) mit unterschiedlichen Zeitintervallen unter einem Abzug vorbehandelt, während die Wurzelstümpfe der Kontrollgruppe keiner Plasmabehandlung unterzogen wurden. Als Trägergas diente Helium (3,5 l/min). Die Pulsdauer betrug 3  $\mu$ s bei einer Leistung von 300 W. Die sterilisierten Wurzelstümpfe wurden jeweils 30 s (Testreihe V) bzw. 120 s (Testreihe VI) mit einer sterilen Pinzette unmittelbar unter die Plasmazündung gehalten. Anschließend wurden die mit Plasma vorbehandelten und die ohne Plasma behandelten Wurzelstümpfe abgefüllt. Während der gesamten Arbeit wurde auf einen sterilen Ablauf geachtet.



*Abbildung 5: Plasmabehandlung. Der sterilisierte Wurzelstumpf wurde mit einer sterilen Pinzette unmittelbar unter die Plasmazündung gehalten.*

### 3.2.3 Wurzelkanalfüllung

Die Wurzelkanäle wurden vertikal mit thermoplastischer Guttapercha im Sinne der modifizierten Schilder-Technik kondensiert. Diese Methode gewährleistet,

dass mögliche Ramifikationen, Anastomosen, Ausbuchtungen, Seitenkanäle und eine Deltabildung im apikalen Drittel homogen und dicht gefüllt wurden.

Zunächst wurde der Master Cone (Dentsply Sirona, Deutschland) in den aufbereiteten Kanal eingepasst und gegebenenfalls gekürzt, bis er apikal leicht klemmte. Die Plugger (BeeFill® (VDW, München)) wurden mit einem Silikonstopp versehen, sodass sie bis 3 mm vor dem apikalen Endpunkt eingeführt werden konnten. Der mit Sealer (AH-Plus® (Dentsply Sirona, Konstanz, Deutschland) benetzte Master Cone wurde bis auf die zuvor ermittelte Arbeitslänge in den Wurzelkanal eingebracht. In der Downpack-Phase wurde die Guttapercha plastifiziert, Überschüsse entfernt und die Guttapercha wiederholt kondensiert, bis eine Länge von 3 bis 4 mm vor Apex erreicht wurde. Während der Backfill-Phase wurde der verbliebene Wurzelkanal durch Injektion von thermoplastischer Guttapercha über das Backfill-Handstück (BeeFill® (VDW, München)) mit einer Einmal-Kartusche (BeeFill® (VDW, München)) und weitere Sequenzen von Plastifizierung und Kompaktion mit Guttapercha ausgefüllt. Ein abschließender definitiver Verschluss erfolgte nicht.

### **3.2.4 Aufbau des Testsystems**

Für die In-vitro Studie wurde unter sterilen Bedingungen in Anlehnung an die Dissertation von Pollak (2010) ein präparierter und kanalgefüllter Wurzelstumpf zwischen zwei voneinander getrennten Kammern fixiert (Abbildung 6).



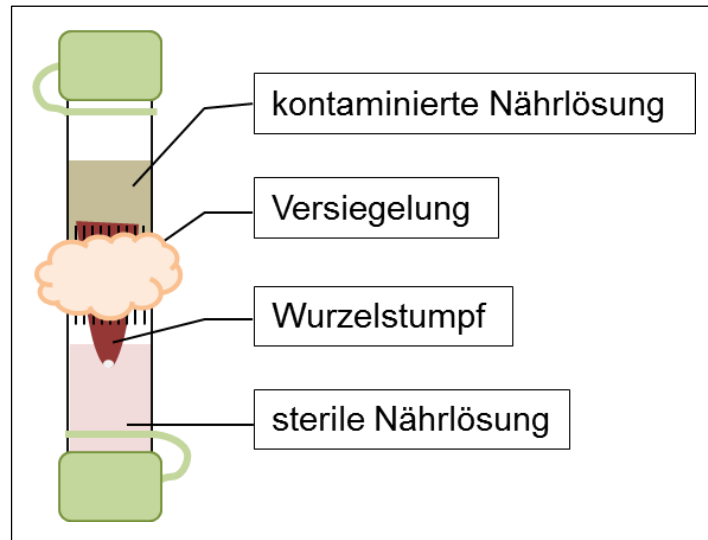


Abbildung 6: Testaufbau: Das Grundgerüst bildeten zwei bodenlose Kunststoffröhrchen. Die Wurzel wurde zirkulär mit Impregum™ umspritzt und zwischen den Röhrchen fixiert. Von außen aufgebrachtes Kallocryl® versiegelte den Aufbau.

Dafür wurde mit einer Diamantscheibe (Komet Dental, Baden-Württemberg, Deutschland) von zwei Kunststoffröhrchen á 2,0 ml (Reaktionsgefäß (Biozym, München, Deutschland)) der Boden abgetrennt. Die Proberöhrchen waren farblos, steril, freistehend und hatten einen aufgesetzten Loopverschluss für eine spätere Probeentnahme. Gegen Verdrehung wurden die Röhrchen zusätzlich mit Retentionsrillen versehen. Anschließend wurde der Wurzelstumpf zirkulär mit Impregum™ (Penta (3M Espe, Neuss, Deutschland)) zwischen den beiden Röhrchen fixiert, wobei der Kanalein- und -ausgang ausgespart wurde. Von außen wurden die Röhrchen mit CPGM (Kallocryl® (Speiko, Münster, Deutschland)) stabilisiert. Unter der sterilen Werkbank wurden in die Kammern jeweils 900 µl Casein-Soja-Pepton-Lösung (kurz: CASO) pipettiert. Für die CASO-Lösung wurden nach Herstellerangabe 30,0 g CASO-Lösungs-Pulver der Firma Carl Roth in einem Liter destilliertem Wasser suspendiert. Die Mischung wurde erwärmt, bis sich das Pulver vollständig aufgelöst hatte und für 20 min bei 121 °C im Autoklav sterilisiert. Die Lösung ist nach Angabe der Firma Carl Roth eine optimale Nährbouillon für die Kultivierung aller Mikroorganismen, wie auch dem Testbakterium *E. faecalis*. Für eine

Bakteriensuspension wurden Kolonien des Testbakteriums (Bakterienstamm: *E. faecalis* ATCC 29212) auf einem Blutagar gezüchtet. Mit einer Impföse wurden einzelne Kolonien aufgenommen, in eine CASO-Lösung gegeben und weitere 48 h in einem Brutschrank kultiviert, um eine ausreichende Menge an Bakterien zu generieren. Die Nährlösung der oberen Kammer wurde mit dem Bakterium *E. faecalis* kontaminiert. Einzig der obturierte natürliche Wurzelkanal stellte eine Verbindung von der oberen in die untere Kammer dar. Beide Kammern konnten unabhängig voneinander geöffnet werden. Abbildung 7 zeigt die einzelnen Schritte im Gesamtüberblick.

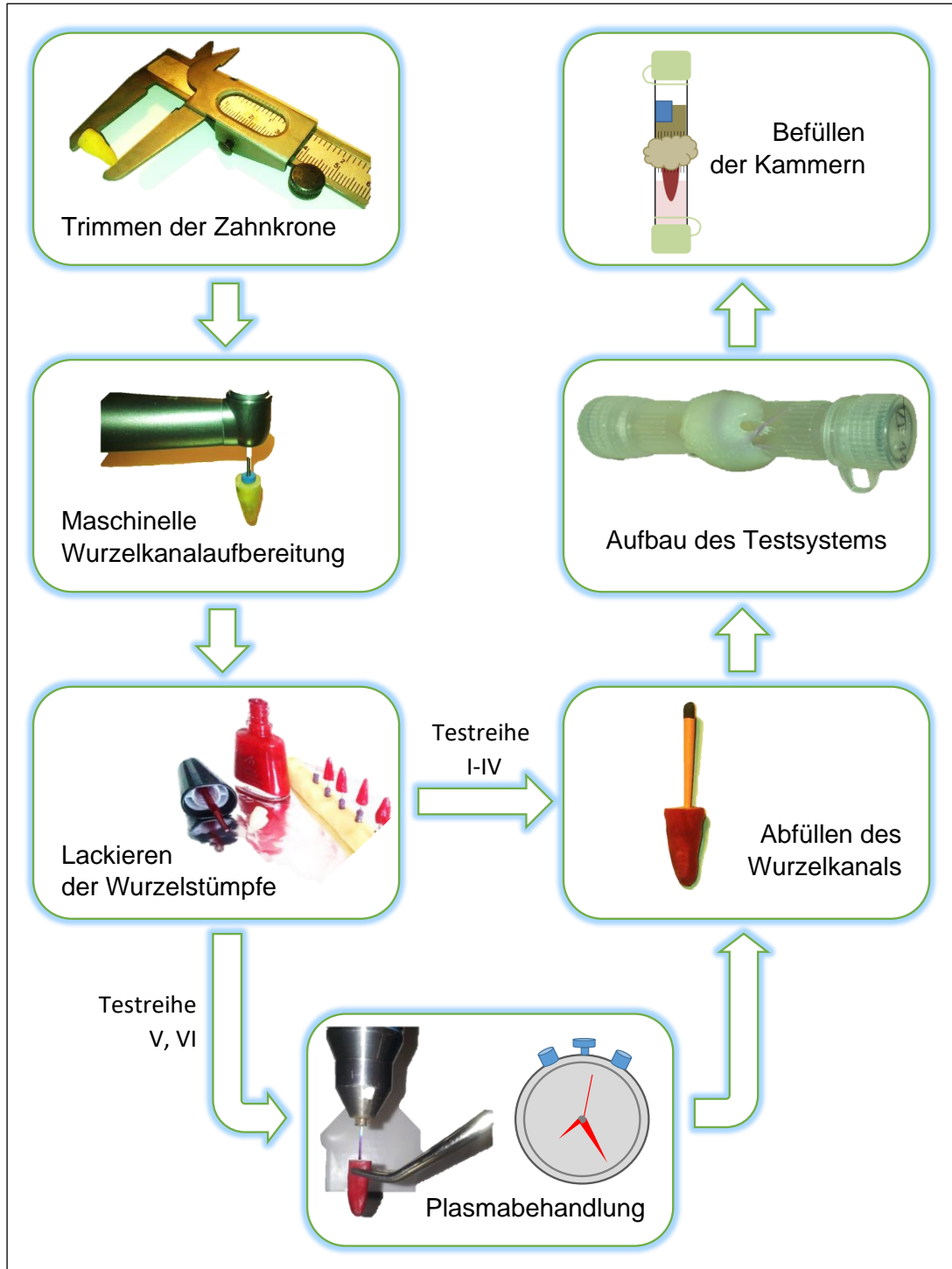


Abbildung 7: Von der Vorbehandlung bis zum Aufbau des Testsystems: Der Zahn wurde koronal gekürzt. Anschließend wurde der Wurzelkanal maschinell aufbereitet. Seitenkanäle wurden durch das Lackieren abgedichtet. Vor der konventionellen Wurzelkanalfüllung wurde ein Teil der Wurzelstümpfe mit KAP behandelt. Der Wurzelstumpf wurde zwischen zwei Röhrchen fixiert. Zuletzt wurden die Kammern beider Röhrchen unabhängig voneinander befüllt und die Nährlösung der oberen Kammer zusätzlich mit dem Bakterium *E. faecalis* kontaminiert.

### 3.2.5 Testreihen

Die Studie umfasste sechs Testreihen. Die ersten drei Testreihen (I–III) überprüften den Versuchsaufbau. Testreihe IV bildete die Kontrollgruppe. Es handelte sich um eine Wurzelkanalfüllung ohne Plasmabehandlung. Testreihe V und VI überprüften die Wandständigkeit durch eine Vorbehandlung der Kanaloberfläche mit KAP.

#### 3.2.5.1 Testreihe I-III

Die Testreihe I mit drei Zähnen diente dem Nachweis der Durchlässigkeit der Nährlösung über den Wurzelkanal von der oberen in die untere Kammer. Die Wurzelstümpfe wurden aufbereitet, jedoch weder mit Plasma behandelt, noch abgefüllt. Auf diese Weise wurde sichergestellt, dass die Nährlösung der oberen, kontaminierten Kammer ungehindert mit der Nährlösung der unteren Kammer kommunizieren konnte. Dieser Aufbau überprüfte, ob eine Bakterienpassage über den Kanal möglich ist.

Für die Kontrolle der Dichtigkeit (Testreihe II, mit drei Zähnen) des Testsystems trennte ein Zahn als Ganzes, von welchem weder die Krone entfernt, noch der Wurzelkanal aufbereitet wurde, die beimpfte von der sterilen Nährlösung. Diese Testreihe zeigte, dass die Kammern einzig über den Wurzelkanal kommunizieren und ansonsten kein Austausch der Lösungen stattfand.

In der Testreihe III mit drei Zähnen zur Fremdkontamination wurde die Sterilität des Versuchsaufbaus nachgewiesen. Die Zähne wurden koronal getrimmt, die Wurzelkanäle maschinell aufbereitet und warm vertikal gefüllt. Die Nährlösung der oberen Kammern der Testreihe III wurden nicht mit dem Bakterium *E. faecalis* kontaminiert, sodass ein Nachweis auf Bakterien eine Kontamination anderen Ursprungs (z. B. während der Probenentnahme) gezeigt hätte.

### 3.2.5.2 Testreihe IV

Die Testreihe IV ist die Kontrollgruppe und umfasste 14 Zähne. Der Wurzelkanal wurde aufbereitet und warm vertikal kondensiert, jedoch zuvor nicht mit Plasma behandelt. Der gefüllte Wurzelstumpf wurde in einem Röhrenchensystem fixiert und die Nährlösung der oberen Kammer mit dem Testbakterium beimpft.

### 3.2.5.3 Testreihe V und VI

In der Testreihe V wurden 15 Zähne, in der Testreihe VI 13 Zähne koronal gekürzt. Der Wurzelkanal wurde maschinell aufbereitet und vor der sterilen Wurzelkanalfüllung mit KAP für unterschiedliche Zeitintervalle ( $t_1=30$  s;  $t_2=120$  s) vorbehandelt.

Tabelle 1: Zusammenfassende Übersicht über die Darstellung der Testreihen.

I	II	III	IV	V	VI	Vorbehandlung der extrahierten Zähne				
						koronal eingekürzt	Kanal aufbereitet	Wurzeloberfläche plasmabehandelt	Kanal abgefüllt	obere Kammer kontaminiert
I	Durchlässigkeit	(n = 3)	x	x					x	
II	Dichtigkeit	(n = 3)							x	
III	Fremdkontamination	(n = 3)	x	x				x		
IV	Konventionell abgefüllt	(n = 14)	x	x				x	x	
V	✓ Plasma behandelt, $t_1 = 30$ s	(n = 15)	x	x	x	x	x	x	x	
VI	✓ Plasma behandelt, $t_2 = 120$ s	(n = 13)	x	x	x	x	x	x	x	

### 3.2.6 Vorbereitung des Arbeitsplatzes

Bereits im Vorfeld wurden verwendete Materialien wie Abformmaterial (Impregum™ Penta (3M Espe, Neuss, Deutschland)), Guttapercha (Guttapercha (VDW, München, Deutschland)) und Sealer (AH-Plus® (Dentsply, Konstanz, Deutschland)) auf Kontamination überprüft (Abbildung 8). Die verschiedenen Materialien wurden auf einem CASO-Agar, auf welchem eine große Anzahl anspruchsvoller Bakterien wächst, kultiviert und nach 48 h ausgewertet. Dabei konnte keine Kontamination nachgewiesen werden. Auch die Sterilisation der Wurzelstümpfe konnte erfolgreich belegt werden. Dafür wurden zwei Wurzelstümpfe nach der Sterilisation in einer CASO-Nährlösung verschlossen gelagert. 48 h später wurde die Nährlösung negativ auf Bakterien untersucht.

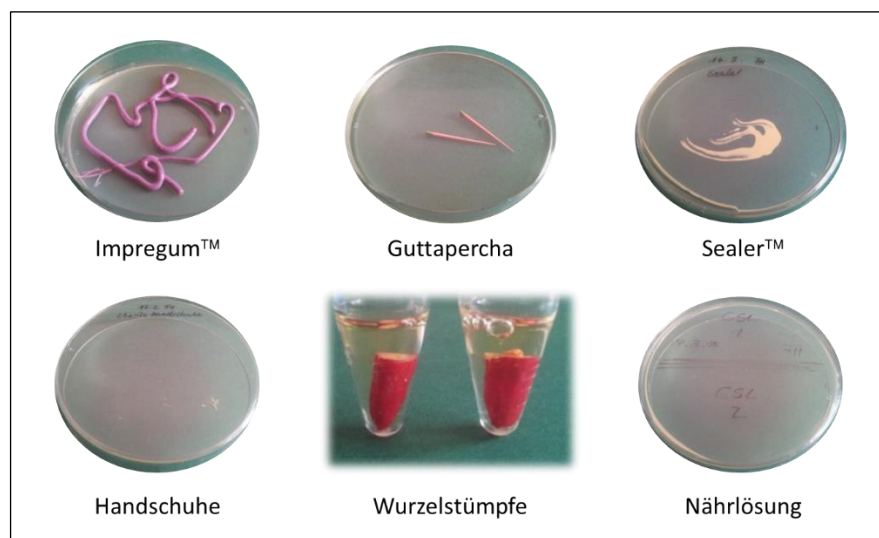


Abbildung 8: Exemplarische Darstellung mikrobiell untersuchter Materialien.

Zahnmedizinische Instrumente und weitere Materialien wie beispielsweise Tupfer wurden eingeschweißt sterilisiert (Abbildung 9). Der Arbeitsplatz wurde mit sterilen Tüchern eingedeckt, der Behandler steril eingekleidet. Die Wurzelstümpfe wurden je nach Testreihe mit dem Plasmajet behandelt, abgefüllt

und in das Testsystem integriert, wobei von einer weiteren Person steril assistiert wurde. Das Befüllen der Kammern mit der Nährlösung wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt.



Abbildung 9: Steril abgepackte Arbeitsmaterialien.

### 3.2.7 Mikrobiologische Untersuchungen

#### 3.2.7.1 Quantitativer, kultureller Nachweis

Während des Versuchszeitraums von zwei Monaten wurden die Nährlösungen der unteren Kammern aller Teströhrchen jeden zweiten Tag auf Kontaminationen untersucht. Dabei wurde überprüft, ob und zu welchem Zeitpunkt der Übertritt der Bakterien von der Nährlösung der oberen in die Nährlösung der unteren Kammer erfolgte. Die Testsysteme wurden zur Durchmischung innerhalb der sterilen Werkbank (Abbildung 10) leicht geschwenkt. Mit einer Impföse wurde eine Probe aus der Nährlösung der unteren Kammer auf einem CASO-Agar ausgestrichen und für 24 h bei 35 °C in den Brutschrank gestellt. Am Folgetag wurden die Kulturplatten ausgewertet und bei einem Nachweis auf das Testbakterium *E. faecalis* der qualitative Nachweis der koloniebildenden Einheiten (KbE) in zweifacher Bestimmung durchgeführt.



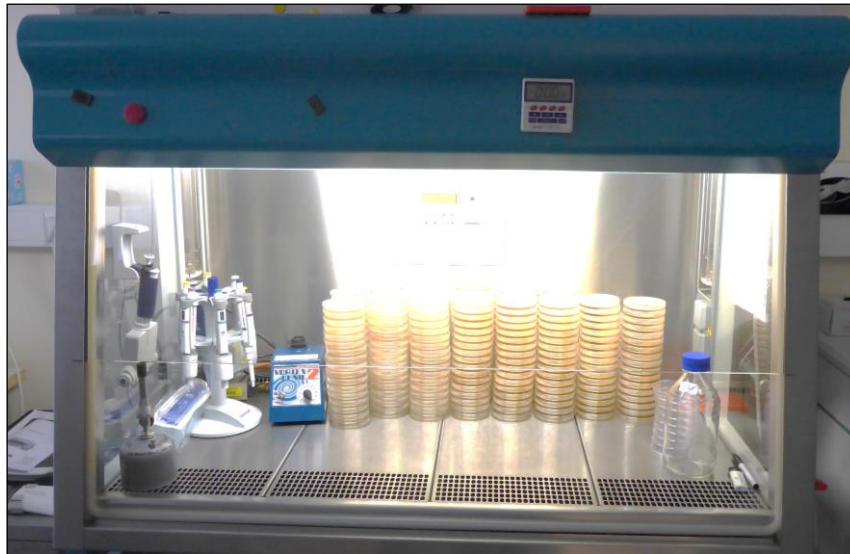


Abbildung 10: Steriler Arbeitsplatz mit Abzug. Zu sehen sind u. a. CASO-Agar-Kulturplatten für den mikrobiologischen Nachweis des Testbakteriums und Pipetten unterschiedlichen Volumens.

In Vorversuchen wurde ein alternatives Nachweisverfahren mittels einer Bakterien-Farbstoff-Kombination erprobt. Aufgrund der ungenügenden Nachweisstärke wurde dieses Verfahren verworfen.

### **3.2.7.2 Bestimmung der koloniebildenden Einheit**

Wurde die Nährlösung einer unteren Kammer positiv auf *E. faecalis* getestet, erfolgte die Bestimmung der KbE pro ml für den qualitativen Nachweis über eine dekadische Verdünnungsreihe. Zunächst wurde die beimpfte Nährlösung der oberen Kammer als Ausgangswert ausgezählt. Bei einem Nachweis des Testbakteriums in der Nährlösung der unteren Kammer wurde die KbE am ersten, zweiten und siebenten Tag nach Kontamination eines Testsystems ausgewertet. Diese Bestimmung sollte die Kontamination zu verschiedenen Zeitpunkten ermitteln.

Dafür wurden jeweils 900  $\mu$ l 0,9%ige NaCl in sechs Nöpfchen einer 24-Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert. In das erste Nöpfchen wurden 100  $\mu$ l der kontaminierten Bakteriensuspension der Nährlösung der unteren Kammer hinzugefügt und durchmischt, was eine Verdünnung von 1:10 ergab. Aus dieser Verdünnung wurden 100  $\mu$ l in das zweite Nöpfchen pipettiert



(Verdünnung:  $10^{-2}$ ). Aus dem zweiten Näpfchen wurden wieder  $100\ \mu\text{l}$  in das dritte Näpfchen pipettiert (Verdünnung  $10^{-3}$ ). Bis zum sechsten Näpfchen (Verdünnung  $10^{-6}$ ) wiederholte sich dieser Vorgang (Abbildung 11) unter ständigem Wechsel der Pipettenspitze. Anschließend wurden aus den letzten drei Verdünnungen in Doppelbestimmung je  $100\ \mu\text{l}$  auf einem CASO-Agar pipettiert, mit einem Drigalski-Spatel (Moonlab®, Los Angeles, Kalifornien) ausgestrichen und für 24 h bei  $35\ ^\circ\text{C}$  in einem Brutschrank inkubiert. Am folgenden Tag wurden die Kolonien der auswertbaren Platten ausgezählt und in KbE/ml umgerechnet. Als auswertbare Platten galten diejenigen, bei denen mindestens 30 bis maximal 300 vereinzelte Kulturen mit dem bloßen Auge sichtbar waren.

Die Anzahl der KbE der jeweiligen Probe errechnete sich aus der Zahl der Kolonien einer Kulturplatte multipliziert mit dem vorliegenden Verdünnungsfaktor.

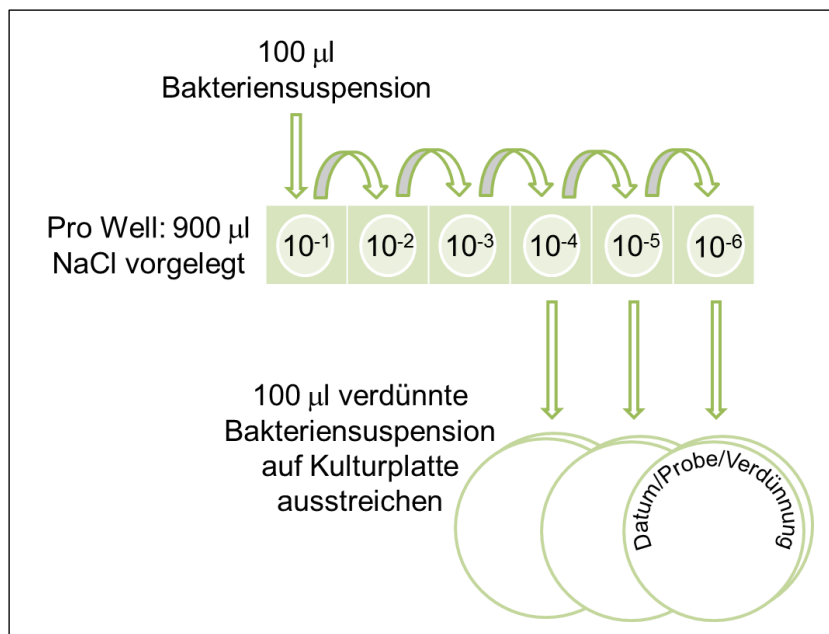


Abbildung 11: Verdünnungsreihe.

## 4 Ergebnisse

Die Messwerte wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ausgewertet und dargestellt. Für eine bessere Vergleichbarkeit wurde die Anzahl der Einzelfälle durch eine relative Darstellung ersetzt, bei der die Gesamtzahl der Fälle in allen Vergleichsgruppen gleich 100 % gesetzt wurde. Für alle durchgeführten Tests wurde ein Signifikanzniveau (Irrtumswahrscheinlichkeit) von  $\alpha=0,05$  festgelegt.

### 4.1 Überprüfung des Testsystems




Die verwendeten Materialien wurden vor und während der Studie auf einem CASO-Agar kultiviert und nach jeweils 48 h ausgewertet, um eine Fremdkontamination auszuschließen. Es konnte keine Kontamination festgestellt werden. In den ersten drei Testreihen wurde die Durchlässigkeit (Testreihe I), die Dichtigkeit (Testreihe II) und die Fremdkontamination während der Probeentnahme (Testreihe III) überprüft.

Bei der Kontrolle der Durchlässigkeit (Testreihe I) konnte am ersten Tag ein Übergang der Mikroorganismen über den aufbereiteten, nicht gefüllten Wurzelkanal von der Nährlösung der oberen in die Nährlösung der unteren Kammer und damit einhergehend eine Kontamination der zuvor sterilen Nährlösung nachgewiesen werden. Damit wurde gezeigt, dass eine Passage des verwendeten Bakteriums über den Wurzelkanal möglich ist.

Über den gesamten Untersuchungszeitraum blieben die Nährlösung der unteren Kammern der Testreihe II, in der die Dichtigkeit geprüft wurde, steril. Ein Austausch der Nährlösungen beider Kammern sowie eine mögliche Passage des verwendeten Bakteriums außerhalb des Wurzelkanals kann damit ausgeschlossen werden.

Die Testreihe III diente dem Ausschluss einer möglichen Fremdkontamination der Nährlösungen beider Kammern durch den Versuchsaufbau, verwendete Materialien oder die Probeentnahme. Es konnte über den gesamten Untersuchungszeitraum von zwei Monaten kein Bakterienwachstum in den Nährlösungen beider Kammern nachgewiesen werden. Eine Kontamination des Versuchsaufbaus durch Mikroorganismen aus der Umgebung oder unsauberes Arbeiten ist daher unwahrscheinlich.

*Tabelle 2: Darstellung der Testreihen I, II, III. Wurde die Nährlösung der unteren Kammer positiv auf E. faecalis getestet, galt die Probe als kontaminiert. Bei der Durchlässigkeit erreichte in drei von drei Proben (100 %) E. faecalis die untere Kammer. Testreihe II und III blieben steril (Kontamination = 0 %).*

Kontamination während des Untersuchungszeitraums von 62 Tagen		
	Testreihe	Kontamination
	Testreihe I Durchlässigkeit	100 %
	Testreihe II Dichtigkeit	0 %
	Testreihe III Fremdkontamination	0 %

## 4.2 Multiple Regressionsanalyse

Anhand der experimentell ermittelten Werte wurde zur Glättung der Stufenfunktion jeweils eine Trendfunktion der einzelnen Testreihen gefittet. Für die

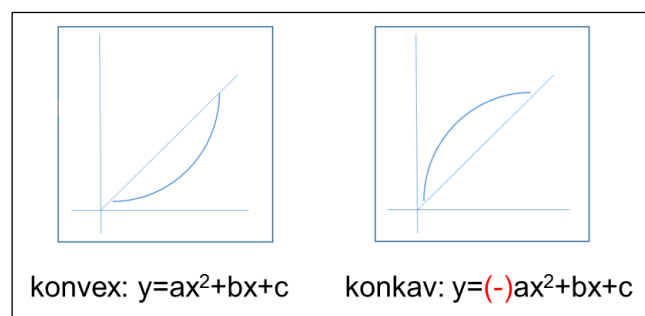
## Ergebnisse

maximale Annäherung einer Trendlinie an die Stufenfunktion wurde der Korrelationskoeffizient herangezogen, welcher bei maximal 1,00 liegt. Im Vergleich unterliegt die lineare und exponentielle Korrelation der polynomischen Korrelation zweiten Grades, deren verallgemeinerter Verlauf sich am nächsten an den experimentell ermittelten Werten orientiert (Tabelle 3).

*Tabelle 3: Korrelationskoeffizient der Testreihen IV-VI. Die polynomische Funktion korreliert am höchsten mit der Stufenfunktion der experimentell ermittelten Werte.*

Funktion	Testreihe IV	Testreihe V	Testreihe VI
	Kontrollgruppe	Plasma t=30 s	Plasma t=120 s
Linear	0,8442	0,9403	0,9138
Exponentiell	0,7701	0,9173	0,8788
Polynomisch 2. Grades	<b>0,8562</b>	<b>0,9642</b>	<b>0,9175</b>

Der Kurvenverlauf der polynomischen Funktion zweiten Grades zeigt eine linsenförmige Abweichung von der linearen Funktion, wobei ein konvexer Verlauf mit positivem quadratischem Glied nach unten und ein konkaver Verlauf mit negativem quadratischem Glied nach oben ausgebuchtet ist (Abbildung 12).



*Abbildung 12: Kurvenverlauf der polynomischen Funktion zweiten Grades durch gefittete Werte der Stufenfunktion.*

Bei einer überwiegend linear ansteigenden Grundfunktion führte in diesem Fall ein positives quadratisches Glied zu einem gebremsten Anfangsanstieg und

einer Beschleunigung zum Ende bzw. ein negatives quadratisches Glied zu einer beschleunigten Anfangsgeschwindigkeit, die zum Schluss eher asymptotisch verläuft und sich einem Grenzwert annähert.

### 4.3 Kontamination der Testreihen IV-VI im Einzelnen

Die Testreihe IV untersuchte die Dichtigkeit konventionell abgefüllter Wurzelkanäle ohne Plasmavorbehandlung. In der Gesamtheit verläuft die Kurve konvex, verhält sich anfangs abgebremst und steigt nach einem langstufigen Mittelteil nach 50 Tagen an (Abbildung 13). Dabei lässt sich bereits in der ersten Woche bei knapp 21 % der Testsysteme in den Nährlösungen der unteren Kammer das Bakterium *E. faecalis* nachweisen. Von Tag elf bis 51 stieg die Anzahl der kontaminierten Nährlösungen nur in zwei Fällen mit einer weiteren positiv getesteten Nährlösung schwach an. Ab Tag 53 ließen sich bei 50 % der Testreihe IV Bakterien nachweisen. Die Testreihe IV der konventionell abgefüllten Prüfungsgruppe schließt mit 64 % kontaminierten Nährlösungen der unteren Kammern ab.

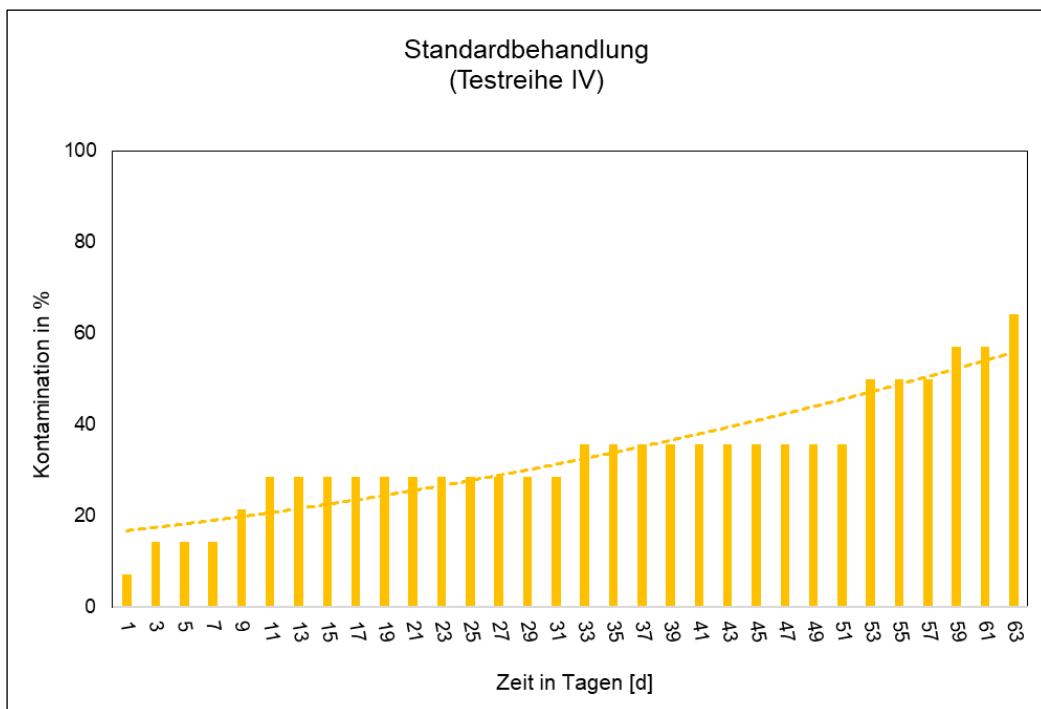


Abbildung 13: Grafische Darstellung der Testreihe IV mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades.

## Ergebnisse

In der Testreihe V wurde die Wurzeloberfläche mit KAP mit einem Zeitintervall von  $t_1=30$  s vorbehandelt. Die Prüfwertkurve verharrt mit nur einem Durchbruch bis zum 21. Tag auf einem sehr niedrigen Niveau (niedriger Anfangswert, Plasmaerfolg) und steigt langsam, nahezu stetig an (Abbildung 14). Sie zeigt wie die Testreihe zuvor einen konvexen Verlauf. Am letzten Tag sind mit nur 53 % deutlich weniger Nährlösungen der unteren Kammern der Testreihe V kontaminiert als in der unbehandelten Gruppe.

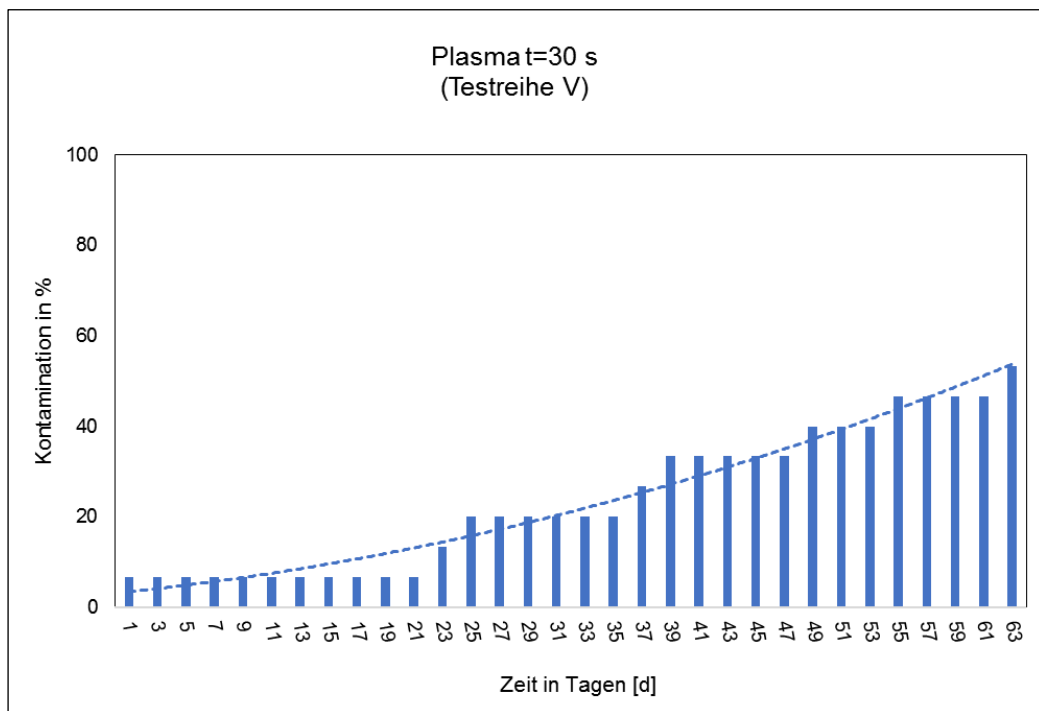


Abbildung 14: Grafische Darstellung der Testreihe V mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades.

## Ergebnisse

Von den Wurzelstümpfen, welche für 120 s mit Plasma vorbehandelt wurden (Testreihe VI), diffundierten bereits zu Beginn in zwei von 13 Testsystemen Bakterien durch den abgefüllten Wurzelkanal. So beginnt die Kurve mit einem hohen Anfangswert, zeigt im Gegensatz zu den vorherigen Testreihen einen konkaven, somit anfänglich steilen Kurvenverlauf, welcher zum Ende hin abflacht (Abbildung 15). Die Testreihe endet ähnlich wie die Testreihe V mit einer Gesamtkontamination von 54 % und liegt innerhalb des bei diesem Experiment angesetzten Prüfungszeitraums ebenfalls unterhalb der nicht mit Plasma behandelten Testreihe.

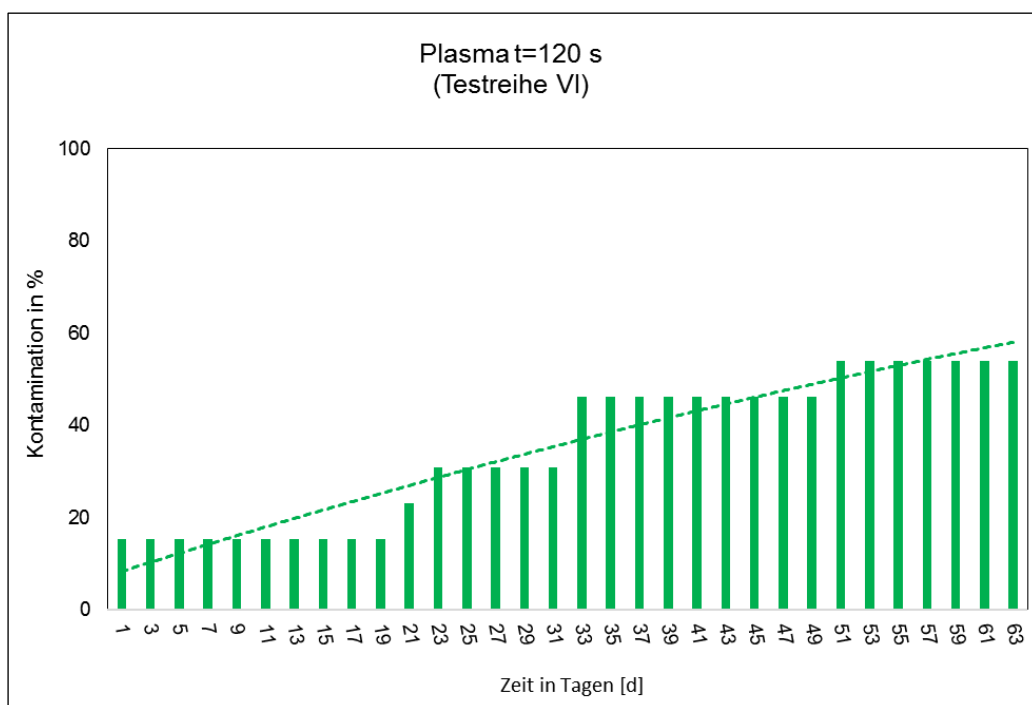


Abbildung 15: Grafische Darstellung der Testreihe VI mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades.



#### 4.4 Testreihe IV-VI im Vergleich

Abbildung 16 zeigt die abgefüllten Wurzelkanäle nach zahnmedizinischem Standard im Vergleich zu den plasmabehandelten Wurzelkanalfüllungen. Relativ betrachtet sind zu Beginn der Untersuchung von den mit 30 s plasma-behandelten Zähnen am wenigsten Nährlösungen der unteren Kammern kontaminiert. Die konventionell abgefüllten Wurzelkanäle steigen dagegen mit den höchsten Anfangswerten für Kontamination in den Kurvenverlauf ein. Der konvexe Kurvenverlauf der beiden Testreihe IV und V deutet auf einen langsamen Anstieg. Die mit 120 s vorbehandelten Wurzelkanäle zeigen dagegen einen konkaven Kurvenverlauf, überholen bereits im ersten Drittel des Untersuchungszeitraums die relative Häufigkeit kontaminierter Nährlösungen der konventionell abgefüllten Wurzelkanäle und weisen nach knapp zwei Monaten die meisten Kontaminationen auf.

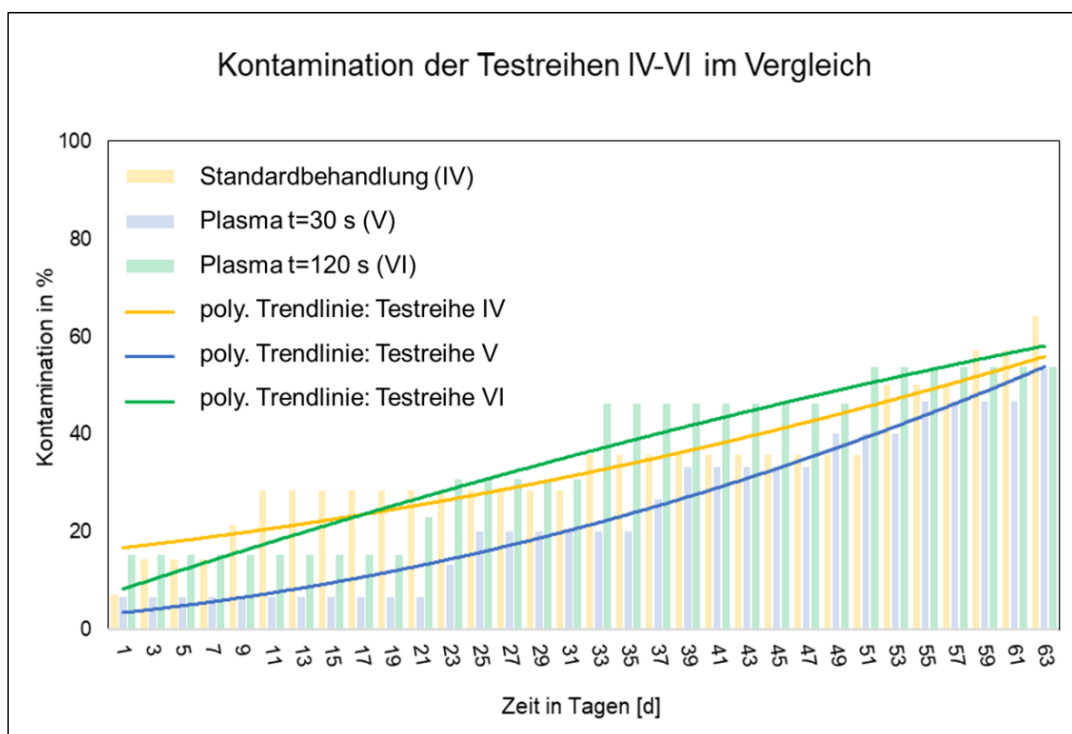


Abbildung 16: Kontaminierte Nährlösungen der unteren Kammern der Testreihen IV, V und VI im Vergleich. Die Trendlinien der dazugehörigen Stufenfunktionen wurden hervorgehoben; die Stufenfunktionen als Anhaltspunkte in den Hintergrund gestellt.

In Abbildung 17 dient die konventionelle Wurzelkanalfüllung (Testreihe IV) als Nulllinie (gelb markiert), an welcher sich die prozentualen Abweichungen der Testreihen V und VI orientieren. In der Datentabelle darunter wird die Differenz je nach Größe farbig markiert. Grün untermalte Werte beschreiben eine geringe Bakteriendurchlässigkeit der Wurzelkanalfüllung durch eine Vorbehandlung mit Plasma, während rot eingefärbte Werte eine höhere Kontamination durch *E. faecalis* aufweisen. Dabei zeigt sich bei der Betrachtung des gesamten Verlaufs der Kontamination der Testreihen IV-V, dass die Vorbehandlung mit Plasma  $t_1=30$  s bis auf die Tage 49-51 durchweg besser abschneidet als die konventionelle Wurzelkanalfüllung. Das beste Ergebnis erzielt die Testreihe V im ersten Drittel der Zeitachse. Anschließend nähern sich die Werte der Testreihe IV an, zeigen zuletzt jedoch bessere Ergebnisse als die wurzelgefüllten Stümpfe ohne Plasmabehandlung. Die mit Plasma  $t_2=120$  s vorbehandelten Wurzelkanalfüllungen weisen zu Beginn die meisten kontaminierten Nährlösungen der unteren Kammern auf. Im ersten Drittel der Zeit zeigen sich auch hier weniger Kontaminationen, doch mehr als in der Testreihe V. Ab dem zweiten Drittel der Zeit sind die Werte der Testreihe V der Kontaminationen am höchsten im Vergleich zu den zwei anderen Testreihen und enden zuletzt mit dem gleichen Ergebnis wie die Testreihe IV.

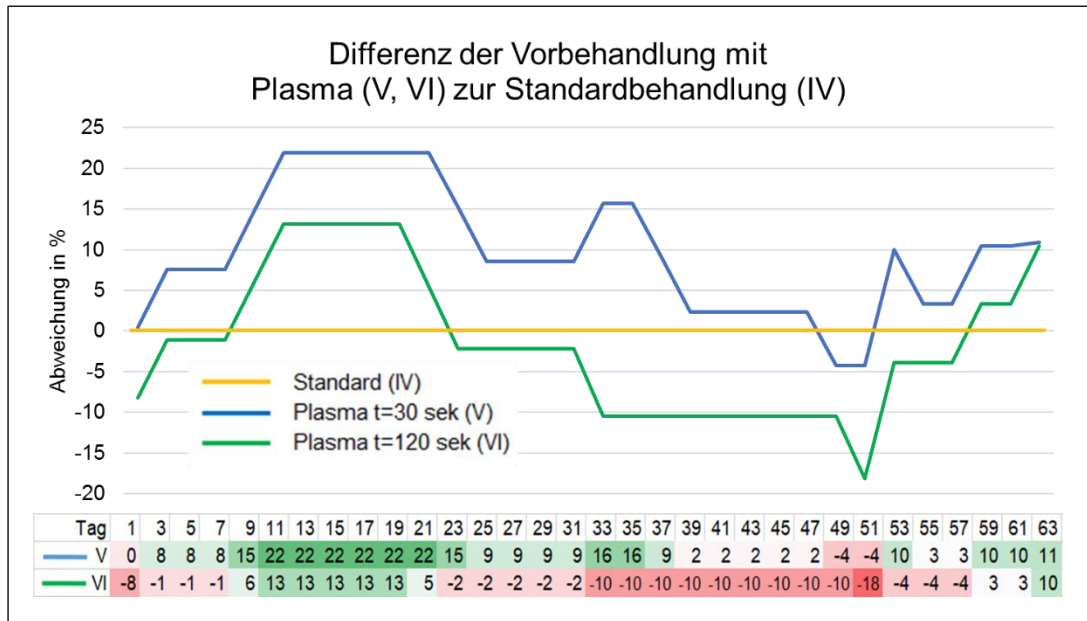


Abbildung 17: Prozentuale Abweichung der Kontamination der mit Plasma vorbehandelten Wurzelkanalfüllungen (Testreihe V, VI) zur konventionellen Behandlung (Testreihe IV). Testreihe IV (gelb) markiert die Nulllinie. Werte darüber weisen eine bessere Wandständigkeit auf, während eine Unterschreitung der Nulllinie eine höhere Durchlässigkeit im Vergleich zur konventionellen Wurzelkanalfüllung bedeutet.

#### 4.5 Testreihe IV, V und VI im direkten Vergleich der absoluten Werte

In Bezug auf die Anfangswerte und den anschließenden Kurvenverlauf zeigt sich bei den absoluten Werten kein statistisch signifikanter Unterschied zur relativen Betrachtungsweise. Nur bei den Wurzelkanälen, die für 30 s mit KAP vorbehandelt wurden, zeigen sich positive Ergebnisse. Die Plasmabehandlung von 120 s startet zunächst mit zwei Kontaminationen, bleibt aber dann hinter den unbehandelten Proben zurück. Nach 23 Tagen erreichen sie den gleichen Stand wie die unbehandelte Kontrollgruppe, um sie nach 31 Tagen zu überholen. Dann flacht ihre Kurve ab.

#### 4.6 Statistische Auswertung der Testreihen IV-VI

Die Studie untersucht, ob eine Vorbehandlung mit KAP einen Einfluss auf die Durchlässigkeit der Wurzelkanalfüllung für Bakterien hat. Die Nullhypothese

lautete: Eine Vorbehandlung der Wurzelkanaloberfläche mit KAP birgt keinen Vorteil für die Qualität der Wurzelkanalfüllung hinsichtlich der Wandständigkeit gegenüber der konventionellen Wurzelkanalfüllung ohne eine Plasmavorbehandlung. Es handelt sich um verbundene Stichproben, denn die Wurzelkanalfüllung wurde als gemeinsamer Laborparameter gewertet. Die Messungen der Kontaminationen sind abhängig von der Zeit, jedoch innerhalb der Stichproben unabhängig, da zwischen den Stichproben keine Verbindung besteht und diese sich nicht gegenseitig beeinflussen. Die unabhängige Variable ist die Vorbehandlung mit Plasma in drei Ausprägungen ( $k=3$  Faktorstufen): keine Vorbehandlung, Vorbehandlung mit KAP  $t_1=30$  s, Vorbehandlung mit KAP  $t_2=120$  s. Zur Durchführung der Untersuchung wurden die präparierten Zähne den drei Testreihen zufällig zugeordnet. Anschließend wurde die Kontamination erfasst. Die Testreihen IV, V und VI weisen nach dem Kolmogorow-Smirnow-Test für  $\alpha=5$  % keine Normalverteilung auf. Der Signifikanztest nach Levene weist bei der Überprüfung der Testreihen keine Varianzhomogenität auf. Damit sind die Grundbedingungen für eine Varianzanalyse nicht gegeben, sodass zur statistischen Auswertung der Testreihen verteilungsfreie Tests herangezogen wurden. Die Wurzelkanalfüllung unter konventionellen Bedingungen (Testreihe IV) und eine Vorbehandlung mit KAP (Testreihe V, VI) wurde anschließend mittels Games-Howell Post-Hoc-Test, doppeltem t-Test (Zweistichprobentest) und zuletzt über eine multiple Regressionsanalyse verglichen.

### **4.7 Games-Howell-Test**

Der Games-Howell Post-Hoc-Test (Tabelle 4) zeigt einen signifikanten Unterschied ( $p<0,05$ ) in den prozentualen Kontaminationswerten zwischen den Testreihen V zu IV und V zu VI. Die größte Differenz der Mittelwerte weist die Testreihe V zu VI mit -11,35 % auf. Darauf folgt mit -9,7 % eine weitere signifikante Differenz bei den Testreihen V und IV. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % kann davon ausgegangen werden, dass die Testreihe IV zur Testreihe V eine durchschnittlich ca. 9,7 % höhere Kontaminationsbetroffenheit aufweist. Die Testreihen IV und VI zeigen mit einer mittleren

## Ergebnisse

Differenz von 1,6 % bei einem Signifikanzwert von  $p=0,895$  und  $\alpha=0,05$  einen im Durchschnitt ähnlichen Kontaminationsgrad.

Tabelle 4: Games-Howell Post Hoc-Test

Abhängige Variable: Kontamination in %						
Testreihe	Testreihe	Mittlere Differenz	Standardfehler	Signifikanz	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Testreihe IV	Testreihe V	9,73214*	3,59008	<b>0,023</b> *	1,1034	18,3609
	Testreihe VI	-1,61401	3,59654	<b>0,895</b> <sup>ns</sup>	-10,2585	7,0305
Testreihe V	Testreihe IV	-9,73214*	3,59008	<b>0,023</b> *	-18,3609	-1,1034
	Testreihe VI	-11,34615*	3,93032	<b>0,015</b> *	-20,7839	-1,9085
Testreihe VI	Testreihe IV	1,61401	3,59654	<b>0,895</b> <sup>ns</sup>	-7,0305	10,2585
	Testreihe V	11,34615*	3,93032	<b>0,015</b> *	1,9085	20,7839

Differenz der Mittelwerte  
 \*. signifikant ( $\alpha=0,05$   $p < \alpha$ )  
<sup>ns</sup>. nicht signifikant

## 4.8 Ergebnis der Bestimmung der koloniebildenden Einheiten

### 4.8.1 Interpretation der Ergebnisse auf Basis von Box-Plots

Bei positiv getesteter Nährlösung einer unteren Kammer auf *E. faecalis* wurden die KbE mittels Verdünnungsreihe am ersten, zweiten und siebenten Tag ausgezählt. Im folgenden Teil werden die relevanten Testreihen IV, V und VI erläutert. Jede Probe wurde doppelt ausgestrichen (Probe A und B), um Differenzen durch Verunreinigungen oder unsachgemäße Handhabung zu minimieren. Dementsprechend besteht Testreihe IV aus neun, Testreihe V aus acht und Testreihe VI aus sieben kontaminierten Doppelproben. Zur weiteren Berechnung wurde der Mittelwert aus Probe A und Probe B herangezogen.

## Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurden alle zwei Tage die Nährlösungen der unteren Kammern auf eine Kontamination durch *E. faecalis* überprüft. Sobald die Nährlösung der unteren Kammer über einen Abstrich auf einem CASO-Agar positiv auf das Bakterium gewertet wurde, zeigen angelegte Verdünnungsproben das Wachstumspotenzial von *E. faecalis* der betroffenen Probe. Abbildung 18 zeigt das Bakterienwachstum für die Testgruppen IV, V und VI am jeweils ersten, zweiten und siebenten Tag. Es zeigt sich, dass der Zyklus der Probenentnahme Einfluss auf die Ausgangskonzentration haben kann, die aber bei einer ausreichend hohen Anzahl von Proben vernachlässigbar ist. Ausgehend vom ersten bis zum siebenten Tag rücken die Verteilungen der mittleren 50 % der Testreihen stärker zusammen, wobei gleichzeitig Werte außerhalb des Streubereichs über alle drei Testreihen der drei Auszählungen zurückgehen.

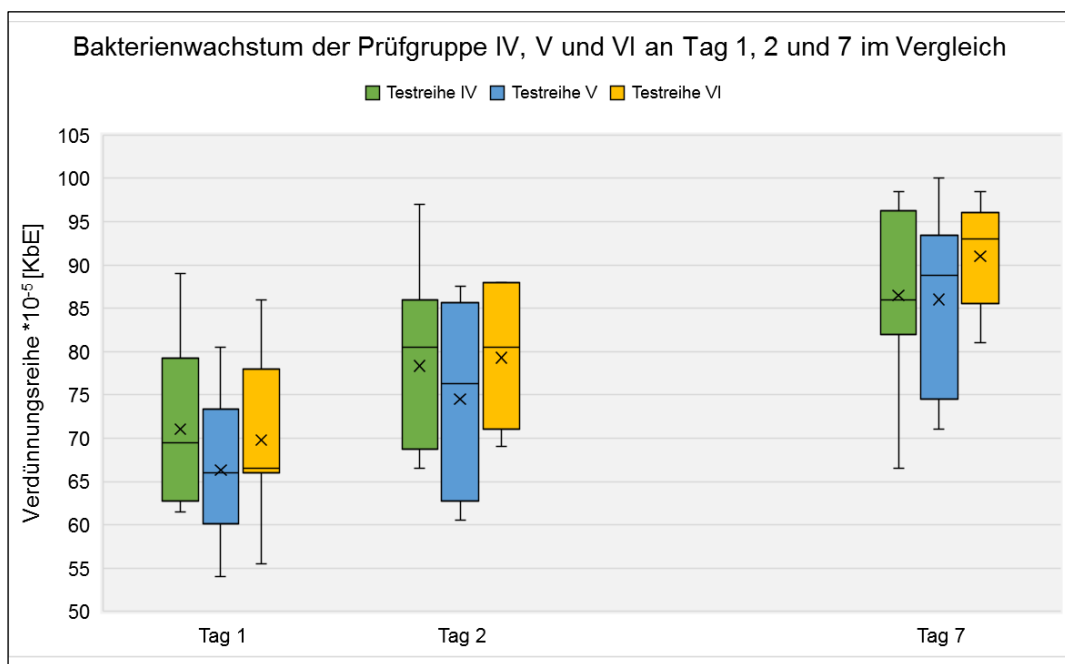


Abbildung 18: Bakterienwachstum im Vergleich. Dargestellt ist das Bakterienwachstum kontaminierter Nährlösungen der unteren Kammern, ausgezählt am ersten, zweiten und siebenten Tag der Testreihen IV, V und VI.

Am ersten Tag zeigen die Testreihen V und VI annähernd den gleichen Median des Kontaminationsgrades. Die Lage des Medians und des Mittelwerts

der Testreihe V spiegeln eine symmetrische Verteilung der Kontaminationswerte wider. Den höchsten Median und Mittelwert weist Testreihe IV auf. Der Median von Testreihe VI liegt fast am Anfang des Bereiches der mittleren 50 %, was darauf hindeutet, dass eine starke Streuung von Kontaminationen über  $67 \cdot 10^{-5}$  KbE existiert als Werte darunter. Der höchste Kontaminationsgrad von  $89 \cdot 10^{-5}$  KbE wird in Testreihe IV erreicht. Der niedrigste Wert von  $54 \cdot 10^{-5}$  KbE ist in der Testreihe V vorzufinden. Die höchste Spannweite vom größten zum niedrigsten Wert von  $30 \cdot 10^{-5}$  KbE liegt bei Testreihe VI vor. Der geringste Kontaminationsbereich kommt bei ca.  $54 \cdot 10^{-5}$  bis  $81 \cdot 10^{-5}$  KbE in Testreihe V vor. Demnach hatte Testreihe V im Vergleich die geringsten Kontaminationswerte. Darauf folgt Testreihe VI, welche nach oben hin eine weite Streuung, jedoch für die ersten unteren 25 % unter dem Median eine hohe Dichte aufweist. Daraus folgt, dass bei Testreihe V am ersten Tag gegenüber den Testreihen IV und VI tendenziell eine geringe Kontamination der Proben vorliegt. Testreihe VI besitzt zwar die höchste Spannweite, weist jedoch eine starke Konzentration um den Median von  $67 \cdot 10^{-5}$  KbE auf.

Die Auszählung am zweiten Tag weist bei allen drei Testreihen einen Anstieg des Mittelwerts und des Medians auf. Testreihe VI zeigt den höchsten prozentualen Anstieg des Mittelwerts von 13,61 % gefolgt von Testreihe V mit 12,35 % und Testreihe IV mit 10,24 %. Der Median der Testreihe VI ist um 20,15 % angestiegen und deutet darauf hin, dass die Konzentration der unteren 50 % stark abnimmt und in eine stärkere Verteilung der mittleren 50 % übergeht. Demnach liegt auch hier ein Großteil der Werte im mittleren Bereich, wobei der untere Bereich der kleinsten Werte um 25 % geschrumpft ist. Dies verdeutlicht, dass die unteren und mittleren Bereiche des Boxplots, d. h. die Proben mit den niedrigsten und mittleren Kontaminationen, der Testreihe VI zu den stark kontaminierten Proben aufschließt. Während am ersten Tag die Spannweite der mittleren 50 % der Testreihe V noch  $13,38 \cdot 10^{-5}$  KbE beträgt und sich nicht wesentlich von den beiden anderen Testreihen unterscheidet, verdoppelt sich diese am zweiten Tag nahezu und beträgt nun  $22,88 \cdot 10^{-5}$  KbE. Dabei steigt die Probe mit dem kleinsten Wert um nur  $6,5 \cdot 10^{-5}$  KbE an, wobei

die Spannweite weiterhin  $27 \cdot 10^{-5}$  KbE beträgt. Diese Entwicklung deutet darauf hin, dass die Differenz der mittleren 50 % der Kontaminationswerte größer geworden ist. Die oberen und unteren 25 %-Bereiche sind stark zusammengefallen. Testreihe IV weist den geringsten Anstieg des Mittelwertes auf. Testreihe IV enthält die Probe mit dem höchsten Kontaminierungswert von  $97 \cdot 10^{-5}$  KbE. Bei Testreihe V liegt dieser bei  $87,5 \cdot 10^{-5}$  KbE, in Testreihe VI bei  $88 \cdot 10^{-5}$  KbE.

Am siebenten Tag liegen die prozentualen Wachstumsdurchschnitte bei der Testreihe V mit 15,44 % und bei der Testreihe VI mit 14,77 % am höchsten. Testreihe IV liegt bei 10,43 %, was dem Wachstum vom ersten zum zweiten Tag entspricht. Der Median entwickelt sich ähnlich zu den Mittelwerten von Testreihe V und Testreihe VI. Bei Testreihe IV steigt der Median um lediglich 6,83 % an. Eine Einzelwertbetrachtung der Testreihe IV ergibt, dass das Bakterienwachstum in einer der Proben vom zweiten bis zum siebenten Tag stagniert. Dieser Sachverhalt erklärt, warum Testreihe IV am siebenten Tag das gleiche Minimum wie am zweiten Tag erreicht. Der nächsthöhere Wert liegt bei  $80,5 \cdot 10^{-5}$  KbE und entspricht etwa dem Minimum von Testreihe VI mit  $81 \cdot 10^{-5}$  KbE. Dies erklärt den geringeren Anstieg des Mittelwerts der Testreihe IV im Vergleich zur Testreihe VI. Testreihe IV zeigt gegenüber den beiden anderen Testreihen insgesamt nur eine leichte Aufwärtsbewegung. Bei allen drei Testreihen verkleinert sich die Spannweite der mittleren 50 %. Das bedeutet, dass die KbE-Werte stärker zusammenlaufen, was auf ein vermindertes Bakterienwachstums am siebenten Tag hinweist. Tendenziell zeigt Testreihe V die meisten und, bei Vernachlässigung der gleichbleibenden Anzahl an Kontamination aus Testreihe IV, zugleich kleinsten KbE-Werte der Testreihen am siebenten Tag. Gleichwohl liegt in Testreihe V auch der höchste KbE-Wert von  $100 \cdot 10^{-5}$  KbE vor. Testreihe IV und VI unterscheiden sich in der Verteilung der KbE-Werte nur minimal. Lediglich der Median und der Mittelwert unterscheiden sich. Daraus lässt sich ablesen, dass Testreihe IV mehr Proben mit einem niedrigeren KbE-Wert hat.



Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass sich vom ersten bis zum siebenten Tag das Verteilungsspektrum der Messwerte verkleinert und es im Durchschnitt zu einer Steigerung der Bakterienanzahl kommt. Jedoch fällt das Bakterienwachstum von Testreihe V tendenziell geringer aus als bei den beiden anderen Testreihen. Ein Vergleich der Werte der Testreihen IV, V und VI am ersten, zweiten und siebenten Tag (Tabelle 5) zeigt keine signifikanten Unterschiede. Sobald *E. faecalis* die Nährlösung der unteren Kammer erreichte, war das Bakterienwachstum nahezu gleich.

## Ergebnisse

Tabelle 5: Mittels Games-Howell-Test wurde untersucht, ob die Testreihen untereinander zu den drei Stichtagen signifikante Unterschiede aufzeigen.

<b>Games-Howell-Test</b>							
Abhängige Variable	Testreihe		Mittlere Differenz	Standardfehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
1. Tag	IV	V	4,7431	4,41695	<b>0,544</b> ns	-6,7299	16,2160
		VI	1,2698	4,91166	<b>0,964</b> ns	-11,7009	14,2406
	V	IV	-4,7431	4,41695	<b>0,544</b> ns	-16,2160	6,7299
		VI	-3,4732	4,76852	<b>0,752</b> ns	-16,1878	9,2414
	VI	IV	-1,2698	4,91166	<b>0,964</b> ns	-14,2406	11,7009
		V	3,4732	4,76852	<b>0,752</b> ns	-9,2414	16,1878
2. Tag	IV	V	3,8333	5,20664	<b>0,746</b> ns	-9,7436	17,4102
		VI	-0,9524	4,45182	<b>0,975</b> ns	-12,6081	10,7034
	V	IV	-3,8333	5,20664	<b>0,746</b> ns	-17,4102	9,7436
		VI	-4,7857	4,81578	<b>0,594</b> ns	-17,5911	8,0197
	VI	IV	0,9524	4,45182	<b>0,975</b> ns	-10,7034	12,6081
		V	4,7857	4,81578	<b>0,594</b> ns	-8,0197	17,5911
7. Tag	IV	V	0,5000	4,98599	<b>0,994</b> ns	-12,5010	13,5010
		VI	-4,5000	4,05799	<b>0,525</b> ns	-15,1613	6,1613
	V	IV	-0,5000	4,98599	<b>0,994</b> ns	-13,5010	12,5010
		VI	-5,0000	4,41992	<b>0,515</b> ns	-16,8533	6,8533
	VI	IV	4,5000	4,05799	<b>0,525</b> ns	-6,1613	15,1613
		V	5,0000	4,41992	<b>0,515</b> ns	-6,8533	16,8533

\*. signifikant ( $\alpha=0,05$   $p < \alpha$ )  
 ns. nicht signifikant

### 4.8.2 Interpretation der Ergebnisse auf Basis der Standardabweichung

Die Bestimmung der KbE bei positiv getesteter Nährlösung der unteren Kammer auf *E. faecalis* bestätigt vom ersten bis zum siebenten Tag die typische

## Ergebnisse

Bakterienwachstumskurve. Am ersten Tag, der Lag-Phase, ist ein schwacher Anstieg festzustellen, welcher anschließend exponentiell zunimmt. In der Tabelle 6 wird jeweils für die Kontrollgruppen A und B vom ersten bis zum siebenten Tag untersucht, ob das Wachstum der KbE von *E. faecalis* unter oder oberhalb der einfachen Standardabweichung eines Tages je Nachweisprobe liegt. Festzuhalten ist, dass Testreihe V gegenüber der Testreihe IV vom ersten bis zum siebenten Tag verhältnismäßig mehr Unterschreitungen enthält.

Tabelle 6: Auswertung der einfachen Standardabweichungen bei der KbE-Bestimmung über die gesamten Testreihen (negative Werte=Unterschreitung, „/“ =mittlere Toleranz, positive Werte=Überschreitung).

Probe	erster Tag		zweiter Tag		siebenter Tag		
	A	B	A	B	A	B	
Testreihe VI	4,67	3,40	0,13	/	/	/	
	/	/	/	/	/	/	
	8,67	12,40	8,13	11,53	/	3,45	
	/	/	/	-2,03	-10,41	-13,28	
	/	0,40	/	/	/	/	
	/	/	-1,96	/	/	/	
	/	/	/	/	/	/	
	/	/	0,13	/	/	2,45	
	/	/	/	/	/	/	
	/	/	/	/	/	/	
	/	/	-1,84	-2,96	-7,03	-8,41	-6,28
	/	/	0,13	0,53	/	/	
	/	-0,65	-2,96	-5,03	-0,41	/	
	/	/	/	/	/	/	
Testreihe V	4,67	/	1,13	/	4,66	1,45	
	-4,84	-6,65	-6,96	-7,03	-3,41	-8,28	
	/	/	/	/	/	/	
	/	/	/	/	/	/	
	7,67	7,40	2,13	/	2,66	0,45	
	/	/	/	/	/	/	
	/	/	/	3,53	0,66	/	
	/	/	/	/	/	/	
	-5,84	-2,65	/	/	/	/	
	/	2,40	/	/	/	0,45	

Dagegen weist Testreihe VI in der Gesamtbetrachtung am siebenten Tag gegenüber der konventionellen Wurzelkanalfüllung und der KAP-Behandlung  $t_1=30$  s höhere KbE-Werte und demnach mehr Überschreitungen auf. Allen gemein ist die Durchdringung von *E. faecalis*, wobei die Wurzelkanalfüllung

ohne Plasmavorbehandlung nur geringfügig schlechter abschneidet als die Behandlung mit KAP. Im direkten Vergleich fällt Testreihe VI schlechter aus als Testreihe V. Demnach scheint eine 120-sekündige gegenüber einer 30-sekündigen KAP-Behandlung nachteilig auf die Wandständigkeit zu wirken.

## 5 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Durchlässigkeit der warm vertikalen Wurzelkanalfüllung für das Bakterium *E. faecalis* in Abhängigkeit von einer vorherigen Plasmabehandlung der Wurzelkanalwand zu untersuchen.

Für die Studie wurden bewährte Vorgehensweisen der Wurzelkanalfüllung herangezogen und um die Vorbehandlung mit KAP ergänzt. Für einen möglichst genauen Vergleich der Ergebnisse wurden standardisierte Bedingungen für die Untersuchung angestrebt.

### 5.1 Diskussion der Methodik

#### 5.1.1 Auswahl der Materialien und des Versuchskeims

Zur Untersuchung des Einflusses der KAP-Behandlung auf die Durchlässigkeit der Wurzelkanalfüllung wurden extrahierte, natürliche Zähne herangezogen. Die Morphologie natürlicher Wurzelstümpfe erschwert ein standardisiertes Untersuchungsverfahren (Hülsmann et al., 2005). Studien zeigen jedoch, dass trotz der unterschiedlichen Wurzelkanalanatomie menschlicher Zähne Untersuchungen mit natürlichen Zähnen einen Vergleich unter annähernd realen klinischen Verhältnissen erlauben und im Gegensatz zu künstlichen Prüfkörpern oder bovinen Zähnen der klinischen Situation am ehesten entsprechen (Souza et al., 2010; Ng et al., 2011; Meire et al., 2012). Um in der vorliegenden Studie möglichst gleiche Bedingungen mit einer geringen Streuung der Ergebnisse zu schaffen, wurden vor Beginn der Untersuchung Auswahlkriterien definiert und einheitliche Versuchsabläufe festgelegt. Vorbereitend wurden die Wurzelstümpfe auf eine gleiche Länge gekürzt. Das Kürzen der Wurzelstümpfe entspricht nicht der klinischen Situation, ermöglicht jedoch eine Vereinheitlichung der Prüfkörper, um eine Vergleichbarkeit zwischen den unterschiedlichen Testreihen zu gewährleisten (Barletta et al., 2007).

Die Wahl des Bakteriums *E. faecalis* als Monokultur entspricht nicht der Vielfalt an dentalen Keimspezies. Dieser Keim weist jedoch eine starke Resistenz bei endodontischen Infektionen auf und wird mit persistierenden apikalen Parodontitiden in Verbindung gebracht (Barbosa-Ribeiro et al., 2016). *E. faecalis* ist ein geeigneter Keim für In-vitro Studien, da er tief in die Dentintubuli eindringt, sich in einem Biofilm organisieren kann und sich auf gebräuchlichen Nährmedien kultivieren lässt (Svensater et al., 2004; Sedgley et al., 2005; Kishen et al., 2008; Saber et al., 2012; Nair et al., 2017).

Der Aufbau des Testsystems lehnte sich an die Vorgaben von Pollak (2010) an. Der Testaufbau ermöglichte die mehrmalige Entnahme von Proben aus der Nährlösung der unteren Kammer, ohne den Untersuchungsgegenstand negativ zu beeinflussen (Pollak, 2010). Bei anderen Systemen (Abbildung 19) wie von Barthel et al. (2001), Deus et al. (2006) oder Miletić et al. (2002) ist die Probenentnahme stark limitiert oder lediglich optisch nachweisbar (Pollak, 2010).

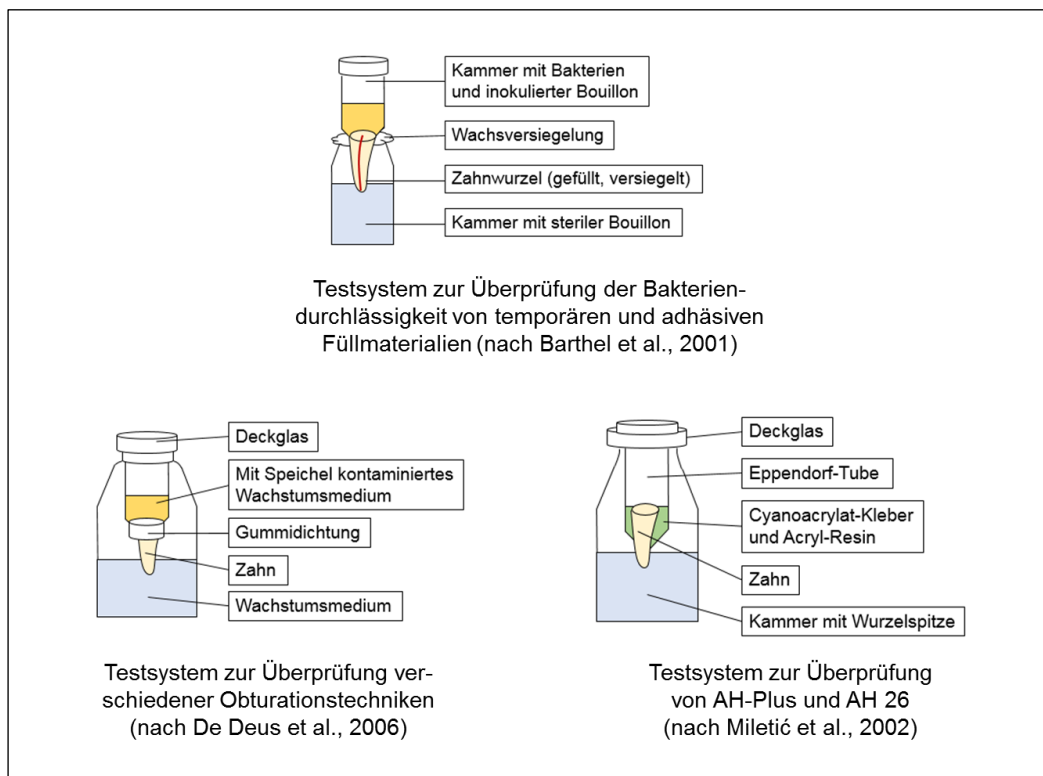


Abbildung 19: Schematischer Aufbau von Testsystemen anderer Studien (Quelle: Eigene Abbildung in Anlehnung an Pollak, 2010).

Pollak (2010) stellt fest, dass die Aussage über die Durchlässigkeit durch eine Sichtprüfung den Zeitpunkt der bakteriellen Infektion nur ungenau widerspiegelt und überprüfte eine mögliche Kontamination mikrobiologisch. Im Rahmen dieser Arbeit bewährte sich das Testsystem von Pollak (2010).

Eine mögliche Fremdkontamination der Prüfkörper wurde durch folgende Maßnahmen minimiert:

- Um eine Fremdkontamination über Seitenkanäle auszuschließen, wurden die Wurzelstümpfe zweifach mit Nagellack isoliert.
- Anschließend wurden die Wurzelstümpfe einzeln mit einem in 0,9%igen NaCl-Lösung getränkten Wattebausch eingeschweißt und bei 121 °C und 1 bar für 20 min autoklaviert.

- Über die Testreihen I und II konnte sichergestellt werden, dass das eingesetzte Testsystem durchlässig und zugleich nach außen dicht war.
- Anhand der Testreihe III konnten weitere mögliche Fremdkontaminationen ausgeschlossen werden.

Die Testreihen I, II und III bestätigen, dass das eingesetzte Testsystem und die Testmethode zuverlässig sind und eine Fremdkontamination ausgeschlossen werden kann.

Als vorbereitende Maßnahme wurden die Prüfkörper in einem Autoklav sterilisiert. Neben der Sterilisation der Prüfkörper beeinflusst das Autoklavieren die Oberflächeneigenschaften des Dentins (Attam et al., 2009). Es kann zur Denaturierung und Koagulation der Kollagenstrukturen führen (Parsell et al., 1998; Chivatxaranukul et al., 2008; Attam et al., 2009). Untersuchungen zeigen, dass die Kollagenstruktur eine herausragende Rolle bei der Penetration von *E. faecalis* spielt (Hubble et al., 2003; Stuart et al., 2006). Demnach fördern denaturierte und koagulierte Kollagenstrukturen die Penetration von *E. faecalis* in den Wurzelkanälen.

### **5.1.2 Aufbereitung und Abfüllen der Wurzelkanäle**

Im Vergleich zur manuellen Aufbereitung ermöglicht die maschinelle Instrumentierung eine höhere Standardisierung. Im Zuge der Aufbereitung der Wurzelkanäle wurde ein Gleitpfad geschaffen, um die anschließende maschinelle Aufbereitung zu erleichtern. Berutti et al. (2009) stellen fest, dass auch weniger erfahrene Anwender durch die Verwendung von Pathfiles gegenüber konventionellen Handinstrumenten eine höhere Qualität des Gleitpfades erreichen. Alves et al. (2012) vergleichen manuelle Instrumente, Pathfile- und Mtwo-Rotationsinstrumente zur Schaffung eines Gleitpfades. Dabei kommen sie zu dem Ergebnis, dass keines der Instrumente einen Einfluss auf das Auftreten von irregulären Kanalabweichungen hat.



Zur Aufbereitung der Wurzelkanäle kamen ProTaper-Next™-Feilen zum Einsatz. Die chemomechanische Aufbereitung der Wurzelkanäle geht mit dem Risiko einher, Mikrorisse im Dentin zu verursachen, welche zu einer vertikalen Wurzelfraktur führen können (Tanalp et al., 2014; Holscher, 2015). Bei der optischen Prüfung waren keine Risse in der Zahnhartsubstanz sichtbar. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Mikrorisse entstanden sind, die man mit bloßem Auge nicht erkennen konnte.

Die Wurzelstümpfe wurden direkt mit der Plasmaflamme des PlasmaJet kIN-Pen™ behandelt. Dabei werden je nach Arbeitsabstand unterschiedliche Temperaturen erreicht. Ausgehend von einem theoretischen Temperaturverlauf wurden die Wurzelstümpfe einem Temperaturspektrum von ca. 45 °C (cervikal) bis zum apikalen Ende von ca. 31 °C ausgesetzt (Bussiahn et al., 2013). Als Trägergas wurde Helium eingesetzt, bei 3,5 l/min und mit einer Leistung von 300 W. Dabei bestimmt das Trägergas die reaktiven Eigenschaften des KAP. Li et al. (2006) untersuchten die Eigenschaften von KAP mit unterschiedlichen Trägergasen. Dabei stellen sie fest, dass Argon eine zweimal höhere Elektronendichte als Helium hat, wobei Helium eine höhere Elektronentemperatur aufweist. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass sich die höhere Elektronendichte von Argon vorteilhaft auf die Konzentration von entstehenden reaktiven Mitteln auswirkt, da eine höhere Elektronendichte unweigerlich zu einer höheren Wahrscheinlichkeit von Zusammenstößen mit Elektronen und der Umgebungsluft führt. Dementsprechend könnte ein Wechsel des Trägergases von Helium zu Argon zu einer Verkürzung der Applikationsdauer führen.

Das verwendete Wurzelkanalfüllmaterial hat einen großen Einfluss auf die Wandständigkeit (Olson et al., 1990). Das Kernmaterial Guttapercha und der Sealer AH-Plus zeigen im Vergleich zu einer adhäsiven Wurzelkanalfüllung, wie der Epiphany-Resilon-Kombination, keine signifikanten Unterschiede in Wandständigkeit und Bindungsstärke (Stratton et al., 2006; Ungor et al., 2006). In einer langfristig angelegten Studie von 16 Monaten weisen Paqué et al. (2007) eine länger anhaltende Versiegelung der Guttapercha-AH-Plus-

Kombination gegenüber einer Epiphany-Resilon-Kombination nach Pawar et al. (2014) kommen zu dem Ergebnis, dass die Faktoren, die zu einer Undichtigkeit bei der Wurzelkanalfüllung führen, durch laterale Kanäle und weitere anatomische Variationen bestimmt werden.

Keine der beiden vorliegenden Arbeiten, welche den Einfluss von KAP auf den Wurzelkanal untersuchten, stellt eine signifikante Veränderung der Bindungseigenschaften durch KAP fest (Gade et al., 2015; Menezes et al., 2017). Jedoch lassen diese Arbeiten nur eingeschränkte Vergleiche mit der hier durchgeführten Studie zu. Zum einen wurden unterschiedlichen Obturationstechniken eingesetzt, zum anderen wurde die Wandständigkeit mittels Konfokalmikroskop und Push-Out-Test bestimmt. Für vergleichende Aussagen über die eingesetzte modifizierte Schilder-Technik gegenüber anderen Obturationstechniken mit KAP-Vorbehandlung fehlen weitere Studien.

### **5.1.3 Quantitativer Nachweis**

Zur Überprüfung einer möglichen Kontamination über den Wurzelkanal wurde die Nährlösung der unteren Kammer des Testsystems quantitativ auf den Versuchskörper untersucht. In Vorversuchen wurde alternativ eine optische Prüfung mittels Farbstoffpenetration getestet. Dabei wurde eine Durchlässigkeitsprüfung durch eine Bakterien-Farbstoff-Kombination evaluiert. Die mit dem bloßen Auge wahrgenommene Trübung der Nährlösung in der unteren Kammer ist nicht zweifellos feststellbar. Weiterhin ist der Zeitpunkt für die Bestimmung der Durchlässigkeit durch eine Sichtprüfung nur ungenau zu ermitteln. Es ist fraglich, ob auch Bakterien in die Nährlösung der unteren Kammer übergetreten waren oder nur der verwendete Farbstoff. Auch könnten Farbpartikel mögliche Durchgänge der oberen in die untere Nährlösung verschließen und somit das Testergebnis verfälschen. Pollak (2010) stellt im Rahmen ihres Versuchsaufbaus die Anwendung eines qualitativen und eines quantitativen Nachweisverfahrens gegenüber. Der Nachweis über die Kontamination er-

folgte über einen qualitativen Nachweis. Um zusätzlich die Anzahl der diffundierten Mikroorganismen zu bestimmen, wurde ein quantitatives Nachweisverfahren (Verdünnungsreihen) eingesetzt (Pollak, 2010).

Abbildung 18 („Bakterienwachstum im Vergleich“) wirft die Frage auf, warum der Anstieg des Wachstums bei erfolgter Kontamination vom zweiten zum siebenten Tag geringer als vom ersten zum siebenten Tag ausfällt. Ausgehend von einem idealisierten bakteriellen Zyklus lässt sich das Bakterienwachstum in vier Phasen unterteilen: Lag-Phase, exponentielle und stationäre sowie Absterbephase (Fuchs et al., 2007). Den wichtigsten Faktor für das Bakterienwachstum einer statischen Kultur (vorgegebener Lebensraum) bilden die Nährstoffe im Medium (Fuchs et al., 2007). Demnach flacht die anfänglich exponentielle Wachstumsrate bei mangelnden Nährstoffen ab. Das Wachstum geht in die stationäre Phase über, bis die Sterbephase erreicht ist. Die Testreihen IV, V und VI weisen eine ähnliche Tendenz bei den Wachstumsraten auf. Fuchs et al. (2007) schreiben, dass die Wachstumsraten bei abnehmenden Nährstoffen in der Lösung bereits vor dem völligen Verbrauch sinken und daher der Phasenübergang von exponentiell zu stationär schrittweise verläuft. An dieser Stelle kann nur angenommen werden, dass eine kontinuierliche Zugabe von Substrat ggf. zu höheren Bakterienwachstumsraten führen würde, was jedoch keinen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse dieser Arbeit gehabt hätte. Eine Reinfektion des Wurzelkanals führt letztendlich unabhängig vom Bakterienwachstum zu einem Misserfolg der Wurzelkanalbehandlung.

## **5.2 Diskussion der Testergebnisse**

Gegenstand dieser Arbeit war die Untersuchung, ob KAP die Wandständigkeit der warm vertikalen Wurzelkanalfüllung beeinflusst. Alle Zähne wurden auf die gleiche Weise aufbereitet und obturiert. Dies ermöglichte vergleichbare Werte für die Wandständigkeit unter Einsatz von KAP in verschiedenen Zeitintervallen.

### 5.2.1 Vergleich der mikrobiologischen Ergebnisse

Die vorliegende Studie untersucht die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung zum Dentin des Wurzelkanals. Es wird davon ausgegangen, dass *E. faecalis* bei einer kontaminierten Nährlösung der unteren Kammer entlang der Dentinwand den Wurzelkanal passiert. Die Durchlässigkeit kann letztendlich auch vertikal innerhalb einer undichten Wurzelkanalfüllung erfolgt sein. Die Prüfkörper wurden den Testreihen zufällig zugeordnet. Dadurch würden sich potenziell insuffiziente Wurzelkanalfüllungen gleichmäßig über die Testreihen verteilen und über vergleichende Analysen der Testreihen die Ergebnisse nicht signifikant beeinflussen. Zudem wurde für die zu untersuchenden Wurzelkanäle eine Arbeitslänge von 9 mm gewählt. Mozini et al. (2009) untersuchten den Einfluss der Wurzelkanallänge auf den Durchbruchzeitpunkt von *E. faecalis* (Bakterienstamm: ATCC 29212). Dazu wurden die Wurzelstümpfe auf eine einheitliche Länge von 14 mm zugeschnitten und mit AH-Plus mittels lateraler Kondensation von Guttapercha gefüllt. Daraus wurden drei Gruppen mit den Kanalfülllängen von 6 mm, 4 mm und 2 mm gebildet und *E. faecalis* ausgesetzt. Dabei stellen Mozini et al. (2009) fest, dass bei der Gruppe mit 2 mm nach 60 Tagen 100 % der Proben mit *E. faecalis* kontaminiert waren. Bei den Gruppen mit 6 mm und 4 mm wiesen nach 60 Tagen ca. 60 % eine Kontamination auf. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass bei der Gruppe von 2 mm die lateralen und akzessorischen Kanäle im apikalen Bereich nicht ausreichend verschlossen werden konnten. Jedoch spielen die unterschiedlichen Fülllängen bei 4 mm und 6 mm keine signifikante Rolle. Grundlage der Ergebnisse von Mozini et al. (2009) ist die laterale Kondensation. Ein Vergleich unterschiedlicher Obturationstechniken (laterale Kondensation, warm vertikale Kondensation, Therafil) über einen Zeitraum von 100 Tagen ergaben jedoch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Dichtigkeit (Deus et al., 2006). In ihren Untersuchungen zeigen Portell et al. (1982) und Nixon et al. (1991) eine Korrelation zwischen der Qualität des definitiven Verschlusses und der Wurzelkanallänge auf. Gleiches bestätigten Metzger et al. (2000), die auch die Bedeutung des Mindestmaßes von 5 mm diskutieren. Mattison et al. (1984)

kommen zu der Erkenntnis, dass eine Mindestlänge von 5 mm für einen adäquaten Verschluss notwendig ist. Das verwendete Maß in dieser Arbeit liegt mit 9 mm noch über diesem Mindestwert. Um dennoch die Passage von *E. faecalis* innerhalb einer insuffizienten Wurzelkanalfüllung über die gesamte Länge des Wurzelkanals auszuschließen, könnten in zukünftigen Arbeiten Querschnitte der Wurzelkanäle angefertigt und mikroskopisch analysiert werden.

Die Durchlässigkeit der Nährlösung der oberen in die untere Kammer in den Testreihen IV, V und VI verlief nicht unmittelbar, wie aus den Ergebnissen hervorgeht. Pizzo et al. (2006) stellen in ihrer Studie fest, dass AH-Plus seine bakterizide Wirkung nach 24 h verliert. Pollak (2010) kommt zu einer ähnlichen Aussage und fügt noch hinzu, dass die leichte bakterizide Wirkung des Sealers nicht unbedingt vor dem erneuten Eindringen schützt, sondern vielmehr mit seinem stark basischen pH-Wert auf mögliche verbliebene Bakterien im Wurzelkanal wirkt.

Die Penetrationstiefe ist abhängig von den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Sealers sowie dem Wasserkontaktwinkel und der Anatomie des Wurzelkanals, der Anzahl und dem Durchmesser der Dentintubuli und den Wurzelkanalabmessungen (Deus et al., 2004; Orstavik, 2005; Tummala et al., 2012). Zu ähnlichen Schlussfolgerungen kommen Al-Nazhan et al. (2014). Demnach hängt die Penetration von *E. faecalis* von der Inkubationszeit, der Dentinoberfläche und der Wurzelkanalanatomie ab.

### **5.2.2 Wirkeffekt von kaltem Atmosphärendruckplasma**

Studien bestätigen, dass KAP einen Einfluss auf den Wasserkontaktwinkel hat (Chen et al., 2013; Jablonowski et al., 2016; El-Wassefy, 2017b). Bereits nach einer 30-sekündigen KAP-Anwendung ist der Kontaktwinkel kleiner 5 ° (Chen et al., 2013; El-Wassefy, 2017b). Bei einer länger anhaltenden KAP-Anwendung von 30 s auf 45 s stellen Chen et al. (2013) keine signifikanten Veränderungen des Wasserkontaktwinkels fest. Im Rahmen dieser Arbeit führt eine Vervierfachung der KAP-Anwendungsdauer zu einem schlechteren Resultat

bei den Penetrationseigenschaften des Testbakteriums als eine Anwendung von 30 s. Dies bestätigt zum Teil die Ergebnisse von Chen et al. (2013), dass bereits nach 30 s die maximale Wirkung und bei 45 s keine statistisch relevante Änderung bei der Anwendung von KAP mehr zu erwarten ist. Längere Penetrationszeiten kamen nicht zur Anwendung.

Forschungsgegenstand dieser Arbeit war die Wirkung von KAP auf die Wandständigkeit. Somit spielt die Wechselwirkung zwischen Dentinoberfläche und Sealer eine wesentliche Rolle. Als Sealer wurde AH-Plus verwendet, dessen Eigenschaften maßgeblich von der Adhäsion und der Penetration bestimmt werden. Die Adhäsion beeinflusst zum einen die Haftung an den Wurzelkanalwänden und zum anderen die Verbindung der Guttapercha mit dem Dentin (Sousa-Neto et al., 2005; Alfredo et al., 2008). Die Penetration des Sealers in die Dentintubuli dient der vollständigen Versiegelung (Mamootil et al., 2007). Adhäsion und Penetration werden durch die Vorbehandlung der Wurzelkanalwände maßgeblich beeinflusst (Alfredo et al., 2008; Leal et al., 2015). Der Wurzelkanal ist vollständig von hochmineralisiertem peritubulären Dentin umschlossen, welches bei der Wurzelkanalbehandlung teilweise abgetragen wird. Darunter kommt das intertubuläre Dentin zum Vorschein. Dieses zeichnet sich gegenüber dem peritubulären Dentin durch eine geringere Mineralisierung und einen höheren Kollagenanteil aus (Schroeder, 2000; Hülsmann, 2008). Zur Verbesserung der Grenzflächenbildung untersuchen Ritts et al. (2010) den Effekt von KAP auf Dentinoberflächen bei der Komposit-Restauration. Sie stellen fest, dass die Adhäsionseigenschaft beim peritubulären Dentin durch eine 30-sekündige KAP-Anwendung verbessert wird. Bei einer 100-sekündigen Anwendung hingegen verschlechtert sich die Adhäsion. Grund hierfür könnte der Plasmaätzeffekt sein, der sich bei einer längeren Plasmaexposition einstellt (Ritts et al., 2010). Dabei werden durch die Anwendung von KAP die Kollagenfibrillen weggeätzt. Weiterhin beobachten Ritts et al. (2010) keine Verbesserung der Adhäsionseigenschaften beim intertubulären Dentin. Die in der vorliegenden Studie beobachtete Tendenz zur Verschlechterung der Wandständigkeit bei längerer KAP-Anwendung bestätigen

die Ergebnisse von Ritts et al. (2010). Einen anderen Ansatz verfolgen Menezes et al. (2017). Sie untersuchen, welchen Einfluss eine Kombination einer photodynamischen Therapie (PDT) und KAP auf die Wurzelkanalfüllung hat. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass KAP (60 s) keinen Einfluss auf die Penetrations- und Adhäsionseigenschaften von AH-Plus hat.

Shetty et al. (2017) erreichen durch die Verwendung von EDTA und passiver Ultraschallspülung eine signifikante Verbesserung der Penetrationseigenschaften von AH-Plus. Kara Tuncer et al. (2012) bestätigen diese Ergebnisse und zeigen außerdem eine Verbesserung der Penetrationseigenschaften für die Behandlung mit Zitronen- und Maleinsäure in Kombination mit NaOCl. Bei den vorgestellten Studien liegt der Fokus eher auf der Entfernung der Smear-Layer als auf der Interaktion des Sealers mit der Wurzelkanalwand. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die Smear-Layer eine wesentliche Rolle bei der Steigerung der Wandständigkeit spielt. Gunes et al. (2019) und Menezes et al. (2017) nutzen EDTA und NaOCl zur Desinfektion der Prüfkörper, um anschließend die Wirkung von KAP auf die Penetrationseigenschaften des Sealers zu untersuchen. Menezes et al. (2017) vergleichen den Einfluss von KAP und der PDT auf die Adhäsions- und Penetrationseigenschaften von Sealer in Wurzelkanälen. Dabei kommen sie zu dem Ergebnis, dass KAP (60 s) einen Einfluss auf die Interaktion u. a. von AH-Plus mit der Wurzelkanalwand hat. Eine PDT zeigt zwar eine bessere Penetration als KAP, dennoch hat die Behandlung mit KAP ein besseres Ergebnis bei der Bindungsstärke von AH-Plus. Dabei schneidet KAP gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe nur unwesentlich besser ab. Die Resultate für den Einfluss von KAP auf die Interaktion von AH-Plus mit der Wurzelkanalwand bestätigen die hier gewonnenen Ergebnisse beim Einsatz von KAP (30 s). Gunes et al. (2019) vergleichen u. a. auch AH-Plus mit und ohne vorherigem KAP-Einsatz. Dabei nutzen sie ein Konfokalmikroskop zur Auswertung für die Penetration in die Dentintubuli von AH-Plus. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass KAP keinen signifikanten Einfluss auf die Penetration von AH-Plus hat. Aus den Einzelwerten der Studie von Gunes et al. (2019) geht hervor, dass KAP im apikalen Bereich keinen wesentlichen Vorteil bei der maximalen Penetrationstiefe aufweist, jedoch im mittleren

Bereich schlechter ausfällt.

Gunes et al. (2019) schlussfolgern, dass der Einfluss von KAP auf den Wurzelkanal über den Wasserkontaktwinkel erfolgen muss. Dazu führen sie aus, dass eine Dosierung von KAP über einen bestimmten Zeitraum eine Verringerung des Wasserkontaktwinkels der Dentinoberfläche bewirkt (Chen et al., 2013; Dong et al., 2015). Grund hierfür ist die durch KAP verursachte kollabierte Kollagenstruktur des Dentins (Ritts et al., 2010; Han et al., 2014). Daraufhin geht AH-Plus mit den freigelegten Aminogruppen der Kollagenstrukturen des Dentins eine kovalente Bindung ein (Lee et al., 2002; Gade et al., 2015). Durch seine Penetrationseigenschaften und die langen Polymerisationszeiten neigt AH-Plus dazu, in den durch die KAP-Behandlung vermehrt freigelegten Aminogruppen Bindungen einzugehen (Sousa-Neto et al., 2002; Nunes et al., 2008). Dieser Sachverhalt soll schließlich dazu führen, dass die Penetrationstiefe von AH-Plus durch die KAP-Behandlung eingeschränkt wird. Die Schlussfolgerungen von Gunes et al. (2019) lassen eine mögliche Erklärung der unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Testreihen V ( $t_1=30s$ ) und VI ( $t_2=120s$ ) zu. Demnach führt eine höhere Expositionszeit von KAP zu einer höheren Reaktionsfläche für AH-Plus, was wiederum die Penetrationstiefe beeinflusst. Dies verringert möglicherweise die Wandständigkeit des Sealers mit der Dentinoberfläche und führt schließlich zu einer schnelleren Kontamination der Nährlösung der unteren Kammer durch *E. faecalis*. Die Ergebnisse von Ritts et al. (2010) sind vergleichbar mit den festgestellten Unterschieden der Testreihen IV und VI zu Testreihe V. Nach ihrer Studie führt eine 30-sekündige KAP Behandlung des äußeren Dentins gegenüber einer 100-sekündigen Anwendung zu einer besseren Adhäsion. Das innere Dentin weist dagegen keine Verbesserung der Bindungsstärke auf, was nach Ritts et al. (2010) auf die ortsspezifische Zusammensetzung des Dentins zurückzuführen ist.

Die vorgestellten Studien deuten darauf hin, dass kleinere Veränderungen am Testablauf und in der Zusammensetzung beispielsweise des Sealers oder der Trägergase des KAP zu signifikanten Unterschieden in den Ergebnissen führen können. Die Auswertung der Ergebnisse erlaubt die Schlussfolgerung, dass KAP bei 30-sekündiger Anwendung zu einer besseren Wandständigkeit



zwischen Sealer und Dentin sowie insgesamt zu einem homogenen, bakteriendichten Verschluss durch Guttapercha und Sealer im Wurzelkanal führt.

### **5.3 Schlussfolgerung**

Aus der vorliegenden Studie geht hervor, dass die Expositionszeit entscheidend für die Wirksamkeit des KAP ist. So wirkt sich eine 30-sekündige Vorbehandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe vorteilhaft auf die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung zum Dentin aus, wohingegen eine viermal längere Expositionszeit die höchste Rate an Neuinfektionen aufzeigt. Dabei war nach zwei Monaten in allen drei Testreihen bei über der Hälfte der Testsysteme eine Kontamination über den Wurzelkanal nachweisbar. Die quantitative Untersuchung ergibt, dass sofort nach der Bakterienpassage über den gefüllten Wurzelkanal ein exponentieller Anstieg der Bakterienpopulation stattfand und nach kurzer Zeit die Stagnation des Bakterienwachstums eintrat. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um festzustellen, welches das wirkungsvollste Zeitintervall einer Plasmavorbehandlung ist. Dabei sollte die Anzahl der Stichproben erhöht werden, um signifikante Abweichungen der Testreihen untereinander klarer herauszustellen.

Die Ergebnisse der Studie zeigen eine vielversprechende Tendenz zur dichteren Wandständigkeit einer Wurzelkanalfüllung nach einer 30-sekündigen Vorbehandlung des Kanalwanddentins durch KAP. Weitere Studien sind notwendig, um Parameter wie das Trägergas oder die Einwirkzeit des KAP zu optimieren. Die Behandlung am Patienten erfordert sowohl hinsichtlich der Größe des Handstücks als auch bei der Form der Instrumentenspitze ein angepasstes Design, um noch bessere Ergebnisse zu erzielen.

## 6 Zusammenfassung

Forschungsgegenstand dieser Arbeit war, ob eine Vorbehandlung der Wurzelkanaloberfläche mit kaltatmosphärischem Plasma (KAP) die Qualität der Wurzelkanalfüllung hinsichtlich der Wandständigkeit steigert. In der vorliegenden In-vitro Studie wurden zuvor standardisiert aufbereitete und sterilisierte Wurzelkanäle vor der Wurzelkanalfüllung mit KAP in unterschiedlichen Zeitintervallen ( $t_1=30$  s,  $t_2=120$  s) behandelt, während die Wurzelkanäle der Kontrollgruppe keiner Plasmabehandlung unterzogen wurden. Die präparierten Wurzelstümpfe wurden zwischen zwei voneinander getrennten Kammern fixiert. Zur Sicherstellung des Versuchsaufbaus wurden Testreihen zur Durchlässigkeit, Dichtigkeit und Fremdkontamination gebildet.

Anschließend wurden die Kammern mit CASO-Nährlösung gefüllt, wobei die Nährlösung der oberen Kammer am Wurzelkanaleingang mit dem endodontisch relevanten Bakterium *E. faecalis* kontaminiert wurde. Während des Versuchszeitraums von 63 Tagen wurde die Nährlösung der unteren Kammer mit der Wurzelspitze, deren Zugang einzig über den abgefüllten Wurzelkanal möglich war, jeden zweiten Tag mikrobiologisch auf Kontamination untersucht.

Die Wurzelkanalfüllungen der Testreihe mit einer 30-sekündigen KAP-Vorbehandlung sind bereits zu Beginn wandständiger als die der zwei anderen Testreihen, während die Wurzelkanäle mit einer 120-sekündigen KAP-Vorbehandlung bereits nach kurzer Zeit die meisten Kontaminationen verzeichnet. Auch im Verlauf des Versuchszeitraums zeigt die 30-sekündige Vorbehandlung durchschnittlich signifikant bessere Ergebnisse im Vergleich zu der Kontrollgruppe und der 120-sekündigen KAP-Vorbehandlung. Am Ende des Versuchszeitraums weist die Kontrollgruppe mit 64,3 % kontaminierten Nährlösungen in den unteren Kammern die höchste Durchlässigkeit für *E. faecalis* auf. Die besten Endergebnisse verzeichnet die Testreihe mit einer 30-sekündigen Vorbehandlung mit KAP (53,3 % kontaminierte Nährlösungen), ohne signifikanten Unterschied dicht gefolgt von der Testreihe mit einer 120-sekündigen KAP-Vorbehandlung (53,8 %).

Die Ergebnisse machen deutlich, dass sich eine 30-sekündige Vorbehandlung mit KAP vorteilhaft auf die Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung auswirkt, wohingegen die viermal längere Expositionszeit zumindest initial zur höchsten Rate an Bakteriendurchlässigkeit führt. Insgesamt war nach zwei Monaten in allen drei Testreihen bei über der Hälfte der Testsysteme eine Kontamination über den Wurzelkanal nachweisbar. Nach der Bakterienkontamination über den Wurzelkanal kommt es zu einem exponentiellen Wachstum der Bakterienpopulation der Nährlösung der unteren Kammer.

Die Zusammensetzung der Trägergase bestimmt den Wirkmechanismus des KAP. Außerdem können unterschiedliche Expositionszeiten von KAP andersartige Effekte erzeugen. Eine Erhöhung der Stichprobenanzahl könnte Abweichungen der Testreihen untereinander klarer herausstellen. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Expositionszeit mit dem maximalen Wirkeffekt einer Plasmavorbehandlung zu bestimmen. Um die Applikation von KAP am Patienten zu realisieren, sind neue Designs des Handstücks notwendig. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine vielversprechende Tendenz zur verbesserten Wandständigkeit der hier eingesetzten Wurzelkanalfüllung durch eine 30-sekündigen Vorbehandlung mit KAP.

## 7 Literaturverzeichnis

Ahn HJ, Kim KI, Kim G, Moon E, Yang SS, Lee J-S. Atmospheric-pressure plasma jet induces apoptosis involving mitochondria via generation of free radicals. *PloS one* 2011;6(11):e28154.

Al Muhammad M, Rupf S. Dissertation. Einfluss kalten atmosphärischen Plasmas auf die Zahn-Komposit-Interaktionszone: Eine In-vitro-Untersuchung, 2013. Universitätsklinikum des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland

Alfredo E, Silva SRC, Ozório JEV, Sousa-Neto MD, Brugnera-Júnior A, Silva-Sousa YTC. Bond strength of AH Plus and Epiphany sealers on root dentine irradiated with 980 nm diode laser. *International Endodontic Journal* 2008;41(9):733–740.

Al-Nazhan S, Al-Sulaiman A, Al-Rasheed F, Alnajjar F, Al-Abdulwahab B, Al-Badah A. Microorganism penetration in dentinal tubules of instrumented and retreated root canal walls. In vitro SEM study. *Restorative dentistry & endodontics* 2014;39(4):258–264.

Altenburg K, Grimsehl E. *Struktur der Materie*. Teubner, Leipzig, Deutschland, 1990

Alves VdO, Bueno CEdeS, Cunha RS, Pinheiro SL, Fontana CE, Martin AS de. Comparison among manual instruments and PathFile and Mtwo rotary instruments to create a glide path in the root canal preparation of curved canals. *Journal of Endodontics* 2012;38(1):117–120.

Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endodontics & Dental Traumatology* 1992;8(3):104–108.

- Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian Dental Journal* 2007;52(1):64-82.
- Attam K, Talwar S, Yadav S, Miglani S. Comparative analysis of the effect of autoclaving and 10% formalin storage on extracted teeth: A microleakage evaluation. *Journal of conservative dentistry : JCD* 2009;12(1):26–30.
- Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPFA. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus faecalis* Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. *Journal of Endodontics* 2016;42(7):1022–1028.
- Barletta FB, Rahde NdM, Limongi O, Moura AAM, Zanesco C, Mazocatto G. In vitro comparative analysis of 2 mechanical techniques for removing gutta-percha during retreatment. *Journal (Canadian Dental Association)* 2007;73(1):65.
- Barthel CR, Zimmer S, Wussogk R, Roulet JF. Long-Term bacterial leakage along obturated roots restored with temporary and adhesive fillings. *Journal of Endodontics* 2001;27(9):559–562.
- Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2003;96(5):618–624.
- Baumann MA. Die Wurzelkanalfüllung. In: Heidemann D (Hg.): *Endodontie*. München, Deutschland: Urban und Fischer, 2001;4:123–165.
- Baumann MA, Beer R. *Endodontologie*. Thieme, Stuttgart, Deutschland, 2008

- Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *Journal of Endodontics* 1992;18(12):605–612.
- Beer T, Knospe A, Buske C. Atmosphärisches Plasma in der Medizintechnik. In: Wintermantel E und Ha S-W (Hg.): *Medizintechnik*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2009;5:839–862.
- Berber VB, Gomes BPFA, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *International Endodontic Journal* 2006;39(1):10–17.
- Berutti E, Cantatore G, Castellucci A, Chiandussi G, Pera F, Migliaretti G, Pasqualini D. Use of nickel-titanium rotary PathFile to create the glide path: Comparison with manual preflaring in simulated root canals. *Journal of Endodontics* 2009;35(3):408–412.
- Brehmer F, Haenssle HA, Daeschlein G, Ahmed R, Pfeiffer S, Görlitz A, Simon D, Schön MP, Wandke D, Emmert S. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm(®) VU-2010): Results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2015;29(1):148–155.
- Bussiahn R, Lembke N, Gesche R, Woedtke Tv, Weltmann K-D. Plasmaquellen für biomedizinische Applikationen. *Hygiene Medizin: Zeitschrift für angewandte Hygiene in Krankenhäusern und Praxis* 2013;38(5):212–216.
- Buttler TK, Crawford JJ. The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite on endotoxins. *Journal of Endodontics* 1982;8(2):59–65.

BVL (2004). Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Enterococcus faecalis* Stämme S1/01/00 bis S1/10/00. Aktenzeichen: 6790-10-89

Chen M, Zhang Y, Sky Driver M, Caruso AN, Yu Q, Wang Y. Surface modification of several dental substrates by non-thermal, atmospheric plasma brush. *Dental materials journal* 2013;29(8):871–880.

Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal* 2008;41(10):873–882.

Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, Marrie TJ. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Review of Microbiology* 1987;41:435–464.

Daeschlein G. Antimikrobielle Wirksamkeit von Plasma. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016;1:51–62.

Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, Majumdar A, Woedtke Tv, Haase H, Niggemeier M, Kindel E, Brandenburg R, Weltmann KD, Jünger M. Cold plasma is well-tolerated and does not disturb skin barrier or reduce skin moisture. *Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 2012;10(7):509–515.

Dammaschke T. Medikamentöse Wurzelkanaleinlagen. *Zahnmedizin up2date* 2008;2(2):159–176.

Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998;280(5361):295–298.

Deus GA, Gurgel-Filho ED, Maniglia-Ferreira C, Coulinho-Filho T. The Influence Of Filling Technique On Depth Of Tubule Penetration By Root

Canal Sealer: A Study Using Light Microscopy And Digital Image Processing. Australian Endodontic Journal 2004;30(1):23–28.

Deus G de, Murad CF, Reis CM, Gurgel-Filho E, Coutinho Filho T. Analysis of the sealing ability of different obturation techniques in oval-shaped canals: A study using a bacterial leakage model. Brazilian Oral Research 2006;20(1):64–69.

Dobrynin D, Fridman G, Friedman G, Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. New Journal of Physics 2009;11(11):115020.

Dong X, Li H, Chen M, Wang Y, Yu Q. Plasma treatment of dentin surfaces for improving self-etching adhesive/dentin interface bonding. Clinical Plasma Medicine 2015;3(1):10–16.

Dong X, Ritts AC, Staller C, Yu Q, Chen M, Wang Y. Evaluation of plasma treatment effects on improving adhesive-dentin bonding by using the same tooth controls and varying cross-sectional surface areas. European Journal of Oral Sciences 2013;121(4):355–362.

Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 2002;15(2):167–193.

Du T, Shi Q, Shen Y, Cao Y, Ma J, Lu X, Xiong Z, Haapasalo M. Effect of modified nonequilibrium plasma with chlorhexidine digluconate against endodontic biofilms in vitro. Journal of Endodontics 2013;39(11):1438–1443.

Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. Journal of Endodontics 2006;32(6):527–531.

Duske K, Jablonowski L, Koban I, Matthes R, Holtfreter B, Sckell A, Nebe B, Woedtke Tv, Weltmann KD, Kocher T. Cold atmospheric plasma in



combination with mechanical treatment improves osteoblast growth on biofilm covered titanium discs. *Biomaterials* 2015;52:327–334.

Duske K, Koban I, Kindel E, Schröder K, Nebe B, Holtfreter B, Jablonowski L, Weltmann KD, Kocher T. Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *Journal of Clinical Periodontology* 2012;39(4):400–407.

Egger G. *Die Akute Entzündung: Grundlagen, Pathophysiologie und klinische Erscheinungsbilder der unspezifischen Immunität*. Springer Verlag, Wien, Österreich, 2005

Ehlbeck J, Schnabel U, Polak M, Winter J, Woedtke T von, Brandenburg R, von dem Hagen, T, Weltmann K-D. Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination. *Journal of Physics D: Applied Physics* 2011;44(1):13002.

Eimar H, Siciliano R, Abdallah M-N, Nader SA, Amin WM, Martinez P-P, Celemin A, Cerruti M, Tamimi F. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *Journal of Dentistry* 2012;40:25–33.

EI-Wassefy NA. Remineralizing effect of cold plasma and/or bioglass on demineralized enamel. *Dental materials journal* 2017a;36(2):157–167.

EI-Wassefy NA. The effect of plasma treatment and bioglass paste on enamel white spot lesions. *The Saudi Journal for Dental Research* 2017b;8(1-2):58–66.

Emmert S, Brehmer F, Hänßle H, Helmke A, Mertens N, Ahmed R, Simon D, Wandke D, Maus-Friedrichs W, Däschlein G, Schön MP, Viöl W. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clinical Plasma Medicine* 2013;1(1):24–29.

Evans DJ, Allison DG, Brown MR, Gilbert P. Effect of growth-rate on resistance of gram-negative biofilms to cetrimide. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1990;26(4):473–478.

Fathollah S, Mirpour S, Mansouri P, Dehpour AR, Ghoranneviss M, Rahimi N, Safaie Naraghi Z, Chalangari R, Chalangari KM. Investigation on the effects of the atmospheric pressure plasma on wound healing in diabetic rats. *Scientific Reports* 2016;6:19144.

Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiology and Immunology* 2003;18(4):234–239.

Foreman PC, Barnes IE. Review of calcium hydroxide. *International Endodontic Journal* 1990;23(6):283–297.

Forough Reyhani M, Rezagholizadeh Y, Narimani MR, Rezagholizadeh L, Mazani M, Barhaghi MHS, Mahmoodzadeh Y. Antibacterial effect of different concentrations of sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilms in root canals. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects* 2017;11(4):215–221.

Fuchs G, Schlegel HG, Eitinger T. *Allgemeine Mikrobiologie: 53 Tabellen*. Thieme, Stuttgart, Deutschland, 2007

Gade VJ, Belsare LD, Patil S, Bhede R, Gade JR. Evaluation of push-out bond strength of endosequence BC sealer with lateral condensation and thermoplasticized technique: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD* 2015;18(2):124–127.

Gadri RB, Roth JR, Montie TC, Kelly-Wintenberg K, Tsai PP-Y, Helfritsch DJ, Feldman P, Sherman DM, Karakaya F, Chen Z. Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP). *Surface and Coatings Technology* 2000;131(1-3):528–541.

Ganesh C, Koshy P, Devi L, Sreedhar S, Aravind L, Nair S, Chacko G, Satheesh SL. Comparative evaluation of the effect of proton pump inhibitors

associated with calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Endodontology* 2016;28(1):7.

George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2005;31(12):867–872.

Gerling T, Weltmann K-D. Einführung in Atmosphärendruck-Plasmaquellen für plasmamedizinische Anwendungen. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016;1:3–15.

Girard P-M, Arbabian A, Fleury M, Bauville G, Puech V, Dutreix M, Sousa JS. Synergistic Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub> in Cell Death Induced by Cold Atmospheric He Plasma. *Scientific Reports* 2016;6:29098.

Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal* 2001;34(6):424–428.

Gomes BPFA, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *International Endodontic Journal* 2003;36(4):267–275.

Goree J, Liu B, Drake D, Stoffels E. Killing of *S. mutans* Bacteria Using a Plasma Needle at Atmospheric Pressure. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 2006;34(4):1317–1324.

Grabowski LR. Dissertation. Pulsed Corona in Air for Water Treatment, 2006. Technische Universität Eindhoven, Eindhoven, Niederlande

Grossman LI. *Endodontic practice*. Lea & Febiger, Philadelphia, Vereinigten Staaten von Amerika, 1978

Gu M, Yu Q, Tan J, Li H, Chen M, Wang Y, Dong X. Improving bond strength of ground and intact enamel to mild self-etch adhesive by plasma treatment. *Clinical Plasma Medicine* 2016;4(1):29–33.

Gunes B, Yeter KY, Terlemez A, Seker B, Altay Y. Dentinal tubule penetration of endodontic sealers after nonthermal plasma treatment: A confocal laser scanning microscopy study. *Microscopy research and technique* 2019;82(6):903–908.

Haertel B, Woedtke Tv, Weltmann K-D, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomolecules & Therapeutics* 2014;22(6):477–490.

Han G-J, Kim J-H, Chung S-N, Chun B-H, Kim C-K, Seo D-G, Son H-H, Cho B-H. Effects of non-thermal atmospheric pressure pulsed plasma on the adhesion and durability of resin composite to dentin. *European Journal of Oral Sciences* 2014;122(6):417–423.

Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* 1978;4(2):60–64.

Hauman CHJ, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: A review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal* 2003;36(2):75–85.

Heidemann D. Die Wurzelfüllung – manuell - maschinell. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1989(44):414–416.

Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann JL, Shimizu T, Karrer S. Plasma medicine: possible applications in dermatology. *Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 2010;8(12):968–976.

Herbst SR, Hertel M, Ballout H, Pierdzioch P, Weltmann K-D, Wirtz HC, Abu-Sirhan S, Kostka E, Paris S, Preissner S. Bactericidal Efficacy of Cold

- Plasma at Different Depths of Infected Root Canals In Vitro. The open dentistry journal 2015;9:486–491.
- Hofer W, Hofer V, Städtler P. Antimikrobieller Effekt von Wurzelkanaleinlagen gegen *Enterococcus faecalis*: Eine In-vitro-Studie. Endodontie 2005;14:391–397.
- Hoffmann C, Berganza C, Zhang J. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. Medical Gas Research 2013;3(1):21.
- Holscher C. Die endodontische Frage. Endodontie 2015;24(3):335–340.
- Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiology and Immunology 2003;18(2):121–126.
- Hüfner A, Steffen H, Holtfreter B, Schlüter R, Duske K, Matthes R, Woedtke Tv, Weltmann K-D, Kocher T, Jablonowski L. Effects of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma and Sodium Hypochlorite Solution on *Enterococcus faecalis* Biofilm: An Investigation in Extracted Teeth. Plasma Processes and Polymers 2017;14(3):1600064.
- Hülsmann M. Endodontie. Thieme, Stuttgart, Deutschland, 2008
- Hülsmann M, Lorch V, Franz B. Untersuchung zur Häufigkeit und Qualität von Wurzelfüllungen. Eine Auswertung von Orthopantomogrammen. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift 1991;46(4):296–299.
- Hülsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: Shaping goals, techniques and means. Endodontic Topics 2005;10(1):30–76.
- Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS. Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. Emerging Infectious Diseases 1998;4(2):239–249.

Isbary G, Heinlin J, Shimizu T, Zimmermann JL, Morfill G, Schmidt H-U, Monetti R, Steffes B, Bunk W, Li Y, Klaempfl T, Karrer S, Landthaler M, Stolz W. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: Results of a randomized controlled trial. *The British Journal of Dermatology* 2012;167(2):404–410.

Isbary G, Morfill G, Schmidt HU, Georgi M, Ramrath K, Heinlin J, Karrer S, Landthaler M, Shimizu T, Steffes B, Bunk W, Monetti R, Zimmermann JL, Pompl R, Stolz W. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *The British Journal of Dermatology* 2010;163(1):78–82.

Isbary G, Stolz W, Shimizu T, Monetti R, Bunk W, Schmidt H-U, Morfill GE, Klämpfl TG, Steffes B, Thomas HM, Heinlin J, Karrer S, Landthaler M, Zimmermann JL. Cold atmospheric argon plasma treatment may accelerate wound healing in chronic wounds: Results of an open retrospective randomized controlled study in vivo. *Clinical Plasma Medicine* 2013;1(2):25–30.

Jablonowski H, Woedtke Tv. Research on plasma medicine-relevant plasma–liquid interaction: What happened in the past five years? *Clinical Plasma Medicine* 2015;3(2):42–52.

Jablonowski L, Koban I, Berg MH, Kindel E, Duske K, Schröder K, Weltmann K-D, Kocher T. Elimination of *E. Faecalis* by a New Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Handheld Device for Endodontic Treatment. A Preliminary Investigation. *Plasma Processes Polym.* 2013;10(6):499–505.

Jablonowski L, Matthes R, Duske K, Kocher T. Plasmaanwendungen in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016;1:121–136.

Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK. Biofilm in endodontics: A review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry* 2015;5(1):1–12.

Jiang C, Chen M-T, Schaudinn C, Gorur A, Vernier PT, Costerton JW, Jaramillo DE, Sedghizadeh PP, Gundersen MA. Pulsed Atmospheric-Pressure Cold Plasma for Endodontic Disinfection. *IEEE Transactions on Plasma Science* 2009;37(7):1190–1195.

Jiang C, Schaudinn C, Jaramillo DE, Webster P, Costerton JW. In Vitro Antimicrobial Effect of a Cold Plasma Jet against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *ISRN dentistry* 2012;2012:295736.

Joaquin JC, Kwan C, Abramzon N, Vandervoort K, Brelles-Mariño G. Is gas-discharge plasma a new solution to the old problem of biofilm inactivation? *Microbiology* 2009;155(3):724–732.

Kalghatgi S, Fridman A, Azizkhan-Clifford J, Friedman G. DNA Damage in Mammalian Cells by Non-thermal Atmospheric Pressure Microsecond Pulsed Dielectric Barrier Discharge Plasma is not Mediated by Ozone. *Plasma Processes and Polymers* 2012;9(7):726–732.

Kara Tuncer A, Tuncer S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. *Journal of Endodontics* 2012;38(6):860–863.

Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *Journal of Endodontics* 1979;5(3):83–90.

Khayat A, Lee S-J, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *Journal of Endodontics* 1993;19(9):458–461.

Kieft IE. Plasma needle: exploring biomedical applications of non-thermal plasmas. Technische Universiteit Eindhoven, Eindhoven, Nederlande, 2005

- Kishen A, George S, Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A* 2006;77(2):406–415.
- Kishen A, Sum C-P, Mathew S, Lim C-T. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *Journal of Endodontics* 2008;34(7):850–854.
- Klee D, Lahann J, Plüster W. Dünne Beschichtungen auf Biomaterialien. In: Wintermantel E und Ha S-W (Hg.): *Medizintechnik*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2009;5:863–877.
- Klimek J., Kockapan C., Borchert J. Häufigkeit und Qualität von Wurzelkanalfüllungen in den Jahren 1983 und 1991. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1995(50):154–156.
- Klimm W. *Endodontologie: Lehrbuch für Studium und Praxis*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, Deutschland, 2010
- Koban I, Geisel MH, Holtfreter B, Jablonowski L, Hübner N-O, Matthes R, Masur K, Weltmann K-D, Kramer A, Kocher T. Synergistic Effects of Nonthermal Plasma and Disinfecting Agents against Dental Biofilms In Vitro. *ISRN dentistry* 2013;2013:573262.
- Koban I, Holtfreter B, Hübner N-O, Matthes R, Sietmann R, Kindel E, Weltmann K-D, Welk A, Kramer A, Kocher T. Antimicrobial efficacy of non-thermal plasma in comparison to chlorhexidine against dental biofilms on titanium discs in vitro - proof of principle experiment. *Journal of Clinical Periodontology* 2011;38(10):956–965.
- Koban I, Jablonowski L, Kramer A, Weltmann K-D, Kocher T. Medical Plasma in Dentistry: A Future Therapy for Peri-implantitis. In: Machala Z, Hensel K und Akishev Y (Hg.): *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012;(NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology);1:191–200.



Koçkapan C. Curriculum Endodontie. Quintessenz-Verlags-GmbH, Berlin, Deutschland, 2003

Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2015;27(5):240–257.

Leal F, Simão RA, Fidel SR, Fidel RAS, do Prado M. Effect of final irrigation protocols on push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer to dentin. *Australian Endodontic Journal* 2015;41(3):135–139.

Lee HW, Kim GJ, Kim JM, Park JK, Lee JK, Kim GC. Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. *Journal of Endodontics* 2009;35(4):587–591.

Lee K-W, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *Journal of Endodontics* 2002;28(10):684–688.

Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Zylla I-M, Seifert HJ, Nothdurft F, Hannig M, Rupf S. Modification of Enamel and Dentin Surfaces by Non-Thermal Atmospheric Plasma. *Plasma Processes Polym.* 2013;10(3):262–270.

Li S-Z, Lim J-P, Kang JG, Uhm HS. Comparison of atmospheric-pressure helium and argon plasmas generated by capacitively coupled radio-frequency discharge. *Physics of Plasmas* 2006;13(9):93503.

Li Y, Sun K, Ye G, Liang Y, Pan H, Wang G, Zhao Y, Pan J, Zhang J, Fang J. Evaluation of Cold Plasma Treatment and Safety in Disinfecting 3-week Root Canal *Enterococcus faecalis* Biofilm In Vitro. *Journal of Endodontics* 2015;41(8):1325–1330.

Lin LM, Rosenberg PA, Lin J. Do procedural errors cause endodontic treatment failure? *Journal of the American Dental Association* 2005;136(2):187-193.

- Liu Y, Liu Q, Yu QS, Wang Y. Nonthermal Atmospheric Plasmas in Dental Restoration. *Journal of Dental Research* 2016;95(5):496–505.
- Love RM. *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure. *International Endodontic Journal* 2001;34(5):399–405.
- Lu X, Cao Y, Yang P, Xiong Q, Xiong Z, Xian Y, Pan Y. An RC Plasma Device for Sterilization of Root Canal of Teeth. *IEEE Transactions on Plasma Science* 2009;37(5):668–673.
- Macedo LMDd, Silva-Sousa Y, Silva SRCd, Baratto SSP, Baratto-Filho F, Abi Rached-Júnior FJ. Influence of Root Canal Filling Techniques on Sealer Penetration and Bond Strength to Dentin. *Brazilian dental journal* 2017;28(3):380–384.
- Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific Reports* 2016;6:38610.
- Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *International Endodontic Journal* 2007;40(11):873–881.
- Martin DM. Irrigation and medication of the root canal. *Journal of the British Endodontic Society* 1979;12:55–64.
- Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. *Journal of Endodontics* 2003;29(3):194–200.
- Mattison GD, Delivanis PD, Thacker RW, Hassell KJ. Effect of post preparation on the apical seal. *The Journal of prosthetic dentistry* 1984;51(6):785–789.

- Meire MA, Coenye T, Nelis HJ, Moor RJG de. Evaluation of Nd:YAG and Er:YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis* biofilms. *International Endodontic Journal* 2012;45(5):482–491.
- Melamies IA. Dünnschicht- und Plasmatechnik: Die Plasmateat GmbH stellt die Openair-Technik vor. *Galvanotechnik* 2007;98(7):1734–1738.
- Melcher A, Gough M, Todryk S, Vile R. Apoptosis or necrosis for tumor immunotherapy: what's in a name? *Journal of Molecular Medicine* 1999;77(12):824–833.
- Menezes M, Prado M, Gomes B, Gusman H, Simão R. Effect of photodynamic therapy and non-thermal plasma on root canal filling: Analysis of adhesion and sealer penetration. *Journal of Applied Oral Science* 2017;25(4):396–403.
- Metelmann P, Ong H, Frey KF. Anwendungsmöglichkeiten in der Kieferorthopädie. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016a;1:167–176.
- Metelmann PH, Quooß A, Woedtke Tv, Krey K-F. First insights on plasma orthodontics - Application of cold atmospheric pressure plasma to enhance the bond strength of orthodontic brackets. *Clinical Plasma Medicine* 2016b;4(2):46–49.
- Metzger Z, Abramovitz R, Abramovitz L, Tagger M. Correlation between remaining length of root canal fillings after immediate post space preparation and coronal leakage. *Journal of Endodontics* 2000;26(12):724–728.
- Miletić I, Prpić-Mehićić G, Marsan T, Tambić-Andrasević A, Plesko S, Karlović Z, Anić I. Bacterial and fungal microleakage of AH26 and AH Plus root canal sealers. *International Endodontic Journal* 2002;35(5):428–432.

- Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2014;12(10):1221–1236.
- Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial activity of calcium hydroxide in endodontics: A review. *Chonnam Medical Journal* 2012;48(3):133–140.
- Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia L'H. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics* 2001;226(1-2):1–21.
- Mozini ACA, Vansan LP, Sousa Neto MD, Pietro R. Influence of the length of remaining root canal filling and post space preparation on the coronal leakage of *Enterococcus faecalis*. *Braz. J. Microbiol.* 2009;40(1):174–179.
- Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews* 1990;3(1):46–65.
- Murray BE. Beta-lactamase-producing enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1992;36(11):2355–2359.
- Nair PNR. Apical periodontitis: A dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000* 1997;13(1):121–148.
- Nair VS, Nayak M, Ramya MK, Sivadas G, Ganesh C, Devi SL, Vedam V. Detection of Adherence of *Enterococcus faecalis* in Infected Dentin of Extracted Human Teeth Using Confocal Laser Scanning Microscope: An In vitro Study. *Journal of pharmacy & bioallied sciences* 2017;9(Suppl 1):41-44.
- Ng R, Singh F, Papamanou DA, Song X, Patel C, Holewa C, Patel N, Klepac-Ceraj V, Fontana CR, Kent R, Pagonis TC, Stashenko PP, Soukos NS. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. *Journal of Endodontics* 2011;37(2):217–222.

Nixon C, Vertucci FJ, Swindle R. The effect of post space preparation on the apical seal of root canal obturated teeth. *Today's FDA : official monthly journal of the Florida Dental Association* 1991;3(8):1-6.

Nunes VH, Silva RG, Alfredo E, Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YTC. Adhesion of Epiphany and AH Plus sealers to human root dentin treated with different solutions. *Brazilian dental journal* 2008;19(1):46–50.

Oehler K. Zahnmedizinischer Standard in der Rechtsprechung: Sicherheit durch Behandlungsregeln. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, Deutschland, 2009

Orstavik D. Materials used for root canal obturation: Technical, biological and clinical testing. *Endodontic Topics* 2005;12(1):25–38.

Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics & Dental Traumatology* 1990;6(4):142–149.

Pai K, Timmons C, Roehm KD, Ngo A, Narayanan SS, Ramachandran A, Jacob JD, Ma LM, Madihally SV. Investigation of the Roles of Plasma Species Generated by Surface Dielectric Barrier Discharge. *Scientific Reports* 2018;8(1):16674.

Pan J, Sun K, Liang Y, Sun P, Yang X, Wang J, Zhang J, Zhu W, Fang J, Becker KH. Cold plasma therapy of a tooth root canal infected with enterococcus faecalis biofilms in vitro. *Journal of Endodontics* 2013;39(1):105–110.

Panngom K, Baik KY, Nam MK, Han JH, Rhim H, Choi EH. Preferential killing of human lung cancer cell lines with mitochondrial dysfunction by nonthermal dielectric barrier discharge plasma. *Cell Death & Disease* 2013;4:e642.

Paqué F, Sirtes G. Apical sealing ability of Resilon/Epiphany versus guttapercha/AH Plus: Immediate and 16-months leakage. *International Endodontic Journal* 2007;40(9):722–729.

Park SR, Lee HW, Hong JW, Lee HJ, Kim JY, Choi BB-R, Kim GC, Jeon YC. Enhancement of the killing effect of low-temperature plasma on *Streptococcus mutans* by combined treatment with gold nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology* 2014;12:29.

Parsell DE, Stewart BM, Barker JR, Nick TG, Karns L, Johnson RB. The effect of steam sterilization on the physical properties and perceived cutting characteristics of extracted teeth. *Journal of dental education* 1998;62(3):260–263.

Pashley DH. Smear layer: Overview of structure and function. *Proceedings of the Finnish Dental Society* 1992;88 Suppl 1:215–224.

Pawar SS, Pujar MA, Makandar SD. Evaluation of the apical sealing ability of bioceramic sealer, AH plus & epiphany: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry : JCD* 2014;17(6):579–582.

Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. *Journal of Dentistry* 2006;34(1):35–40.

Pollak R. Dissertation. Entwicklung eines Prüfsystems zur Bakteriendurchlässigkeit von Wurzelkanalfüllmaterialien, 2010. Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Deutschland

Portell FR, Bernier WE, Lorton L, Peters DD. The effect of immediate versus delayed dowel space preparation on the integrity of the apical seal. *Journal of Endodontics* 1982;8(4):154–160.

Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2010;36(3):520–523.

- Ritts AC, Li H, Yu Q, Xu C, Yao X, Hong L, Wang Y. Dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush for interfacial bonding improvement in composite restoration. *European Journal of Oral Sciences* 2010;118(5):510–516.
- Rupf S, Arnold T, Lehmann A, Schindler A. Perspektiven für Prävention und Therapie der Zahnkaries. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016;1:159–165.
- Rupf S, Lehmann A, Hannig M, Schäfer B, Schubert A, Feldmann U, Schindler A. Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet. *Journal of Medical Microbiology* 2010;59(2):206–212.
- Saad NA, Zaaba SK, Mustaffa MT, Zakaria A, Md Nor R, Shahrman AB, Akitsu T. Optical emission spectroscopy analysis of atmospheric plasma jet plume on bacteria inactivation. *Jurnal Teknologi* 2015;77(6):77–81.
- Saatchi M, Shokraneh A, Navaei H, Maracy MR, Shojaei H. Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Oral Science* 2014;22(5):356–365.
- Saber SE-DM, El-Hady SA. Development of an intracanal mature *Enterococcus faecalis* biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study. *European Journal of Dentistry* 2012;6(1):43–50.
- Safavi K, NICHOLS F. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *Journal of Endodontics* 1993;19(2):76–78.
- Safavi K, Spånberg LSW. Chlorhexidin in der Endodontie. Chemie, antimikrobielle Wirkung und mögliche Indikationen. *Endodontie* 2006;15:171–176.

Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: A review. *Dent Traumatol* 1994;10(3):105–108.

Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2005;31(1):53–56.

Schaudinn C, Jaramillo D, Freire MO, Sedghizadeh PP, Nguyen A, Webster P, Costerton JW, Jiang C. Evaluation of a nonthermal plasma needle to eliminate ex vivo biofilms in root canals of extracted human teeth. *International Endodontic Journal* 2013;46(10):930–937.

Schaudinn C, Webster P, Jaramillo DE, Freire M, Nguyen A, Sedghizadeh PP, Costerton JW, Jiang C. Cold plasma treatment of endodontic biofilms in root canals ex vivo. In: *IEEE. 39<sup>th</sup> International Conference on Plasma Sciences (ICOPS)*. Edinburgh, Schottland: IEEE, 2012:3E-8-3E-8.

Schneider S, Lackmann J-W, Ellerweg D, Denis B, Narberhaus F, Bandow JE, Benedikt J. The Role of VUV Radiation in the Inactivation of Bacteria with an Atmospheric Pressure Plasma Jet. *Plasma Processes and Polymers* 2012;9(6):561–568.

Schroeder HE. *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks*. Thieme, Stuttgart, Deutschland, 2000

Schulte A, Pieper K, Charalabidou O, Stoll R, Stachniss V. Prevalence and quality of root canal fillings in a German adult population. *Clinical Oral Investigations* 1998;2(2):67–72.

Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *International Endodontic Journal* 2005;38(10):735–742.

Seltzer S. *Endodontology: Biological considerations in endodontic procedures*. Lea & Febiger, Philadelphia, Vereinigten Staaten von Amerika, 1988



Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: A phenomenon in root canal therapy. *International Endodontic Journal* 1995;28(3):141–148.

Seyfarth K, Blum C, Plank A, Sommer C, Mergner M, Thomaschewski B. Behandlung von Aphthen im Mundraum mit Plasma. *Plasma Kurier* 2014(1):100–103.

Shetty MA, Hegde V, M K. Effects of Different Final Irrigating Solutions on Depth of Sealer Penetration into the Dentinal Tubules: An in vitro Confocal Laser Microscopic Study. *JODEND* 2017;2(2):69–73.

Shi Q, Song K, Zhou X, Xiong Z, Du T, Lu X, Cao Y. Effects of non-equilibrium plasma in the treatment of ligature-induced peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2015;42(5):478–487.

Sies H. Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection. *Mutation research* 1993;299(3-4):183–191.

Sies H, Menck CF. Singlet oxygen induced DNA damage. *Mutation research* 1992;275(3-6):367–375.

Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: A critical review. *International Endodontic Journal* 1999;32(5):361–369.

Siqueira JF, Rôças IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M de. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *Journal of Endodontics* 2002;28(3):181–184.

Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *International Endodontic Journal* 1997;30(2):91–95.

Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *Journal of Endodontics* 1990;16(10):498–504.

Sladek REJ, Filoche SK, Sissons CH, Stoffels E. Treatment of *Streptococcus mutans* biofilms with a nonthermal atmospheric plasma. *Letters in Applied Microbiology* 2007;45(3):318–323.

Sladek REJ, Stoffels E, Walraven R, Tielbeek PJA, Koolhoven RA. Plasma Treatment of Dental Cavities: A Feasibility Study. *IEEE Transactions on Plasma Science* 2004;32(4):1540–1543.

Smith RS, Weller RN, Loushine RJ, Kimbrough WF. Effect of varying the depth of heat application on the adaptability of gutta-percha during warm vertical compaction. *Journal of Endodontics* 2000;26(11):668–672.

Soares JA, Leonardo MR, Silva LABd, Tanomaru Filho M, Ito IY. Histomicrobiologic aspects of the root canal system and periapical lesions in dogs' teeth after rotary instrumentation and intracanal dressing with Ca(OH)<sub>2</sub> pastes. *Journal of Applied Oral Science* 2006;14(5):355–364.

Sousa-Neto MD, Marchesan M, Pécora JD, Brugnera A, Silva-Sousa YTC, Saquy PC. Effect of Er: YAG Laser on Adhesion of Root Canal Sealers. *Journal of Endodontics* 2002;28(3):185–187.

Sousa-Neto MD, Silva Coelho FI, Marchesan MA, Alfredo E, Silva-Sousa YTC. Ex vivo study of the adhesion of an epoxy-based sealer to human dentine submitted to irradiation with Er: YAG and Nd : YAG lasers. *International Endodontic Journal* 2005;38(12):866–870.

Souza LC, Brito PRR, Oliveira JCM de, Alves FRF, Moreira EJJ, Sampaio-Filho HR, Rôças IN, Siqueira JF. Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2010;36(2):292–296.

Sternberg C, Christensen BB, Johansen T, Toftgaard Nielsen A, Andersen JB, Givskov M, Molin S. Distribution of bacterial growth activity in flow-chamber biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* 1999;65(9):4108–4117.

Stewart PS, Franklin MJ. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature Reviews Microbiology* 2008;6(3):199–210.

Stratton RK, Apicella MJ, Mines P. A fluid filtration comparison of gutta-percha versus Resilon, a new soft resin endodontic obturation system. *Journal of Endodontics* 2006;32(7):642–645.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of Endodontics* 2006;32(2):93–98.

Sun P, Wu H, Zhang J, Fang J, Pan J, Tian Y, Liu F, Zhu W, Becker K. A novel method of tooth whitening using a cold plasma micro-jet driven by direct current at atmospheric-pressure air. In: IEEE. 37<sup>th</sup> International Conference on Plasma Sciences (ICOPS). Norfolk, VA, USA: IEEE, 2010:1.

Sun X, Wang S, Yang Y, Luo C, Hou B. Study of invasion and colonization of *E. faecalis* in microtubes by a novel device. *Biomedical Microdevices* 2016;18(5):82.

Švarcová M, Julák J, Hubka V, Soušková H, Scholtz V. Treatment of a superficial mycosis by low-temperature plasma: A case report. *Prague Medical Report* 2014;115(1-2):73–78.

Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endodontic Topics* 2004;9(1):27–36.

Tanalp J, Güngör T. Apical extrusion of debris: A literature review of an inherent occurrence during root canal treatment. *International Endodontic Journal* 2014;47(3):211–221.

Tipa RS, Boekema B, Middelkoop E, Kroesen, G. M. W. Cold plasma for bacterial inactivation Conference Paper. In: IPCS. 20<sup>th</sup> International Symposium on Plasma Chemistry. Philadelphia, Vereinigte Staaten von Amerika, 2011:312.

Tummala M, Chandrasekhar V, Rashmi AS, Kundabala M, Ballal V. Assessment of the wetting behavior of three different root canal sealers on root canal dentin. *Journal of conservative dentistry : JCD* 2012;15(2):109–112.

Ungor M, Onay EO, Orucoglu H. Push-out bond strengths: The Epiphany-Resilon endodontic obturation system compared with different pairings of Epiphany, Resilon, AH Plus and gutta-percha. *International Endodontic Journal* 2006;39(8):643–647.

Üreyen Kaya B, Kececi AD, Güldaş HE, Çetin ES, Öztürk T, Öksüz L, Bozduman F. Efficacy of endodontic applications of ozone and low-temperature atmospheric pressure plasma on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Letters in Applied Microbiology* 2014;58(1):8–15.

Usha HL, Kaiwar A, D. M. Biofilm in endodontics: New understanding to an old problem. *International Journal of Contemporary Dentistry* 2010;1(3):44–51.

Vianna ME, Gomes BPF, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ de. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2004;97(1):79–84.

Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics – a review. *International Endodontic Journal* 2010;43(1):2–15.

Virard F, Cousty S, Cambus J-P, Valentin A, Kémoun P, Clément F. Cold Atmospheric Plasma Induces a Predominantly Necrotic Cell Death via the Microenvironment. *PLOS ONE* 2015;10(8):e0133120.

- Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997;390(6658):350–351.
- Vouzara T, Koulaouzidou E, Ziouti F, Economides N. Combined and independent cytotoxicity of sodium hypochlorite, ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine. *International Endodontic Journal* 2016;49(8):764–773.
- Wagner C, Barth VC, Oliveira SD de, Campos MM. Effectiveness of the proton pump inhibitor omeprazole associated with calcium hydroxide as intracanal medication: An in vivo study. *Journal of Endodontics* 2011;37(9):1253–1257.
- Walker RT. Endodontic disease: Development and treatment. *Primary Dental Care* 1996;3(2):53–56.
- Wang Q-Q, Zhang C-F, Chu C-H, Zhu X-F. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Journal of Oral Science* 2012;4(1):19–23.
- Wang R, Zhou H, Sun P, Wu H, Pan J, Zhu W, Zhang J, Fang J. The Effect of an Atmospheric Pressure, DC Nonthermal Plasma Microjet on Tooth Root Canal, Dentinal Tubules Infection and Reinfection Prevention. *Plasma Medicine* 2011;1(2):143–155.
- Weber T. *Memorix Zahnmedizin: 116 Tabellen*. Thieme, Stuttgart, Deutschland, 2010
- Weiger R, Hitzler S, Hermle G, Löst C. Periapical status, quality of root canal fillings and estimated endodontic treatment needs in an urban German population. *Endodontics & Dental Traumatology* 1997;13(2):69–74.
- Woedtke Tv, Schmidt A, Bekeschus S, Wende K. Wissenschaftliche Grundlagen, Stand und Perspektiven der Plasmamedizin. In: Metelmann H-R, Woedtke Tv und Weltmann K-D (Hg.): *Plasmamedizin. Kaltplasma in der*

medizinischen Anwendung. Berlin/Heidelberg, Deutschland: Springer Verlag, 2016;1:17–32.

Wu MK, Wesselink PR. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. *International Endodontic Journal* 2001a;34(2):137–141.

Wu M-K, Kaš'áková A, Wesselink PR. Quality of cold and warm gutta-percha fillings in oval canals in mandibular premolars. *International Endodontic Journal* 2001b;34(6):485–491.

Xiong Z, Du T, Lu X, Cao Y, Pan Y. How deep can plasma penetrate into a biofilm? *Applied Physics Letters* 2011;98(22):221503.

Xu KD, Stewart PS, Xia F, Huang CT, McFeters GA. Spatial physiological heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm is determined by oxygen availability. *Applied and Environmental Microbiology* 1998;64(10):4035–4039.

Yan D, Cui H, Zhu W, Nourmohammadi N, Milberg J, Zhang LG, Sherman JH, Keidar M. The Specific Vulnerabilities of Cancer Cells to the Cold Atmospheric Plasma-Stimulated Solutions. *Scientific Reports* 2017;7(1):4479.

Yan X, Xiong Z, Zou F, Zhao S, Lu X, Yang G, He G, Ostrikov KK. Plasma-Induced Death of HepG2 Cancer Cells: Intracellular Effects of Reactive Species. *Plasma Processes and Polymers* 2012;9(1):59–66.

Yu QS, Li H, Ritts AC, Yang B, Chen M, Hong L, Xu C, Yao X, Wang Y. Non-thermal Atmospheric Plasma Treatment for Deactivation of Oral Bacteria and Improvement of Dental Composite Restoration. In: Machala Z, Hensel K und Akishev Y (Hg.): *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*. Dordrecht, Niederlande: Springer Netherlands, 2012;(NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology);1:215–228.

Zehnder M, Söderling E, Salonen J, Waltimo T. Preliminary evaluation of bioactive glass S53P4 as an endodontic medication in vitro. *Journal of Endodontics* 2004;30(4):220–224.

Zhang R, Chen M, Lu Y, Guo X, Qiao F, Wu L. Antibacterial and residual antimicrobial activities against *Enterococcus faecalis* biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. *Scientific Reports* 2015;5:12944.

Zhou X-C, Li Y-L, Liu D-X, Cao Y-G, Lu X-P. Bactericidal effect of plasma jet with helium flowing through 3% hydrogen peroxide against *Enterococcus faecalis*. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2016;12(5):3073–3077.

Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung, Gary S P, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of *Enterococcus faecalis* isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 2010;36(12):1950–1955.

Zimmermann JL, Dumler K, Shimizu T, Morfill GE, Wolf A, Boxhammer V, Schlegel J, Gansbacher B, Anton M. Effects of cold atmospheric plasmas on adenoviruses in solution. *Journal of Physics D: Applied Physics* 2011;44(50):505201.

Zimmermann JL, Shimizu T, Schmidt HU, Li YF, Morfill GE, Isbary G. Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment. *New Journal of Physics* 2012;14(7):73037.

## 8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassende Übersicht über die Darstellung der Testreihen.....	30
Tabelle 2: Darstellung der Testreihen I, II, III. Wurde die Nährlösung der unteren Kammer positiv auf E. faecalis getestet, galt die Probe als kontaminiert. Bei der Durchlässigkeit erreichte in drei von drei Proben (100 %) E. faecalis die untere Kammer. Testreihe II und III blieben steril (Kontamination = 0 %). .....	36
Tabelle 3: Korrelationskoeffizient der Testreihen IV-VI. Die polynomische Funktion korreliert am höchsten mit der Stufenfunktion der experimentell ermittelten Werte.....	37
Tabelle 4: Games-Howell Post Hoc-Test .....	46
Tabelle 5: Mittels Games-Howell-Test wurde untersucht, ob die Testreihen untereinander zu den drei Stichtagen signifikante Unterschiede aufzeigen. ....	51
Tabelle 6: Auswertung der einfachen Standardabweichungen bei der KbE-Bestimmung über die gesamten Testreihen (negative Werte=Unterschreitung, „ / “ =mittlere Toleranz, positive Werte=Überschreitung).....	52



## 9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Eigenschaften und Zusammensetzung von Plasma.....	4
Abbildung 2: Eine Oberflächenbehandlung mit physikalischem Plasma (Grafik b) reduziert den Kontaktwinkel vergleichend zur unbehandelten Oberfläche (Grafik a) und steigert die Benetzbarkeit (Quelle: eigene Abbildung in Anlehnung an Jablonowski et al., 2016, S. 125).....	8
Abbildung 3: Schematische Darstellung des grampositiven Kettenkokken- Bakteriums <i>E. faecalis</i> .....	19
Abbildung 4: Wurzelstümpfe mit einer Länge von 10 mm. ....	23
Abbildung 5: Plasmabehandlung. Der sterilisierte Wurzelstumpf wurde mit einer sterilen Pinzette unmittelbar unter die Plasmazündung gehalten.	24
Abbildung 6: Testaufbau: Das Grundgerüst bildeten zwei bodenlose Kunststoffröhrchen. Die Wurzel wurde zirkulär mit Impregum <sup>TM</sup> umspritzt und zwischen den Röhrchen fixiert. Von außen aufgebracht Kallocryl® versiegelte den Aufbau. ....	26
Abbildung 7: Von der Vorbehandlung bis zum Aufbau des Testsystems: Der Zahn wurde koronal gekürzt. Anschließend wurde der Wurzelkanal maschinell aufbereitet. Seitenkanäle wurden durch das Lackieren abgedichtet. Vor der konventionellen Wurzelkanalfüllung wurde ein Teil der Wurzelstümpfe mit KAP behandelt. Der Wurzelstumpf wurde zwischen zwei Röhrchen fixiert. Zuletzt wurden die Kammern beider Röhrchen unabhängig voneinander befüllt und die Nährlösung der oberen Kammer zusätzlich mit dem Bakterium <i>E. faecalis</i> kontaminiert. .....	28
Abbildung 8: Exemplarische Darstellung mikrobiell untersuchter Materialien. .....	31
Abbildung 9: Steril abgepackte Arbeitsmaterialien. ....	32
Abbildung 10: Steriler Arbeitsplatz mit Abzug. Zu sehen sind u. a. CASO- Agar-Kulturplatten für den mikrobiologischen Nachweis des Testbakteriums und Pipetten unterschiedlichen Volumens.....	33
Abbildung 11: Verdünnungsreihe. ....	34

Abbildung 12: Kurvenverlauf der polynomischen Funktion zweiten Grades durch gefittete Werte der Stufenfunktion.....	37
Abbildung 13: Grafische Darstellung der Testreihe IV mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades.....	39
Abbildung 14: Grafische Darstellung der Testreihe V mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades. ....	40
Abbildung 15: Grafische Darstellung der Testreihe VI mit Trendlinie durch das Polynom 2. Grades.....	41
Abbildung 16: Kontaminierte Nährlösungen der unteren Kammern der Testreihen IV, V und VI im Vergleich. Die Trendlinien der dazugehörigen Stufenfunktionen wurden hervorgehoben; die Stufenfunktionen als Anhaltspunkte in den Hintergrund gestellt.....	42
Abbildung 17: Prozentuale Abweichung der Kontamination der mit Plasma vorbehandelten Wurzelkanalfüllungen (Testreihe V, VI) zur konventionellen Behandlung (Testreihe IV). Testreihe IV (gelb) markiert die Nulllinie. Werte darüber weisen eine bessere Wandständigkeit auf, während eine Unterschreitung der Nulllinie eine höhere Durchlässigkeit im Vergleich zur konventionellen Wurzelkanalfüllung bedeutet. ....	44
Abbildung 18: Bakterienwachstum im Vergleich. Dargestellt ist das Bakterienwachstum kontaminierter Nährlösungen der unteren Kammern, ausgezählt am ersten, zweiten und siebenten Tag der Testreihen IV, V und VI.....	47
Abbildung 19: Schematischer Aufbau von Testsystemen anderer Studien (Quelle: Eigene Abbildung in Anlehnung an Pollak, 2010).....	56

## 10 Abkürzungsverzeichnis

CASO	Casein-Soja-Pepton
CHX	Chlorhexidindigluconat
E. coli	Escherichia coli
E. faecalis	Enterococcus faecalis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GIZ	Glasionomerzement
KAP	kaltes atmosphärisches Plasma
KbE	koloniebildende Einheit
K-Feile	Kerr-Feile
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
PDT	photodynamische Therapie
RNS	reaktive Stickstoffspezies
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
S. sanguinis	Streptococcus sanguinis
Sig.	Signifikanz
UVA	Ultraviolettstrahlung-A, Wellenlänge: 380-315 nm
UVB	Ultraviolettstrahlung-B, Wellenlänge: 315-280 nm
UVC	Ultraviolettstrahlung-C, Wellenlänge: 280-100 nm
VDW	Verein Deutscher Werkzeugmaschinenfabriken

# 11 Anhang

## Tabellen (Laborergebnisse)

dunkel markiertes x = Neuinfektion

hell markiertes x = kontaminiert

o = steril

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

19.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

21.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

23.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

25.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	o	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

27.03.2015

## Anhang

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

29.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

31.03.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

02.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

04.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x		

06.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	x		

08.04.2015

## Anhang

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	o	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	x	o	o	o	x	o	o	x	x		

10.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	x	o	o	o	x	o	o	x	x		

12.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	x	o	o	o	x	o	o	x	x		

14.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	x	o	o	o	x	o	o	x	x		

16.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	o	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	o	o	o	x	o	o	o	x	o	o	x	x		

18.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

20.04.2015

## Anhang

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	x	x												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

22.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	o	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

24.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

26.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

28.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

30.04.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

02.05.2015

## Anhang

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	o	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

04.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	o	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

06.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	o	o	x	o	x	o	o	o	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

08.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	x	o	x	o	x	o	o	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

10.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	x	o	x	o	x	o	o	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

12.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	x	o	x	o	x	o	o	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

14.05.2015



## Anhang

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	x	o	x	o	x	o	x	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

16.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	o	x	x	o	x	o	x	o	x	o	x	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

18.05.2015

Testlinien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I Durchlässigkeit	x	x	x												
II Dichtigkeit	o	o	o												
III Fremdkontamination	o	o	o												
IV Prüfgruppe	o	x	x	x	o	x	o	x	o	x	o	x	x	x	
V Plasma t=30 s	o	x	o	o	x	o	o	o	x	x	x	x	x	x	o
VI Plasma t=120 s	o	x	x	o	x	x	o	o	x	o	o	x	x		

20.05.2015

## Anhang

Verdünnungsreihe \*10<sup>-5</sup> [KbE]

Ausgangskonzentration e. faecalis:

167	163	18.03.2015
-----	-----	------------

	Tag	Test- reihe	Konta- minierte Probe	Tag 1		Tag 2		Tag 7	
				nach Kontami- nation	nach Kontami- nation	nach Kontami- nation	nach Kontami- nation		
19.03.15	1	I	1	85	89	93	87	87	90
			2	96	96	98	95	95	101
			3	78	82	89	86	85	78
		IV	14	83	82	87	84	95	96
			V	2	76	74	85	81	95
		VI	9	71	70	79	76	95	91
			13	86	86	89	87	100	97
21.03.15	3	IV	10	70	69	68	71	84	83
27.03.15	9	IV	4	87	91	95	99	97	100
29.03.15	11	IV	3	64	62	68	65	69	64
08.04.15	21	VI	12	65	68	79	83	90	87
10.04.15	23	V	10	58	63	65	60	71	71
		VI	5	67	65	85	91	98	94
12.04.15	25	V	13	71	66	87	88	96	91
20.04.15	33	IV	8	73	79	82	79	85	84
			2	68	64	73	69	84	87
		VI	6	54	57	70	68	83	79
24.04.15	37	V	12	61	59	65	62	79	82
26.04.15	39	V	14	68	63	72	79	95	91
06.04.15	49	V	11	83	78	88	85	102	98
08.05.15	51	VI	3	75	81	82	79	92	97
10.05.15	53	IV	6	62	67	66	70	83	78
			13	63	60	69	73	88	85
12.05.15	55	V	9	55	53	61	60	76	69
16.05.15	59	IV	12	60	65	87	86	95	99
20.05.15	63	IV	2	73	69	77	84	87	85
		V	5	65	68	79	75	82	88

## 12 Danksagung

Im ganz besonders hohen Maße möchte ich **Herrn Dr. Michael Drefs** aus der Abteilung Parodontologie und Endodontologie in Greifswald und Spezialist für Endodontie in Schwerin für die Überlassung des Themas und seine ausgezeichnete Unterstützung danken.

**Frau Dr. Heike Steffen**, Oberärztin in der Klinik für Zahnheilkunde, Parodontologie und Endodontologie in Greifswald und Spezialistin für Endodontologie der DGZ, danke ich für die Betreuung in der Endphase dieser Arbeit.

**Herrn Dr. Rudger Matthes**, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Abteilung Parodontologie des ZZMK Greifswald, und **Herrn Dr. Lukasz Jablonowski** aus der Abteilung Parodontologie in Greifswald danke ich für die umfassende labordiagnostische Hilfestellung.

**Herrn Dr. Georg Daeschlein**, Facharzt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie, **Frau Maria Niggemeier** und **Frau Christine Stötzer**, medizinisch-technische Assistentinnen der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten danke ich für die Einführung in die Welt der Zellbiologie und des Plasmas.

Ein großes Dankeschön geht an meine langjährige Freundin **Nora Götze** für das geduldige Lektorat dieser Arbeit.

Meinen Eltern, **Herrn Dr. Jürgen Hille** und **Frau Dr. Gundula Hille**, meinem Mann **Dirk Hille** und meinem Bruder **Johannes Hille** möchte ich für ihre Unterstützung und Ermutigung während des Studiums und darüber hinaus danken.