

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. R. Hickel

***IN-VITRO UNTERSUCHUNGEN ZUM EINSATZ VON
CALCIUMPEROXID(CaO₂)-HALTIGEN
SEALERMATERIALIEN IN DER ENDODONTISCHEN
THERAPIE***

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde an der Medizinischen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Malyk Yuriy
aus Kyjiv
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Dr. M. Folwaczny

Mitberichterstatter: Prof Dr. I. Rudzki-Janson

Dekan: Prof. Dr. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 28 Juni 2005

meiner Familie

I EINLEITUNG	6
II LITERATURÜBERSICHT	8
II 1. Das Ziel einer Wurzelkanalfüllung	8
II 2. Maßnahmen zur Verbesserung des Behandlungsergebnisses	8
II 2.1. Aseptische Technik	8
II 2.2. Chemomechanische Säuberung des Kanals	9
II 2.3. Einsatz antimikrobieller Wurzelkanaleinlagen	9
II 2.4. Obturation des Wurzelkanals mit einer kompakten und versiegelnden Wurzelkanalfüllung	10
II 3. Klassifizierung von Wurzelfüllungsmaterialien	11
II 3. 1. Wurzelfüllungsmaterialien auf Zinkoxid-Eugenol-Basis	11
II 3. 2. Wurzelfüllungsmaterialien auf Epoxidharz-Basis	12
II 3. 3. Wurzelfüllungsmaterialien auf Methakrylat-Basis	13
II 3. 4. Wurzelfüllungsmaterialien auf Polyketon-Basis	13
II 3. 5. Wurzelfüllungsmaterialien auf Polydimethylsiloxan-Basis	14
II 3. 6. Wurzelfüllungsmaterialien auf Salicylat-Basis mit Calciumhydroxid ..	14
II 3. 7. Wurzelfüllungsmaterialien mit Medikamentenzusätzen	15
(Para-)Formaldehyd-Zusätze	15
II 3. 8. Kortikosteroid-Zusätze	15
II 3. 9. Wurzelfüllungsmaterialien auf Glasionomer-Zement-Basis	16
II 3. 10. Wurzelkanalfüllstifte	16
II 4. Verwendung Calcium in der Endodontie	17
II 4. 1. 1. Calciumhydroxid $Ca(OH)_2$	17
II 4. 1. 2. Wirkung $Ca(OH)_2$ auf Mikroorganismen	17
II 4. 1. 3. Grenzen der antimikrobiellen Wirkung	18
II 4. 2. Calciumoxid CaO	19
II 4. 3. Calciumperoxyd CaO_2	20
III PROBLEMSTELLUNG	24
IV MATERIAL UND METHODE	26
IV 1. Physikalische Eigenschaften	26
IV 1. 1. Abbindezeit	28
IV 1. 2. Fließverhalten	28
IV 1. 3. Löslichkeit- und Wasseraufnahme	29
IV 1. 4. pH-Wert Messungen	31
IV 1. 5. Dimensionstabilität	31
IV 1. 6. Farbstoffpenetration	32
IV 2. Biologische Eigenschaften	35
IV 2.1. Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten	37
IV 2.2. Agardiffusionstest	39
IV 3. Statistische Auswertung	40

V ERGEBNISSE	41
V 1. Physikalische Eigenschaften	41
V 1. 1. Abbindezeit	41
V 1. 2. Fließverhalten	43
V 1. 3. Wasseraufnahme	44
V 1. 4. Löslichkeit	47
V 1. 5. pH-Wert	49
V 1. 6. Dimensionstabilität	52
V 1. 7. Farbstoffpenetration	54
V 2. Biologische Eigenschaften	56
V 2. 1. Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten	56
V 2. 2. Agardiffusionstest	61
VI DISKUSSION	70
VI 1. Abbindezeit	71
VI 2. Fließverhalten	71
VI 3. Löslichkeit	72
VI 4. pH-Wert	73
VI 5. Dimensionstabilität	74
VI 6. Farbstoffpenetration	75
VI 7. Die antimikrobielle Wirkung	76
VII ZUSAMMENFASSUNG	84
VIII LITERATURVERZEICHNIS	88
IX ANHANG	96
IX 1. Danksagung	96
IX 2. Lebenslauf	97

I EINLEITUNG

In der konservierenden Zahnheilkunde gewinnt die Endodontologie zunehmende Bedeutung. Epidemiologische Beobachtungen belegen, dass nach der absoluten Häufigkeit der ärztlichen Behandlung Patienten mit endodontischen Erkrankungen den zweiten Platz einnehmen. Begleitend zu dieser Entwicklung wachsen die wissenschaftlichen Bemühungen zur Weiterentwicklung und Optimierung der technischen Hilfsmittel und Materialien für die klinische Therapie. Eine zentrale Rolle bei der Sicherstellung des langfristigen Therapieerfolgs spielt die dichte Obturation des gereinigten Wurzelkanalsystems [Weine 1995]. Neben einem soliden Kernmaterial, meistens Guttapercha, kommt dazu immer ein pastöses Sealermaterial zur Anwendung [Gencoglu et al. 2002].

Dem Sealermaterial kommt im Wesentlichen die Aufgabe zu, Spalträume im Kernmaterial und am Übergang zwischen Kernmaterial und Wurzelkanalwand zu verschließen [Huumonen et al. 2002]. Um diese Aufgabe zuverlässig und dauerhaft erfüllen zu können, müssen Sealermaterialien unterschiedliche Anforderungen hinsichtlich der chemischen, physikalischen und biologischen Materialeigenschaften erfüllen [Russ et al. 2000]. Beispielsweise muss ein geeignetes Sealermaterial zur sicheren Abdichtung des Wurzelkanalsystems eine ausreichende Dimensionsstabilität sowie eine gute Gewebeverträglichkeit zeigen [Ørstavik et al. 2001, Camps et al. 2003, Tai et al. 2002].

An Hand der chemischen Zusammensetzung werden die Sealermaterialien in drei Gruppen klassifiziert: (1) Zink-Oxid-Eugenol-haltige Sealer; (2) Calciumhydroxid-haltige Sealer; (3) Epoxyharz-haltige Sealer [Huumonen et al. 2002]. Insgesamt finden Sealermaterialien aus der Gruppe der Calciumhydroxid-haltigen Präparate die häufigste Anwendung, da Sealer aus dieser Gruppe besonders gute Materialeigenschaften, wie zum Beispiel antibakterielle Wirkungen und befriedigende Biokompatibilität zeigen [Gambarini et al. 2003].

Als Alternative zu Calciumhydroxid wurde in der Vergangenheit der Einsatz von Calciumperoxid in endodontischen Sealermaterialien diskutiert [Klinger et al. 1975]. Im Vergleich zu Calciumhydroxid besitzt Calciumperoxid eine deutlich stärkere und länger anhaltende antimikrobielle Potenz.

Im Rahmen der geplanten Untersuchungen sollen die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften eines experimentellen Calciumperoxidhaltigen Sealermaterials geprüft und mit den Eigenschaften von drei verschiedenen konventionellen Materialien (Apexit, Ivoclar Vivadent; AH Plus, Densply DeTrey; Sealapex, Kerr Sealapex) verglichen werden.

II LITERATURÜBERSICHT

II 1. Das Ziel einer Wurzelkanalfüllung

Ziel einer Wurzelkanalfüllung (WF) ist es, das gesamte Wurzelkanalsystem dauerhaft hermetisch und biokompatibel zu verschließen, um die Passage von Flüssigkeit und Mikroorganismen im Wurzelkanal von apikal und von koronal zu verhindern [Wesselink 1995].

Die endodontische Behandlung sollte in all ihren Phasen darauf ausgerichtet sein, dass es zu keinem Bakterienwachstum in den Wurzelkanälen kommt.

II 2. Maßnahmen zur Verbesserung des Behandlungsergebnisses

Über die Jahre hinweg konnten in der Endodontie grundlegende Vorgehensweisen zur Bekämpfung der Bakterien im Wurzelkanal entwickelt werden. Als wesentliche Hilfsmittel sind zu nennen:

- striktes Festhalten an aseptischen Behandlungsprinzipien;
- chemomechanische Säuberung des Kanals;
- Einsatz antimikrobieller Wurzelkanaleinlagen;
- Obturation des Wurzelkanals mit einer kompakten und versiegelnden Wurzelkanalfüllung.

II 2.1. Aseptische Technik

Ein Erfolg in der klinischen Endodontie ist ohne die Einhaltung strikter aseptischer Behandlungsprinzipien nicht möglich. Dies sind folgende:

- das Operationsfeld
- die Handhabung der Instrumente während des Eingriffs
- der Zeitraum zwischen zwei Behandlungssitzungen.

II 2.2. Chemomechanische Säuberung des Kanals

Studien haben gezeigt, dass die alleinige mechanische Instrumentierung des Wurzelkanals nicht alle Bakterien beseitigen kann. Selbst durch den Zusatz von antiseptischen Spülösungen, wie Natriumhypochlorit oder CHX-Lösung wird keine vollständige Bakterienelimination erreicht. Folgt man den Aussagen der erwähnten wissenschaftlichen Arbeiten, so kann auch die chemomechanische Aufbereitung des Wurzelkanals keine komplette Entfernung von Bakterien garantieren, obwohl diese mit Ultraschall oder EDTA-Spülung zur Entfernung der infizierten Schmierschicht von den Wurzelkanalwänden bessere Ergebnisse liefert.

II 2.3. Einsatz antimikrobieller Wurzelkanaleinlagen

Lange Zeit wurde die Applikation antiseptischer Stoffe in aufbereiteten Wurzelkanälen zwischen zwei Behandlungssitzungen als Therapie der Wahl zur sicheren Desinfektion der Wurzelkanäle betrachtet. Eine medikamentöse Einlage mit Calciumhydroxid für mindestens eine Woche scheint eine wertvolle Ergänzung zur Eliminierung zurückgebliebener Bakterien zu sein. Wird dieses Medikament mit steriler Kochsalzlösung zu einer Paste angemischt, bietet es einige Vorteile zur erfolgreichen endodontischen Behandlung infizierter Wurzelkanäle:

- Calciumhydroxid wirkt bakterizid, weil es Hydroxylionen in seine Umgebung abgibt; ihr Radius von antibakterieller Aktivität ist jedoch gering;
- durch die räumliche Auskleidung des Wurzelkanals wird ein bakterielles Wachstum eingeschränkt (flüssige Medikamente können das nicht leisten);
- auch Medikamente füllen den Wurzelkanal aus und verhindern dadurch das Eindringen eines entzündlichen Exsudates von apikal her, welches wiederum eine neue Nahrungsgrundlage für Mikroorganismen wäre.

II 2.4. Obturation des Wurzelkanals mit einer kompakten und versiegelnden Wurzelkanalfüllung

Die Wurzelkanalfüllung sollte hauptsächlich aus einem (halb-)festen Kernmaterial in Form eines (oder mehrerer) Wurzelfüllstifte(s) in Kombination mit einer erhärtenden Wurzelkanalfüllpaste (Sealer) bestehen, wobei letztere die Inkongruenzen zwischen der Form der Wurzelkanalwand und jener des Kernmaterials volumenstabil ausfüllen muss. Dabei sollen ausschließlich Materialien zum Einsatz gelangen, die nach dem Medizinproduktgesetz für solche Indikationen als geeignet ausgewiesen sind. Weichbleibende Wurzelkanalfüllpasten sind zum definitiven Verschluss eines Wurzelkanals ebenso wenig geeignet wie Wurzelkanalfüllungen, die nur aus einer Paste (ohne Stifte) bestehen.

II 3. Klassifizierung von Wurzelfüllungsmaterialien

II 3. 1. Wurzelfüllungsmaterialien auf Zinkoxid-Eugenol-Basis

Derartige Pasten werden als Zweikomponenten-Präparate angeboten, die nach Vermischen von Pulver und Flüssigkeit durch Bildung eines Zinkeugunolates erhärten. Dieses ist in Gewebeflüssigkeit löslich, so dass die Wurzelfüllungsmaterialien ausschließlich in Kombination mit einem (halb-)festen Kernmaterial zur Anwendung kommen dürfen [Wesselink 1995]. Unter diesen Bedingungen weisen sie gute klinische Ergebnisse auf und sind in der Lage, den Wurzelkanal dauerhaft randständig zu verschießen [Ørstavik et al. 1987].

Im periradikulären Gewebe werden Wurzelfüllungsmaterialien auf Zink-Eugenol-Basis teilweise resorbiert und bindegewebig abgekapselt. Bei massiver Überfüllung dieses Materials in das periapikale Gewebe kann es zu einer negativen Beeinflussung des Heilungsverlaufs bis hin zu Nekrosen des Desmodonts oder des Knochens kommen [Doran et al. 1998].

Im direkten Zellkontakt wirkt Eugenol zytotoxisch. In einigen *in-vitro*-Systemen erwies sich Eugenol darüber hinaus als genotoxisch. *In-vitro*-Untersuchungen erlauben keine direkten Rückschlüsse auf die *in-vivo*-Anwendung derartiger Wurzelfüllungsmaterialien; ein Zusammenhang zwischen der Anwendung und karzinogenen, mutagenen und reproduktionstoxischen Effekten wurde bislang nicht nachgewiesen [Schäfer 2000].

Die wichtigsten Vertreter dieses Materialtyps sind:

Tubliseal (Kerr)

Procosol (Roth)

Hermetic (Lege Artis)

Aptal-Harz (Speiko)

II 3. 2. Wurzelfüllungsmaterialien auf Epoxidharz-Basis

Schroeder stellte im Jahre 1954 den ersten Vertreter aus dieser Gruppe der Wurzelfüllungsmaterialien vor, das AH 26 [Schröder 1954]. Diese Wurzelfüllungsmaterialien weisen ein sehr gutes Abdichtungsvermögen und eine gute Volumenbeständigkeit auf [Gettleman et al. 1991]. Im periradikulären Gewebe werden sie teilweise resorbiert bzw. bindegewebig abgekapselt. Bei sachgerechter Anwendung entfalten sie kaum irritierende Wirkungen auf periapikale Gewebe.

An Rattenpulpazellen konnte aufgrund der Formaldehydfreisetzung nach mehrtägiger Applikation des Materials eine geringgradige Hemmung der zellulären DNA-Synthese nachgewiesen werden. Ferner zeigte dieses Wurzelfüllungsmaterial bei Implantationsversuchen initial eine Zytotoxizität, welche nach einigen Wochen deutlich abnahm und kaum noch nachweisbar war [Rappaport et al. 1964].

In Einzelfällen wurden Kontaktallergien gegen Bestandteile dieser Wurzelfüllungsmaterialien auf Epoxid-Basis beschrieben. Weitere systemische Nebenwirkungen sind bislang nicht bekannt.

AH 26 (Dentsply DeTrey)

AH Plus (Dentsply DeTrey)

II 3. 3. Wurzelfüllungsmaterialien auf Methakrylat-Basis

Wurzelfüllungsmaterialien auf Methakrylat-Basis sind hydrophile Gele, welche unter Feuchtigkeitseinfluss polymerisieren und dabei gleichzeitig expandieren. Unter trockenen Bedingungen schrumpfen sie. Wenn sie in feuchtem Milieu erhärten, so kommt es zu einer unkontrollierbaren Expansion und zu einer inhomogenen Abbindung [Tanzilli et al. 1983]. Diese Wurzelfüllungsmaterialien sind teilweise resorbierbar und können im periapikalen Gewebe Entzündungsprozesse verursachen, bis hin zu Resorptionen des periapikalen Knochens. Bestandteile der Wurzelfüllungsmaterialien sind auch bei ausschließlich intrakanalärer Anwendung im periapikalen Gewebe nachweisbar und können dort entzündliche Reaktionen verursachen [Langeland et al. 1981].

Hydron (Hydron Canada)

II 3. 4. Wurzelfüllungsmaterialien auf Polyketon-Basis

Mischungen aus Vinylpolymerisaten härten infolge Komplexbildung aus. Die Irritation des periapikalen Gewebes ist bei direktem Kontakt zu Wurzelfüllungsmaterialien vergleichsweise zu anderen Materialien gering ausgeprägt. Diese Wurzelfüllungsmaterialien zeigen während und nach der Abbindereaktion weder karzinogene noch mutagene Wirkungen [Schweikl et al. 1991].

Diaket (ESPE)

II 3. 5. Wurzelfüllungsmaterialien auf *Polydimethylsiloxan*-Basis

Zu diesen Wurzelfüllungsmaterialien liegen bislang sehr wenige *in-vitro* und *in-vivo*-Studien vor. Erste Berichte zum Abdichtungsverhalten dieser Materialien, welche beim Abbinden geringgradig expandieren, deuten auf eine gute Wandständigkeit unter verschiedenen *in-vitro*-Bedingungen hin [Ebert et al. 1997].

RSA RoekoSeal Automix (Roeko)

II 3. 6. Wurzelfüllungsmaterialien auf *Salicylat*-Basis mit *Calciumhydroxid*

Diese Wurzelfüllungsmaterialien setzen während ihrer Abbindereaktion in Abhängigkeit vom Präparat unterschiedliche Mengen an zytotoxischen, aber keinerlei mutagene Bestandteile frei. Mit experimentellen Testmethoden an Rattenpulpa zellen wurde nach mehrtägiger Liegedauer verschiedener Wurzelfüllungsmaterialien dieser Gruppe keine Hemmung der zellulären DNA-Synthese gefunden [Matsumoto et al. 1989]. In primären (und permanenten) Fibroblastenkulturen konnten bei einem Präparat hingegen deutliche zytotoxische Effekte festgestellt werden. Bei direktem Kontakt zum periapikalen Gewebe rufen diese Materialien nur vergleichsweise geringe entzündliche Reaktionen hervor. Insofern weisen diese Wurzelfüllungsmaterialien auf Salicylat-Basis eine gute bis ausgezeichnete Biokompatibilität auf [Guigand et al. 1999].

Sealapex (Kerr)

CRCS (Hygienic Corp)

Apexit (Vivadent)

II 3. 7. Wurzelfüllungsmaterialien mit Medikamentenzusätzen

(Para-)Formaldehyd-Zusätze

Wurzelfüllungsmaterialien mit einem Zusatz von Paraformaldehyd spalten während und nach der Härtung Formaldehyd ab. Aufgrund von ausgeprägten neurotoxischen Wirkungen des Formaldehyds sind Parästhesien beschrieben worden. Diese sind sowohl bei sachgerechter intrakanalärer Anwendung, als auch bei Überfüllung des Wurzelkanals beobachtet worden. Darüber hinaus wurden bei ausschließlicher intrakanalärer Anwendung derartiger Wurzelfüllungsmaterialien im periapikalen Gewebe chronische entzündliche Reaktionen bis hin zu Nekrosen und Knochenresorptionen nachgewiesen [Tepel et al. 1994].

II 3. 8. Kortikosteroid-Zusätze

Kortikosteroide führen zu einer lokalen Immunsuppression, in dem sie unter anderem die Phagozytose inhibieren. Dies resultiert vielfach – auch bei Anwendung von Desinfektionsmitteln oder Antibiotika – in einer unkontrollierten lokalen Vermehrung von Mikroorganismen mit Verschlechterung der bereits im periapikalen Gewebe stattgefundenen Entzündung.

Die Anwendung von kortikoidhaltigen- und paraformaldehydhaltigen-Wurzelfüllungsmaterialien kann heute nicht mehr als adäquate Therapie angesehen werden [Thoden van Velzen 1988].

Endomethasone (Septodont)

N-2 Normal (Hager & Werken)

II 3. 9. Wurzelfüllungsmaterialien auf Glasionomer-Zement-Basis

Als neueste Entwicklung steht ein Glasionomerzement mit verlängerter Abbindezeit als Sealer zur Verfügung. Bei diesen werden feine Teilchen von Calcium-Aluminium-Fluoro-Silikatglas mit einer wässrigen Polycarbonsäure-Lösung vermischt. Diese Wurzelfüllungsmaterialien gelten als gewebeverträglich, weil sie im periapikalen Gewebe nicht resorbiert werden [Wrbas et al. 1998].

Ketac-Endo (3M - ESPE)

Endion (Voco)

II 3. 10. Wurzelkanalfüllstifte

WF-Stifte dienen zur Kondensation von Wurzelfüllungsmaterialien und bestehen entweder aus Guttapercha, Metall oder Kunststoff.

Erwärmte Guttapercha weist eine Kontraktion während der Abkühlung auf. Im Gegensatz zu Wurzelfüllungsmaterialien sind Wurzelkanalfüllstifte biologisch inert.

Ein ideales Füllmaterial für Wurzelkanäle soll folgende Anforderungen erfüllen:

- biokompatibel
- undurchlässig für Flüssigkeit
- unlöslich in Gewebeflüssigkeiten
- nicht förderlich für Bakterienwachstum
- dichter Verschluss des gesamten Kanalsystems
- dimensionsstabil
- gute Haftung an der Zahnhartsubstanz
- keine Verfärbung der Zahnhartsubstanz
- radioopak
- ausreichende Verarbeitungszeit
- falls notwendig, wieder entfernbare

II 4. Verwendung von Calcium in der Endodontie

II 4. 1. 1. *Calciumhydroxid Ca(OH)₂*

Calciumhydroxid wurde von Bernhard W. Hermann, einem deutschen Zahnarzt, 1920 in die Zahnheilkunde eingeführt [Hermann 1920]. Durch Brennen von natürlichem Kalkstein (CaCO_3) entsteht Branntkalk (CaO). Durch Kontakt von CaO mit Wasser entsteht gelöschter Kalk Ca(OH)_2 , auch als Kalkhydrat bezeichnet. Im wässrigen Milieu kommt es zu Dissoziation von Ca(OH)_2 in Calcium- und Hydroxidionen. Ca(OH)_2 ist eine stark alkalische Substanz mit einem pH-Wert von etwa 12,5 und in Wasser relativ gering löslich (bei 18°C lösen sich nur 0,128 g Ca(OH)_2 in 100 g Wasser).

Calciumhydroxid werden verschiedene biologische Eigenschaften zugesprochen, wie eine antimikrobielle Aktivität, eine gewebeauflösende Wirkung, Hemmung der Wurzelresorption und Induktion reparatorischer Leistungen durch Hartgewebebildung [Byström et al. 1985, Andersen et al. 1992, Schröder 1985]. Aufgrund dieser Wirkungsbreite wurde die Anwendung von Calciumhydroxid für unterschiedliche klinische Situationen empfohlen [Heithersay et al. 1975]. Gegenwärtig gilt Calciumhydroxid als eine der wichtigsten antimikrobiellen Einlagen während endodontischer Behandlungen.

II 4. 1. 2. *Wirkung Ca(OH)₂ auf Mikroorganismen*

Die antimikrobielle Wirkung des Calciumhydroxid beruht auf der Freisetzung von Hydroxylionen in wässriger Umgebung. Hydroxylionen sind stark oxidierend wirkende freie Radikale, die mit zahlreichen organischen Stoffen reagieren [Freeman et al. 1982]. Diese Reaktion ist sehr unspezifisch und intensiv, sodass diese freien Radikale nur selten vom Applikationsort wegdiffundieren können, da sie bereits vorher sehr schnell gebunden werden. Die letalen Effekte auf Zellen von Mikroorganismen beruhen auf drei grundlegenden Mechanismen:

- Zerstörung der Zellmembran;

- Denaturierung struktureller Proteine und Enzyme;
- Schädigung der DNA.

II 4. 1. 3. Grenzen der antimikrobiellen Wirkung

Obwohl Hydroxylionen eine antimikrobielle Wirkung aufweisen, sind sehr hohe Konzentrationen notwendig, um Mikroorganismen effektiv zerstören zu können. Die Wirkung hängt demnach von der Verfügbarkeit der Hydroxylionen in der Lösung ab, die dort am höchsten ist, wo das Präparat appliziert wird. Calciumhydroxidpräparate wirken im Wurzelkanal nur so lange effektiv, wie ein relativ hoher pH-Wert aufrechterhalten werden kann. Wenn das Calciumhydroxid in das Gewebe diffundiert und die Hydroxylionenkonzentration aufgrund der Wirkung von Puffersystemen (Bikarbonate und Phosphate), Säuren, Proteinen und Karbondioxiden sinkt, wird seine antibakterielle Wirkung reduziert oder gar aufgehoben [Siqueira 1999].

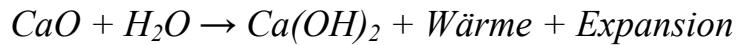
Dentintubuli, in denen sich Mikroorganismen aufhalten, stellen ein bedeutendes Reservoir dar, von dem eine Infektion oder Reinfektion während und nach der endodontischen Behandlung ausgehen kann [Ogunteb et al. 1994]. Diese verbleibenden Mikroorganismen können unter Umständen die Ursache für eine persistierende Infektion sein, die schließlich den Therapieerfolg gefährdet. Mikroorganismen in den Dentintubuli sind vor den Wirkungen der Zellen und Moleküle der Wirtsabwehr und denen der chemomechanischen Maßnahmen geschützt. Es werden daher Therapiestrategien benötigt, die die Eliminierung der intertubulären Infektion zum Ziel haben. Dies schließt die Anwendung von Medikamenten ein, die in die Dentinkanälchen penetrieren und dort Mikroorganismen abtöten können.

Im mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass Calciumhydroxid nicht in der Lage ist, Bakterien innerhalb der Dentintubuli zu eliminieren. Haapasalo und Ørstavik beschrieben, dass eine Calciumhydroxidpasta *Enterococcus faecalis* nicht einmal oberflächlich aus den Dentintubuli eliminieren konnte [Haapasalo

et al. 1987]. Es kann bis zu zehn Tage dauern bis Calciumhydroxid mit Bakterien besiedelte Tubuli desinfizieren kann. Heling stellte fest, dass Calciumhydroxid gegen *Enterococcus faecalis* innerhalb der Dentintubuli keinerlei antibakterielle Wirkung zeigte und eine Sterilisation des Dentins sowie die Prävention einer sekundären Infektion nicht erreicht werden konnte [Heling et al. 1992]. Safavi wies nach, dass *Enterococcus faecium* auch nach relativ langen Perioden einer Behandlung mit Calciumhydroxid in einer Kochsalzlösung in den Tubuli überlebte [Safavi et al. 1990].

II 4. 2. Calciumoxid *CaO*

Calciumoxid, gebrannter Kalk, wurde von Bernand zur Verwendung in der Endodontie vorgeschlagen [Bernand 1952]. Folgende Idee liegt der Bernardschen Wurzelbehandlungsmethode zugrunde: Calciumoxid wird bei Anwesenheit von Wasser nach folgender Formel in Calciumhydroxid umgewandelt:

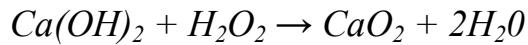


Wie man der Formel entnehmen kann, besitzt das CaO-H₂O-Gemisch die Fähigkeit, zu expandieren. Nach Aussagen von Bernand bestehen 85% des Kanalinhaltes aus Wasser, das in die Reaktion miteinbezogen wird. Dadurch erhält man eine expandierende Wurzelfüllung, welche auch diejenigen Orte im Wurzelkanal erfassen kann, die für eine mechanische Aufbereitung unerreichbar bleiben. Die restlichen 15% bestehen aus organischen Materialen, die durch die Hydroxylionen des Calciumhydroxids aufgelöst werden.

II 4. 3. Calciumperoxide CaO_2

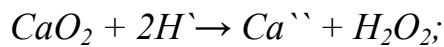
Peroxide enthalten das Ion O_2^{2-} ($|O-O|$) mit einer O—O-Einfachbindung, das wegen seiner geringen Bindungsenergie reaktiv ist und oxydierend wirkt ($O_2^{2-} + 2O \rightarrow 2O_2^{2-}$).

Auf nassem Wege lassen sich die Calciumperoxide durch Einwirkung von Wasserstoffperoxid auf die Calciumhydroxide erhalten:

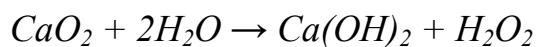


Diese Bildung entspricht vollkommen der Neutralisation einer Base durch eine (zweibasige) Säure. Sie bestätigt somit die entwickelte Auffassung der Peroxide als Salze des Wasserstoffperoxids [Remy 1960].

Wie die Alkalimetalle bilden auch die Erdalkalimetalle sowohl weiße Peroxide vom Typus $M^{11}O_2$ als auch gelbe Hyperoxide $M^{11}O_4$. Erstere liefern bei Behandlung mit Säuren Wasserstoffperoxid, letztere zusätzlich molekularen Sauerstoff:



In Wasser sind Calciumperoxide schwerlöslich, in Alkohol und Äther dagegen unlöslich. Die wässrigen Lösungen reagieren infolge Hydrolyse basisch:



Peroxide werden zur endodontischen Therapie, insbesondere zur Reinigung und Desinfektion des Wurzelkanals und zur Behandlung von periapikalen Entzündungen bei radikulären Zysten seit etwa 70 Jahren verwendet. Das Wasserstoffperoxid und seine Zubereitungen erwiesen sich bei klinischen und bakteriologischen Untersuchungen hinsichtlich mechanischer und chemischer Desinfektion des Wurzelkanals und Heilung der periapikalen Entzündungen als sehr gut [Pecchioni 1982].

Für die Anwendung von Peroxiden im Wurzelkanal in pastenförmiger Zubereitung gibt es in der Literatur nur wenige Hinweise. Matsumiya stellt den Einfluss des Magnesiumperoxids als Kanalfüllmaterial auf periapikales Gewebe

im Tierversuch dar. Lange verwendet das Calciumperoxid, das mit dem *Oleum pedum tauri* pastenförmig angemischt wird, zur Füllung von Wurzelkanälen, die mit einer Wasserstoffperoxidlösung behandelt worden sind [Matsumiya 1955]. Die Ergebnisse der klinischen, röntgenologischen und histologischen Untersuchungen lassen die Heilung der periapikalen Entzündungen und die Tendenz zur Bildung von Hartgewebe im Bereich des *Foramen apicale* deutlich erkennen [Lange 1961].

In der Arbeit von Lange wurde über die bakteriologische Prüfung der desinfizierenden Wirkung des Calciumperoxids mit dem Reihenverdünnungstest, dem Suspensionstest und dem Keimträgerversuch im Vergleich mit Wasserstoffperoxid und Phenol berichtet [Lange 1961]. Folgende Bakterienspezies dienten als Testkeime: *Staphylococcus aureus* (2 Stämme: SG 511 und 3420), *Enterococcus* (2 Stämme: 3420 und 3467), *Escherichia coli* (2 Stämme: a und K12), *Pseudomonas aeruginosa* (2 Stämme: a und 4085), *Proteus vulgaris* (5202), *Proteus mirabilis* (2994).

Die Ergebnisse der bakteriostatischen Wirkung mit CaO_2 im Verdünnungstest haben gezeigt, dass CaO_2 in einer Konzentration von 0,075% einen bakteriostatischen Effekt auf alle Bakterium besitzt, während *Pseudomonas aeruginosa* erst durch CaO_2 in einer Konzentration von 0,15% bakteriostatisch beeinflusst wird.

Die Ergebnisse der bakteriziden Wirkung mit CaO_2 in Konzentrationen von 0,6% und 6% haben gezeigt, dass sich 0,6% nach einer Einwirkungszeit von 60 Minuten auf keinen der untersuchten Stämme als bakterizid erwies. Nach 120 Minuten wurden bis auf die *Enterokokken* alle Bakterienstämme getötet. *Enterokokken* wurden erst durch eine achtstündige Einwirkungszeit von 0,6% CaO_2 erfasst.

CaO_2 in einer Konzentration von 6% wirkte bereits nach einer Einwirkungszeit von 2,5 Minuten keimtötend auf die beiden Proteusstämme. Nach 15 Minuten waren beide *Escherichia coli*-Stämme und der erste *Pseudomonas-aeruginosa*-

Stamm, nach 30 Minuten der zweite *Pseudomonas-aeruginosa*-Stamm bakterizid beeinflusst. *Staphylococcus aureus* wurde nach 60 Minuten abgetötet, während die *Enterokokken* nach 120 Minuten nicht mehr überlebten.

Die Ergebnisse der Keimträgerversuche mit menschlichen Zähnen zeigten, dass bei allen Zähnen, die mit CaO₂-Paste abgefüllt wurden, eine Abtötung der Testkeime im Wurzelkanal nach 7 Tagen erfolgte.

Die Biokompatibilität von Wurzelkanalfüllmaterialien sollte neben den physikalischen und chemischen Eigenschaften ein entscheidendes Kriterium für deren praktischen Einsatz sein.

Nach Aussage von Pierlot ist Calciumperoxid ein Generator der organischen Synthese. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Regeneration von Knochensubstanz [Pierlot et al. 2002].

Der Erfolg einer guten Wurzelkanalbehandlung erfordert einen endodontischen Sealer mit folgenden Eigenschaften: Dichte, Biokompatibilität und antibiotische Fähigkeit. Dies führt zu einer Beseitigung der Mikroorganismen innerhalb des Kanals und gleichzeitig zu einer kompletten und wirkungsvollen Obturation des Wurzelkanalsystems.

Nach chemo-mechanischer Vorbereitung des Wurzelkanalsystems können dennoch Bakterien im Kanal verbleiben und sich während der Behandlungsdauer vermehren.

Neben der gründlichen chemo-mechanischen Präparation kommt der vollständigen und dichten Obturation des Wurzelkanals die entscheidende Bedeutung bei der Sicherstellung des langfristigen Therapieerfolgs zu. Neben einem soliden Kernmaterial muss zur dichten Obturation des endodontischen Systems zusätzlich auch ein flüssiges Sealermaterial appliziert werden, um Spalträume aufzufüllen. Als Sealermaterialien wird auf Grund ihrer hohen antimikrobiellen Potenz häufig calciumhydroxidhaltigen Präparaten der Vorzug gegeben. Für Calciumperoxid (CaO₂) wurde in früheren Arbeiten eine noch ausgeprägtere antibakterielle Wirkung postuliert. Nicht zuletzt im Hinblick auf

eine persistierende bzw. rezidivierende bakterielle Infektion des Wurzelkanals als Ursache für therapeutische Misserfolge, erscheinen calciumperoxidhaltige Sealermaterialien deshalb als interessante Alternative zu konventionellen Präparaten. Im Rahmen der nachfolgend näher beschriebenen Studien sollen die chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften eines experimentellen, calciumperoxidhaltigen Sealers näher untersucht werden.

III PROBLEMSTELLUNG

Im Verlauf der Jahre hat sich die Endodontie zu einer zahnmedizinischen Wissenschaft entwickelt, nachdem sie lange Zeit eine zahnärztliche Disziplin war, die sich in erster Linie auf klinische Untersuchungen und Erfahrung stützte. Die in den letzten Jahrzehnten errungen Forschungsergebnisse in diesem Bereich der Zahnmedizin waren substantieller Art und resultierten in einem besseren Verständnis von pathologischen Veränderungen in der Zahnpulpa und deren Behandlung. Die entscheidende Rolle der Bakterien in der Ätiologie pulpaler und periapikaler Erkrankungen wurde durch Forschungsergebnisse herausgestellt, die in den letzten 15 bis 20 Jahren erarbeitet wurden [Sundqvist 1995]. Darüber hinaus standen endodontische Techniken, Behandlungsstrategien und natürliche Materialien im Mittelpunkt bedeutender Untersuchungen.

Als wesentliche Hilfsmittel in der Endodontie zur Bekämpfung der Bakterien im Wurzelkanal werden Sealer mit folgenden Eigenschaften entwickelt:

- Einsatz antimikrobieller Wurzelkanaleinlagen;
- Obturation des Wurzelkanals mit einer kompakten und versiegelnden Wurzelkanalfüllung.

Als Sealermaterialien wird auf Grund ihrer hohen antimikrobiellen Potenz häufig calciumhydroxidhaltigen Präparaten der Vorzug gegeben. Für Calciumperoxid (CaO_2) wurde in früheren Arbeiten eine noch ausgeprägtere antibakterielle Wirkung postuliert. Nicht zuletzt im Hinblick auf eine persistierende bzw. rezidivierende bakterielle Infektion des Wurzelkanals als Ursache für therapeutische Misserfolge, erscheinen calciumperoxidhaltige Sealermaterialien deshalb als interessante Alternative zu konventionellen Präparaten.

In der vorliegenden *in-vitro* Studie sollen Untersuchungen zum Einsatz von calciumperoxidhaltigen Sealern in der endodontischen Therapie getestet werden.

Untersucht wurden im Einzelnen die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften eines experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealermaterials und die von drei verschiedenen konventionellen Materialien (Apexit, Ivoclar Vivadent; AH Plus, Dentsply DeTrey; Sealapex, Kerr Sealapex).

IV MATERIAL UND METHODE

IV 1. Physikalische Eigenschaften

In dieser *in-vitro*-Studie wurden die physikalischen Eigenschaften (Abbindezeit, Fließverhalten, Löslichkeit, Wasseraufnahme, pH-Wert, Dimensionsstabilität, Dichtigkeit) von drei gebräuchlichen Wurzelkanalsealern und einem experimentellen endodontischen Sealer untersucht: Sealapex (Calciumoxid (CaO)-Basis Sealer); AH-Plus (Kunstharzbasis Sealer); Apexit (Calciumhydroxid (Ca(OH)₂)-Basis Sealer); Calciumperoxid (CaO₂)-haltigen Sealer.

Der calciumperoxidhaltige Sealer wurde in einem Pulver-Flüssigkeits-Verhältnis (3:1) gemischt. Andere Wurzelkanalfüllmaterialien wurden entsprechend den Anweisungen des Herstellers gemischt.

Material:

Wurzelkanalfüllmaterialien (Tabelle 1):

1. Gruppe A: Sealapex, SDS Kerr;
2. Gruppe B: AH Plus™, Dentsply DeTrey GmbH;
3. Gruppe C: Apexit ® Refill, Ivoclar Vivadent;
4. Gruppe D: Calciumperoxid (CaO₂)-haltiges Wurzelkanalfüllmaterial.

Tabelle 1. Basiszusammensetzung der untersuchten Wurzelkanalfüllmaterialien (entsprechend Østravik et al. 2001).

Material	Art	Hersteller	Basiszusammensetzung
Sealapex	Calcium-oxid	Kerr, USA	24,0% CaO, 20,0% BaSO ₄ , 7,0% ZnO, 18,2% Salycilat resins, Ethyltoluen Sulphonamid
AH-Plus	Epoxid-harz	Dentsply De Trey, Deutschland	Bisphenol-A-diglycidether, Calciumtungstate, Eisenoxid, ZrO ₂ , Adamantanamine, Diamine, Siliconöl
Apexit	Calcium-hydroxid	Vivadent, Liechtenstein	15,9% Ca(OH) ₂ , 15,8% Hydrogenierte Colophony, 0,4% Siliciumdioxid, 18,2% Salycilat, 18,2% Bi Salts
Experimental Sealer	Calcium-peroxid	-	53% CaO ₂ , 35% ZnO ₂ , BaSO ₄ , Triethanolamin

IV 1. 1. Abbindezeit

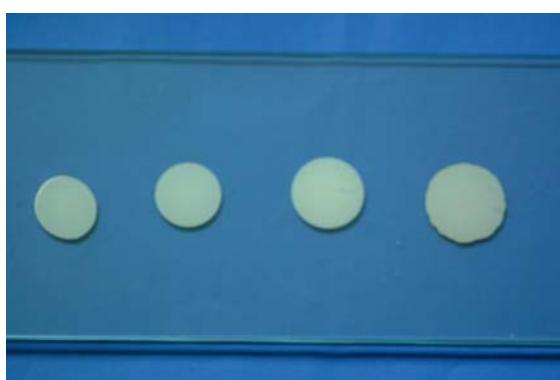
Material:

- zwei Glasplatten (800×200 mm, Breite 4 mm, Gewicht 2500 Gramm);
- 1-ml Spritze (BD Discardinit™ II);
- Lineal;
- Stoppuhr.

Um die Abbindezeit des experimentellen (CaO₂)-Sealers mit anderen gebräuchlichen Wurzelkanalsealern festzustellen und zu vergleichen, wurden Sealapex, AH Plus und Apexit nach Herstellerangaben gemischt. Die Abbindezeit der Testmaterialien wurde entsprechend der Methode ausgewertet, die durch die *International Organisation of Standardisation (ISO 6876)* für zahnmedizinische Wurzelkanalfüllmaterialien empfohlen wurde (Abb. IV 1).

Vor Beginn des Versuchs wurden die Sealer und Materialien für das Mischen 1 Stunde bei einer Raumtemperatur von 23°C vorgewärmt. Die gemischten Sealer wurden in eine 1-ml Spritze gefüllt. Drei Minuten später wurden jeweils 0,5ml eines Wurzelkanalsealers zwischen zwei Glasplatten gepresst. Durch diesen Prozess entstanden Scheiben, deren Durchmesser nach 10 Minuten bestimmt wurde. Dieses Verfahren wurde 10-mal für jedes Material wiederholt. Die Abbindezeit wurde von Anfang des Mischens bis zu einem definierten Zeitpunkt gemessen, an dem der Durchmesser der Scheibe um 10% vom Ausgangswert verringert war.

Abb. IV 1. Abbindezeitstest



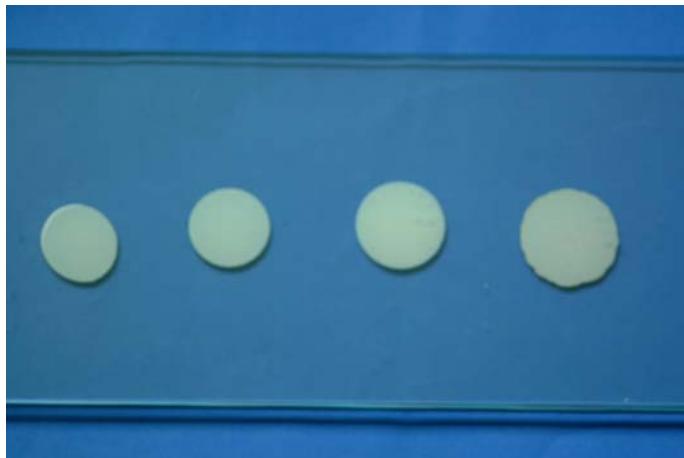
IV 1. 2. Fließverhalten

Material:

- zwei Glasplatten (800×200 mm, Breite 4 mm, Gewicht 2500 Gramm);
- 1-ml Spritze (BD Discardinit™ II);
- Lineal.

Das Fließverhalten wurde nach Vorgaben der *International Organisation of Standardisation (ISO 6876)* für zahnmedizinische Wurzelkanalfüllmaterialien gemessen (Abb. IV 2). Hierfür wurden 1-ml Spritzen mit Wurzelkanalmaterial gefüllt und 0,5 ml des Materials zwischen zwei Glasplatten gepresst. Nach 10 Minuten wurden die minimalen und maximalen Durchmesser der Scheiben in Millimeter gemessen. Veränderungen der Scheibendurchmesser gaben Hinweise für Änderungen der Viskosität eines Sealers [Ono et al. 1998]. 10 Proben wurden für jedes Wurzelkanalmaterial vorbereitet, der Flussabstand jeder Probe wurde gemessen und ein Mittelwert errechnet.

Abb. IV 2. Testung des Fließverhaltens



IV 1. 3. Löslichkeit und Wasseraufnahme

Material:

- *zwei Glasplatten (800 × 200 mm, Breite 4 mm, Gewicht 2500 Gramm);*
- *1-ml Spritze (BD Discardinit™ II);*
- *10 zylinderförmige Prüfkörper (Innendurchmesser 8 mm, Höhe 4 mm);*
- *elektronische Waage (Sartorius-Forschung);*
- *saugfähiges Papier;*
- *Thermostat (Memmert, Deutschland).*

Die Löslichkeit und Wasseraufnahme wurden über eine Zeitdauer von 8 Wochen bestimmt. 10 zylinderförmige Prüfkörper wurden vorbereitet und auf einer elektronischen Waage gewogen. 10 Scheiben jedes Materials wurden hergestellt und in die Prüfkörper gebracht. Danach wurde ihr Gesamtgewicht bestimmt. Die Materialien wurden dann für 48 Stunden in einem Thermostat bei 37°C und einer Feuchtigkeit von 100% gelagert.

Nach 2 Tagen wurden die Materialien noch mal gewogen und in destilliertem Wasser für weitere 2 Tage bei 37°C inkubiert. Dann wurden die Proben auf saugfähigem Papier getrocknet, erneut gewogen und wieder in destilliertes Wasser gelegt. Das Testverfahren wurde am dritten, siebten, vierzehnten und dreißigsten Tag während der Inkubation wiederholt. Um statistische Unterschiede zwischen den Gewichten der Testmaterialien an unterschiedlichen Zeitpunkten zu ermitteln, wurde die Varianzanalyse zur Auswertung verwendet.

IV 1. 4. pH-Wert Messungen

Material:

- 45 Plastikformen;
- Pufferlösung mit einem pH-Wert von 6,86 (WTW);
- digitales pH Meter (WTW pH Meter 526);
- Thermostat (Memmert, Deutschland).

Die Sealer wurden entsprechend den Herstellerangaben gemischt und 10 Proben jedes Materials wurden in Plastikformen gebracht. Jede Probe wurde in 0,5 ml Pufferlösung mit einem pH-Wert von 6,86 bei einer Luftfeuchtigkeit von 100% und einer Temperatur von 37°C gelegt [Tsui-Hsien Huang et al. 1998]. Als Kontrollgruppe diente die Pufferlösung. Während dieser Inkubation wurde der pH-Wert auf der Sealeroberfläche mit einem digitalen Messgerät nach unterschiedlichen Zeitabständen bestimmt: sofort nach der Mischung, nach 1 und 24 Stunden, nach 3 und 7 Tagen, nach 2, 3 und 4 Wochen, sowie nach 2, 3, 4, 5 und 6 Monaten (Abb. IV 3). Der Mittelwert und die Standardabweichung des pH-Wertes wurden separat für jedes Material errechnet.

Abb. IV 3. Digitales pH Meter (WTW pH Meter 526)



IV 1. 5. Dimensionstabilität***Material:***

- 40 Glasringe (Innendurchmesser 8 mm; Höhe 2 mm);
- Noniusschieber;
- Thermostat (Memmert).

Der Zweck dieser Studie war, die Dimensionsstabilität und die Expansion der Sealer zu bestimmen. Die Expansion wurde untersucht, indem eine Reihe von Probescheiben in Glasringe passender Größe eingefüllt wurde. In den Behältern wurden diese Probestücke bei 37°C und bei 100%-iger Feuchtigkeit abgehärtet (Abb. IV 4). Die Expansion wurde quantifiziert, indem man die Höhe der Scheiben in den Probestücken mit einem Noniusschieber maß. Die Volumenänderungen wurden über einen Zeitraum von 30 Tagen kontinuierlich gemessen.

Abb. IV 4. Dimensionstabilitätstest



IV 1. 6. Farbstoffpenetrationstest

Material:

- menschliche Zähne (einwurzelig = 80);
- 10% Formalinlösung;
- Kerr- und Hedström-Feilen, ISO 10-60, 25 mm (Dentsply-Maillefer);
- 1% NaOCl Lösung (Apotheke der Universität-Großhadern);
- Papierspitzen (Guttapercha-Spitzen, Roeko);
- Guttaperchastifte (Guttapercha-Spitzen, Roeko);
- Fingerspreader (Dentsply-Maillefer);
- Cavit (3M-ESPE);
- Isotone Kochsalzlösung 0,9% (B Braun);
- Thermostat (Memmert);
- Nagellack;
- 2% Methylenblaulösung;
- Stereomikroskop (Zeiss Stemi SV 12);
- Lineal.

Vorbereitungen der Proben

Vor Beginn des Versuchs wurden 80 extrahierte, nicht-kariöse menschliche Zähne in 10%-iger Formalinlösung aufbewahrt. Zahnstein und weiche Gewebeanteile wurden von der Wurzeloberfläche entfernt. Die Kronen wurden an der Schmelz-Zement-Grenze mit einem wassergekühlten Diamantenbohrer bei hoher Drehgeschwindigkeit abgetrennt.

Endodontische Verfahren

Die Wurzelkanäle wurden manuell gesäubert und mit Kerr- und Hedström-Feilen nach der *Step-back*-Methode mit einer 1,0 mm Stufeninkrement manuell aufbereitet. Um am Apex standardisierte Bedingungen zu schaffen, wurde das *Foramen apikale* mit einem Instrument der ISO-Größe 15 so erweitert, das

dieses 2 mm über den Apex hinausragte. Mit diesen Verfahren wurde gleichzeitig die Durchgängigkeit des *Foramens* kontrolliert. Die Aufbereitung der Wurzelkanäle erfolgte manuell bis 1-2 mm vor den anatomischen Apex (Aufbereitung bis N 60). Nach jeder Instrumentengröße wurden die Kanäle mit 1% NaOCl gespült. Die Kanalwände wurden mit einer Papierspitze getrocknet. Insgesamt wurden 80 Zähne auf 4 Gruppen mit je 20 Zähnen verteilt und randomisiert.

Alle Sealer wurden entsprechend den Herstelleranweisungen zu einer sahnigen Konsistenz gemischt. Mit einer K-Feile (ISO 35) wurde das Wurzelkanalfüllmaterial 1-2 mm bis vor die Arbeitslänge eingebracht und durch laterale Kondensation mit Guttaperchastiften gefüllt. Der koronale Zugang des Wurzelkanals mit einem temporären Material (*Cavit*) gefüllt wurde. Die Wurzeln wurden dann in 0,9%-ige Kochsalzlösung bei 37°C für 24 Stunden inkubiert. Diese Methode entspricht *in vivo*-Bedingungen und ermöglicht das Aushärten der Sealer.

Farbstoffpenetrationstest und Ermittlung von Mikropenetrationstiefen

Die Zahnwurzeln wurden mit zwei Schichten Nagellack bedeckt und getrocknet. Ein Bereich von 1 bis 2 mm um das *Foramen apicale* wurde freigelassen. Alle Proben wurden in eine 2%-ige Methylenblaulösung bei 100% Feuchtigkeit und 37°C für 30 Tage gelagert. Danach wurden die Zähne mit Wasser gewaschen und longitudinal in *bucco-lingualer* Richtung in der Mitte der Wurzel geteilt. Die Penetration von Methylenblau in den Wurzelkanal wurde mit einem reflektierten hellen Stereomikroskop mit 50-facher Vergrößerung überprüft. Die Tiefe der Farbstoffpenetration wurde durch den Abstand vom *Foramen apicale* des Wurzelkanals bis zur maximalen Farbstoffpenetration in koronare Richtung gemessen.

IV 2. Biologischen Eigenschaften

Die antimikrobielle Wirkung des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers und der experimentellen calciumperoxidhaltigen Mischung wurde auf das Wachstum von *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguinis*, *Staphylococcus lentus* und *Candida albicans* in einer *in-vitro*-Studie mit dem Agardiffusionstest und dem Keimträgerversuch an menschlichen Zahnpräparaten getestet. Diese Studie wurde mit drei gebräuchlichen Wurzelkanalsealern und drei unterschiedlichen wasserhaltigen Calciummischungen durchgeführt.

Untersuchte Medikamente:

1. Sealapex, SDS Kerr, Calciumoxid (CaO)-haltiger Sealer;
2. AH Plus™, Dentsply DeTrey GmbH, Epoxyresin-haltiger Sealer;
3. Apexit® Refill, Ivoclar Vivadent, Calciumhydroxid (Ca(OH)_2)-haltiger Sealer;
4. experimenteller Calciumperoxyd (CaO_2)-haltiger Sealer;
5. Calciumhydroxid (Ca(OH)_2), Merck KGaA;
6. Calciumoxid (CaO), Aldrich Chemical Company;
7. Calciumperoxid (CaO_2), Aldrich Chemical Company.

Der calciumperoxidhaltige Sealer wurde in einem Pulver-Flüssigkeits-Verhältnis 3:1 gemischt. Die kommerziellen Wurzelkanalfüllmaterialien wurden entsprechend den Anweisungen des Herstellers gemischt. Die Calcium-Basis-Mischungen wurden mit destilliertem Wasser zu einer Zahnpastenkonsistenz vorbereitet.

Mikroorganismen

Diese Studie verwendete eine Kultur von vier aeroben Bakterienspezies und einer Pilzspezies der American Type Culture Collection (*ATCC*).

1. *Escherichia coli* (*ATCC 11303*);
2. *Enteroccus faecalis* (*ATCC 49478*);
3. *Streptococcus sanguinis* (*ATCC 10556*);
4. *Staphylococcus lentus* (*ATCC 49574*);
5. *Candida albicans* (*ATCC 11006*)

Vor Beginn der Experimente wurden die bei -20°C gelagerten Bakterien und *Candida albicans* für 4 Tage bei 37°C unter aeroben Bedingungen in *Brain-Heart Infusion Nährboullion* aufgetaut. Alle 24 Stunden wurde die Infusionslösung erneuert. Die Mikroorganismen wurden in fünf Gruppen eingeteilt:

Gruppe A: Escherichia coli;

Gruppe B: Candida albicans;

Gruppe C: Enterococcus faecalis;

Gruppe D: Staphylococcus lentus;

Gruppe E: Streptococcus sanguinis.

IV 2.1. Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten

Material:

- menschliche Zähne (einwurzelig = 450);
- Kerr- und Hedström-Feilen, ISO 10-60, 25 mm (Dentsply, Maillefer);
- 1% Natriumhypochlorit-Lösung (Apotheke der Universität-Großhadern);
- 9% EDTA Lösung (Apotheke der Universität-Großhadern);
- Sterilisator (Kavo);
- Isotone Kochsalzlösung 0,9% (B Braun);
- Papierspitze (Roeko, Langenau);
- Lentulo (Dentsply, Maillefer);
- Cavit (3M-ESPE);
- Brain-Heart Infusion Broth (Becton Dickinson & Company);
- 12 ml sterile, konische Röhrchen;
- Kuvette (Sarstedt);
- Spektrofotometer (Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech).

Insgesamt wurden 450 extrahierte, intakte frontale Zähne für die Experimente gesammelt. Bis zum Durchführen des Experiments wurden die Zähne in steriler Kochsalzlösung gelagert. Die Wurzelkanäle wurden an der Schmelz-Zement-Grenze mit einem Diamantbohrer bei gleichzeitiger Wasserkühlung von ihrer Krone abgetrennt, sodass für die Experimente ein 8 mm langer Wurzelkanal zur Verfügung stand. Alle Wurzelkanäle wurden bis 1 mm vor das *Foramen apicale* manuell präpariert. Danach wurden sie mit der K-flex und H-flex Feile nach der *Step-back* Technik (Aufbereitung bis ISO 50) gesäubert und geformt. Nach jeder Instrumentengröße wurden die Kanäle mit 1%-iger Natriumhypochlorit-Lösung gespült. Alle Wurzelkanäle wurden nach oben genannten Standardgrößen vorbereitet und 1 Minute in eine 9%-ige EDTA-Lösung zur Entfernung des *smear layer* gelegt. Danach wurden die Wurzelkanäle 1 Stunde unter laufendem Wasser gesäubert. Dieses Verfahren wurde durchgeführt, um die EDTA-Lösung aus den Wurzelkanälen herauszuwaschen. Es folgte eine 30-minütige

Sterilisation im Wasserbad bei 121°C. Die 450 Zähne wurden dann in fünf Gruppen (A, B, C, D und E) mit jeweils 90 Zahnproben aufgeteilt.

10 sterile Wurzelkanäle wurden in Röhrchen mit 10 ml bakterienhaltigen Mediums gebracht und für 7 Tage bei 37°C inkubiert. Das Medium wurde alle 3 Tage ausgewechselt.

Nach siebentägiger Inkubationsperiode wurden die Wurzelkanäle in die Röhrchen mit 50 ml 0,9%-iger steriler Kochsalzlösung gelegt, um von den anhaftenden Bakterien gereinigt zu werden. Danach wurden die Wurzelkanäle jeweils dreimal für 1 Minute mit 0,9%-iger Kochsalzlösung durchgespült, um das Medium aus den Wurzelkanälen zu entfernen. Die Wurzelkanäle wurden mit sterilen Papierspitzen getrocknet und mit Hilfe einer *Lentulo* Spirale mit den experimentellen Mischungen gefüllt. Zuletzt wurden die Wurzelkanalzugänge mit einem temporären Füllmaterial (*Cavit*) verschlossen. Die Zähne wurden dann unter 100%-iger Feuchtigkeit bei 37,5°C für 24 Stunden inkubiert.

Nach Inkubation wurde das *Cavit* beseitigt und die Mischungen wurden aus den Wurzelkanälen mit einer sterilen Nickel-Titan-Feile (ISO 45) entfernt.

Sterile H-Feilen wurden in der Reihenfolge von ISO 50 bis 60 benutzt, um Dentinspäne vom Wurzelkanal zu entfernen. Die Dentinspäne wurden gesammelt. Gleichzeitig wurden die Wurzelkanäle mit 2 ml *BHI* Infusionslösung gewaschen, um die restlichen Dentinspäne auszuspülen. Die Dentinspäne wurden in 12 ml-großen sterilen, konischen Röhrchen gesammelt und zusammen mit den H-Feilen darin gelagert. Danach wurden die Röhrchen mit *BHI* Infusionslösung auf ein Gesamtvolumen von 10 ml gebracht. Die Röhrchen wurden bei 37,5°C für 24 Stunden inkubiert und 10 Sekunden mit einem Turbulenzrüttler gemischt. Danach wurden sie 30 Minuten in Ruheposition gebracht, bis keine Bewegung der Dentinspäne mehr in der Flüssigkeit zu beobachten war. Zuletzt wurde aus jedem Röhrchen 1 ml Mischprobe in eine Küvette (Sarstedt) pipettiert und die optische Dichte bei 600 nm im Spektrophotometer gemessen.

IV 2.2. Agardiffusionstest

Material:

- *Nähragarplatte mit 0,5% NaCl für Escherichia coli;*
- *YM Agarplatte für Candida albicans;*
- *Trypticase Soy Agar Platte mit 5% defibrinierten Schafblut für Enterococcus faecalis;*
- *Trypticase Soy Agar Platte für Streptococcus sanguinis und Staphylococcus lentus;*
- *Brain-Heart Infusionslösung (Becton Dickinson and Company);*
- *Pasteur Glaspipette;*
- *Thermostat (Memmert);*
- *Lineal.*

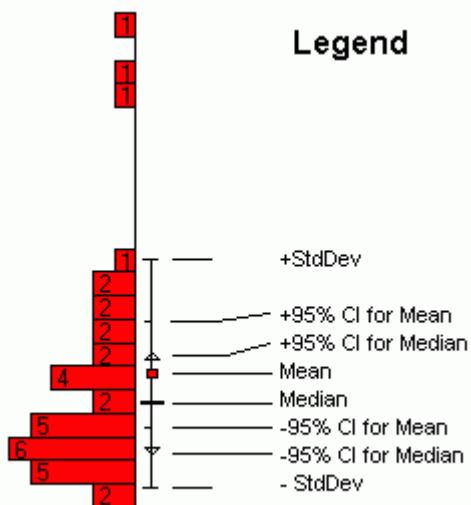
0,5-ml einer reinen Mikroorganismen-Suspension wurden auf Agarplatten (Durchmesser 90 mm und Höhe 4 mm) ausgesät und getrocknet. In jede Agarplatte wurden mit einer sterilen Pasteur-Glaspipette 6 mm große Löcher (n=4) ausgestanzt, in welche die experimentellen Mischungen gefüllt wurden. Ein leeres Loch diente als Kontrolle. Die Agarplatten wurden bei 37°C inkubiert und nach einer 24-stündigen Inkubationsperiode auf bakterielle Wachstumshemmung getestet. Dabei entstanden durch antibakterielle Eigenschaften der Mischungen so genannte Hemmhöfe. Der Durchmesser jedes Hemmhofes wurde in Millimeter gemessen, bei gleichzeitiger Subtraktion der Lochgröße von 6 mm. Für jede Bakterienspezies und für jedes Medikament wurde das Experiment zehnmal wiederholt. Von den erhaltenen Ergebnissen wurde der Durchschnittswert und die Standardabweichung errechnet.

IV 3. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte mit dem Programm SSPS 11,5 (Graphik 1). Das Signifikanzniveau (p) betrug $< 0,05$.

Der Farbpenetrationstest wurde mit Hilfe der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet.

Graphik 1. Zeichenerklärung Verteilung



N.....Stichprobenumfang

Mean.....Mittelwert

SD.....Standardabweichung

Median.....Median

Gauss.....Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Gauss'sche Normalverteilung

LSD-Class.....Post-Hoc-Test (Least Significance Difference) auf Kontraste (p=0,05)

Groups.....Gruppenname (ev. mit Untergruppierung)

V ERGEBNISSE

V 1. Physikalische Eigenschaften

V 1. 1. Abbindezeit

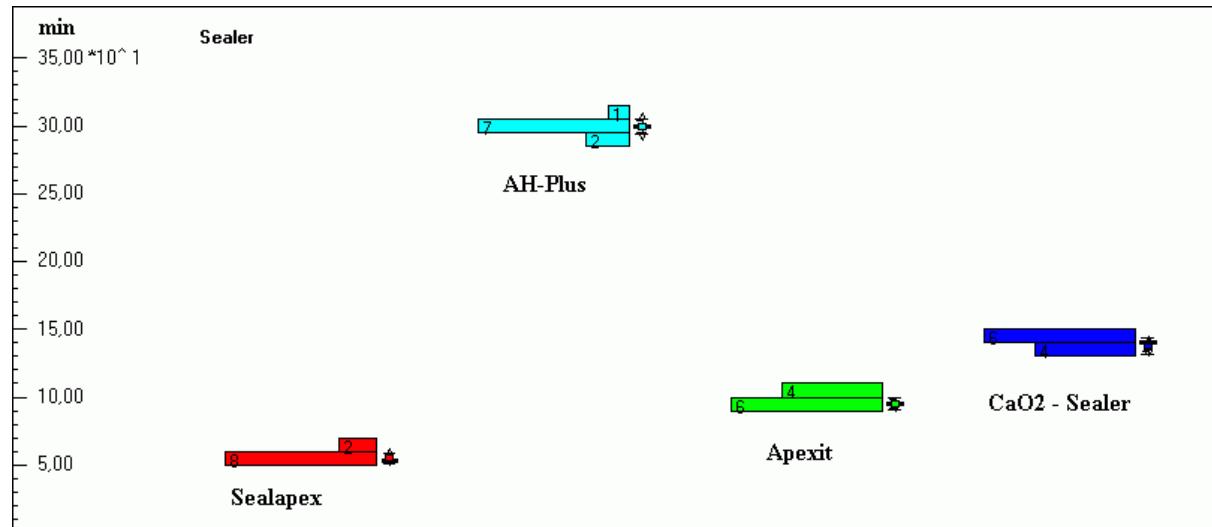
Eine ausreichende Abbindezeit eines Wurzelkanalsealers sollte bis zu 2 Stunden für die Platzierung des Sealers in den Wurzelkanal betragen [Grossman 1976]. Während einer zweistündigen Abbindezeit werden die Wurzelkanalsealer zuerst gemischt, dann ca. 3 Minuten bearbeitet und zuletzt zu Scheiben geformt. Das Ende der Abbindezeit ist durch eine 10%-ige Verringerung des Durchmessers der Sealerscheibe vom Ausgangswert definiert.

Tabelle 2. Abbindezeiten der verschiedenen Sealer

Material	Mean (Min)	Max (Min)	Min (Min)	Median	StdDev	n
Sealapex	55,1	57,8	52,3	53,0	3,87	10
AH-Plus	299,5	303,7	295,2	300,0	5,98	10
Apexit	95,4	98,5	92,2	95,0	4,4	10
CaO ₂ -Sealer	137,5	141,7	133,2	140,0	5,89	10

Die Abbindezeit des experimentellen (CaO₂)-Sealers beträgt 137,5 Minuten unter standardisierten Testbedingungen (Temperatur: 37°C, relative Feuchtigkeit: 75%). Die untersuchten Sealers weisen in folgender Reihenfolge eine Zunahme der Abbindezeiten auf: Sealapex (55,1 Minuten) (*Gruppe A*) < Apexit (95,4 Minuten) (*Gruppe C*) < der experimentelle (CaO₂)-Sealer (137,5 Minuten) (*Gruppe D*) < AH Plus (300 Minuten) (*Gruppe B*).

Graphik 2. Durchschnittliche Abbindezeit der vier unterschiedlichen Sealermaterialien



V 1. 2. Fließverhalten

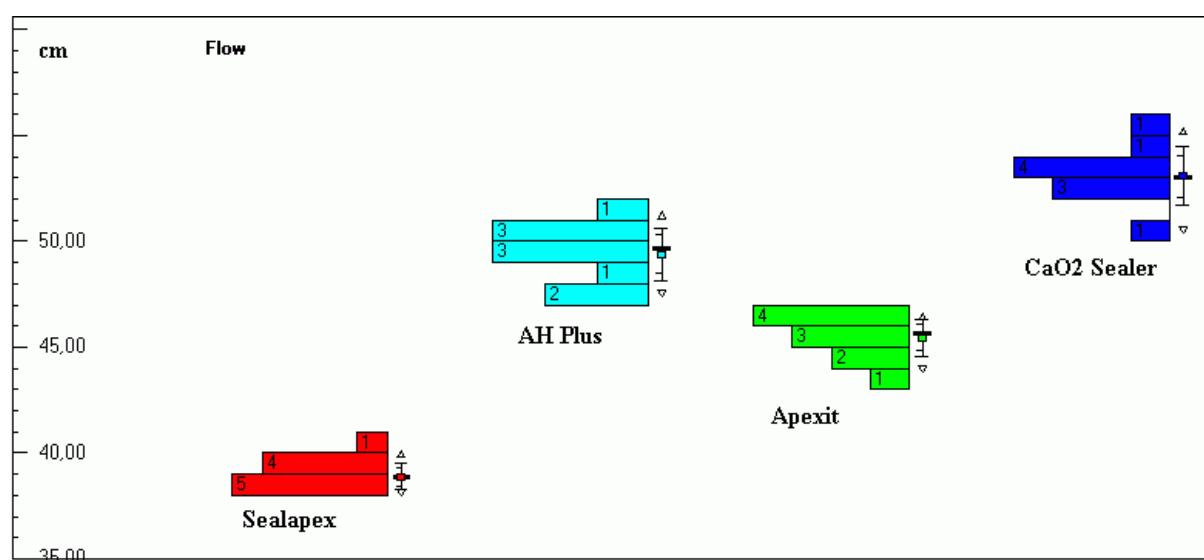
In Übereinstimmung mit dem *ISO-Standard* wurde das durchschnittliche Fließverhalten einer Sealerscheibe mit der Messung ihres Durchmessers und deren Standardabweichung für jedes Material bestimmt.

Tabelle 3. Fließverhalten.

Material	Mean (mm)	Max (mm)	Min (mm)	Median	StdDev	n
Sealapex	38,89	39,32	38,45	38,85	0,61	10
AH-Plus	49,39	50,29	48,48	49,65	1,26	10
Apexit	45,45	46,07	44,82	45,65	0,88	10
CaO ₂ -Sealer	53,09	54,08	54,08	53,0	1,39	10

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass der experimentelle (CaO₂)-Sealer das höchste und Sealapex das niedrigste Fließverhalten aufweisen. Das Fließverhalten der Sealerscheiben erhöhte sich in der folgenden Reihenfolge: Sealapex (38,89 mm) (*Gruppe A*) < Apexit (45,45 mm) (*Gruppe C*) < AH Plus (49,39 mm) (*Gruppe B*) < experimentelles (CaO₂)-Sealer (53,09 mm) (*Gruppe D*) (Tabelle 3).

Graphik 3. Fließverhalten der vier unterschiedlichen Sealermaterialien



V 1. 3. Wasseraufnahme

Die Wasseraufnahme der Materialien wurde entsprechend der Formel errechnet:

$$\frac{(Wt - Wo)}{Wo} \times 100\%$$

wobei gilt, Wt - Gewicht der Sealerprobe zu einer undefinierten Zeit

Wo - Gewicht der Sealerprobe zu Beginn.

Die Wasseraufnahme der Sealer wurde innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen beobachtet.

Tabelle 4.1. Die Wasseraufnahme über 3 Tage

Material	Mean (%)	Median (%)	StdDev (%)	n
Sealapex	1,23 ± 0,37	1,30	0,61	10
AH-Plus	0,1 ± 0,1	0,1	1,26	10
Apexit	4,34 ± 0,94	4,40	0,88	10
CaO ₂ -Sealer	1,49 ± 0,51	1,45	1,39	10

Tabelle 4.2. Die Wasseraufnahme über 7 Tage

Material	Mean (%)	Median (%)	StdDev (%)	n
Sealapex	2,3 ± 0,6	2,40	0,34	10
AH-Plus	0,3 ± 0,2	0,30	0,105	10
Apexit	9,31 ± 0,61	9,35	0,314	10
CaO ₂ -Sealer	1,54 ± 0,56	1,50	0,32	10

Tabelle 4.3. Die Wasseraufnahme über 14 Tage

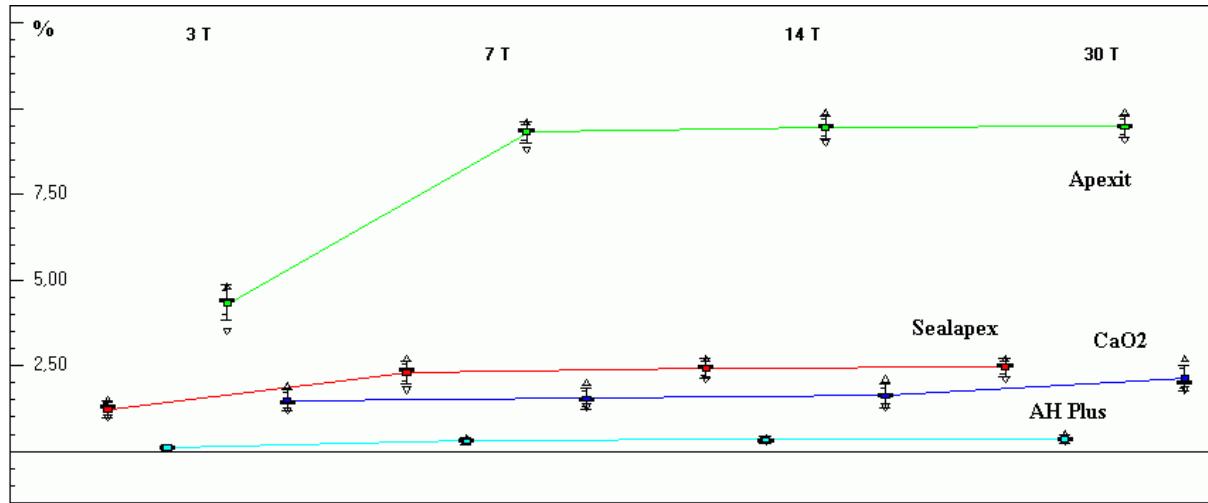
Material	Mean (%)	Median (%)	StdDev (%)	n
Sealapex	2,42 ± 0,42	2,45	0,27	10
AH-Plus	0,34 ± 0,16	0,30	0,097	10
Apexit	9,45 ± 0,55	9,50	0,327	10
CaO ₂ -Sealer	1,62 ± 0,58	1,65	0,336	10

Tabelle 4.4. Die Wasseraufnahme über 30 Tage

Material	Mean (%)	Median (%)	StdDev (%)	n
Sealapex	2,46 ± 0,46	2,5	0,26	10
AH-Plus	0,37 ± 0,23	0,35	0,11	10
Apexit	9,47 ± 0,53	9,5	0,31	10
CaO ₂ -Sealer	2,13 ± 0,67	2,0	0,38	10

Alle vier Sealer verhielten sich unterschiedlich. Diese Unterschiede werden in Tabelle 4.1, 4.1, 4.3, 4.4 veranschaulicht. Am Ende der vierten Woche hatten alle Sealer Gewicht verloren. Die Wasseraufnahme in der 4 Woche lag bei: AH Plus 0,37% (*Gruppe B*) < experimenteller (CaO₂)-haltigen Sealer 2,13% (*Gruppe D*) < Sealapex 2,46% (*Gruppe A*) < Apexit 9,47% (*Gruppe C*). Apexit zeigte eine progressiven Gewichtverlust.

Graphik 4. Mittlere normierte Gewichtsveränderung (Angaben in %) als Maß für die Wasseraufnahme über 30 Tage. Alle geprüften Materialien unterschieden sich an den Zeitpunkten 3, 7, 14 und 30 Tage signifikant.



V 1. 4. Löslichkeit

Die Löslichkeit wurde entsprechend der Formel errechnet:

$$\frac{(Wt - Wf)}{Wo} \times 100\%$$

Wobei gilt, Wf - abschließendes Trockengewicht der Sealerprobe

Wt - Gewicht der Probe zu einem definierten Zeitpunkt

Wo - Gewicht der Sealerprobe zu Beginn.

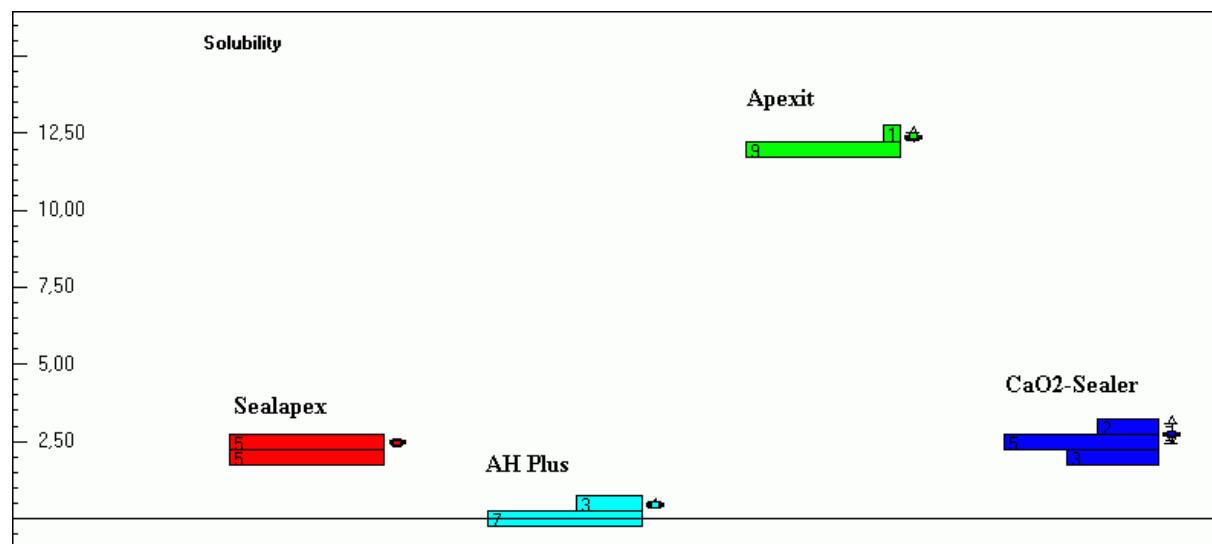
Der Löslichkeitstest der Sealer wurde innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen beobachtet.

Tabelle 5. Die Löslichkeit

Material	Mean (%)	Max (%)	Min (%)	Median	StdDev	n
Sealapex	2,47	2,58	2,42	2,50	0,07	10
AH-Plus	0,44	0,51	0,37	0,43	0,09	10
Apexit	12,41	12,5	12,31	12,39	0,13	10
CaO ₂ -Sealer	2,75	2,97	2,53	2,7	0,3	10

Die Löslichkeitswerte für verschiedene Sealer nach 4 Wochen steigen in folgender Reihenfolge an: AH Plus 0,44% (*Gruppe B*) < Sealapex 2,47% (*Gruppe A*) < experimenteller (CaO₂)-haltigen Sealer 2,75% (*Gruppe D*) < Apexit 12,4% (*Gruppe C*) (Tabelle 5).

Graphik 5. Löslichkeit der vier unterschiedlichen Sealermaterialien



V 1. 5. pH-Wert

Insgesamt wurden die pH-Werte aller vier Wurzelkanalsealer zu 13 verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Die durchschnittlichen pH-Werte der Proben (n=10) jedes Wurzelkanalsealer werden in Tabelle 5.1, 5.2 dargestellt.

Tabelle 5.1. pH-Wert der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien sofort nach der Mischung

Material	Mean	Max	Min	Median	StdDev	n
Sealapex	11,95	11,98	11,93	11,95	0,03	10
AH-Plus	10,11	10,16	10,11	10,14	0,03	10
Apexit	12,17	12,24	12,1	12,21	0,1	10
CaO ₂ -Sealer	10,86	10,92	10,79	10,87	0,97	10
Kontroll	6,86	6,86	6,86	6,86	0,002	5

Tabelle 5.2. Mittel des pH-Werts der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien zu zwölf unterschiedlichen Zeitpunkten

Zeit	Sealapex	AH Plus	Apexit	CaO ₂ -Sealer	Kontrolle
1 h	11,95 ± 0,004	8,56 ± 0,11	12,15 ± 0,15	11,11 ± 0,14	6,86
24 h	11,94 ± 0,04	8,54 ± 0,12	12,07 ± 0,25	11,11 ± 0,19	6,86
3 d	11,52 ± 0,11	8,3 ± 0,21	11,59 ± 0,12	10,97 ± 0,89	6,86
1 w	11,34 ± 0,08	8,27 ± 0,23	11,34 ± 0,13	10,93 ± 0,15	6,86
2 w	11,63 ± 0,15	7,81 ± 0,2	11,24 ± 0,1	10,86 ± 0,09	6,86
3 w	11,71 ± 0,21	7,85 ± 0,19	11,18 ± 0,13	10,78 ± 0,06	6,86
1 m	11,4 ± 0,31	8,2 ± 0,29	11,04 ± 0,11	10,97 ± 0,24	6,86
2 m	11,8 ± 0,11	7,99 ± 0,15	10,98 ± 0,16	10,84 ± 0,09	6,86
3 m	11,71 ± 0,13	8,04 ± 0,15	11,06 ± 0,1	10,94 ± 0,14	6,86
4 m	11,75 ± 0,13	8,44 ± 0,22	10,68 ± 0,32	10,8 ± 0,09	6,86
5 m	11,69 ± 0,1	8,5 ± 0,18	10,78 ± 0,28	10,84 ± 0,1	6,86
6 m	11,28 ± 0,18	8,36 ± 0,21	10,43 ± 0,34	10,76 ± 0,12	6,86

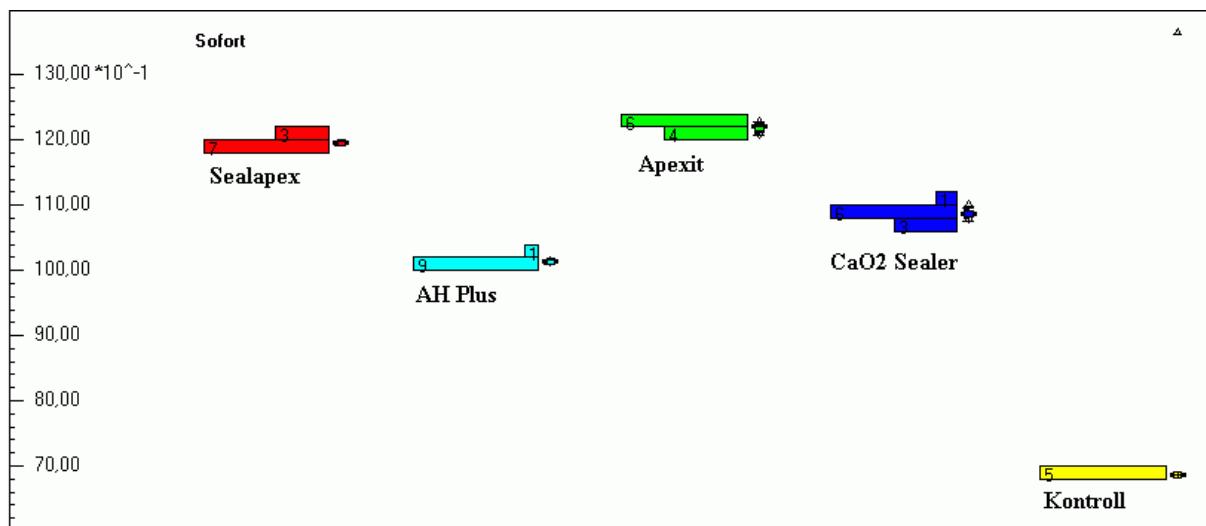
Das calciumhydroxidhaltige Material Apexit hatte den höchsten pH-Wert - 12,17 (*Gruppe C*) direkt nach dem Mischen der Substanz. Ebenso lagen die gemessenen pH-Werte des calciumhydroxidhaltigen Sealers zu den Zeitpunkten - 1 Stunde, 24 Stunden, 3 Tage, 7 Tage – höher als die anderen Sealer.

Der Sealer AH Plus auf Kunstharzbasis (*Gruppe B*) zeigte einen niedrigeren pH-Wert als die anderen Sealers während des gesamten Untersuchungszeitraums.

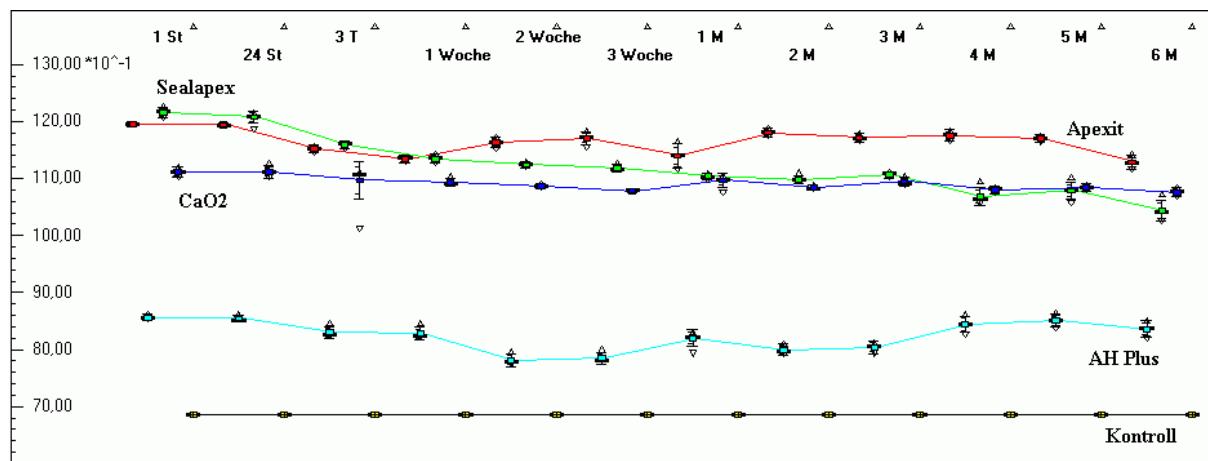
Der alkalische Effekt des experimentellen (CaO_2)-Sealers (*Gruppe D*) ist höher als der des kunstharzhaltigen Sealers AH Plus, aber niedriger als der des calcium-haltigen Sealers Apexit und Sealapex.

Im Gegensatz zu den herkömmlichen Sealern war der pH-Wert des untersuchten (CaO_2)-haltigen Materials konstant.

Graphik 5.1. pH-Wert der verwendeten Wurzelkanalsealer unmittelbar nach der Mischung



Graphik 5.2. pH-Mittelwerte der verwendeten Wurzelkanalsealer zu zwölf unterschiedlichen Zeitpunkten (bis 6 Monate)



V 1. 6. Dimensionstabilität

Für die Untersuchungen wurden Proben gleichen Volumens jedes einzelnen Sealers verwendet. Diese hatten einen Durchmesser von 8 mm und eine Breite von 2 mm. Für die Messung der Dimensionsstabilität wurde ein Beobachtungszeitraum von 30 Tagen gewählt.

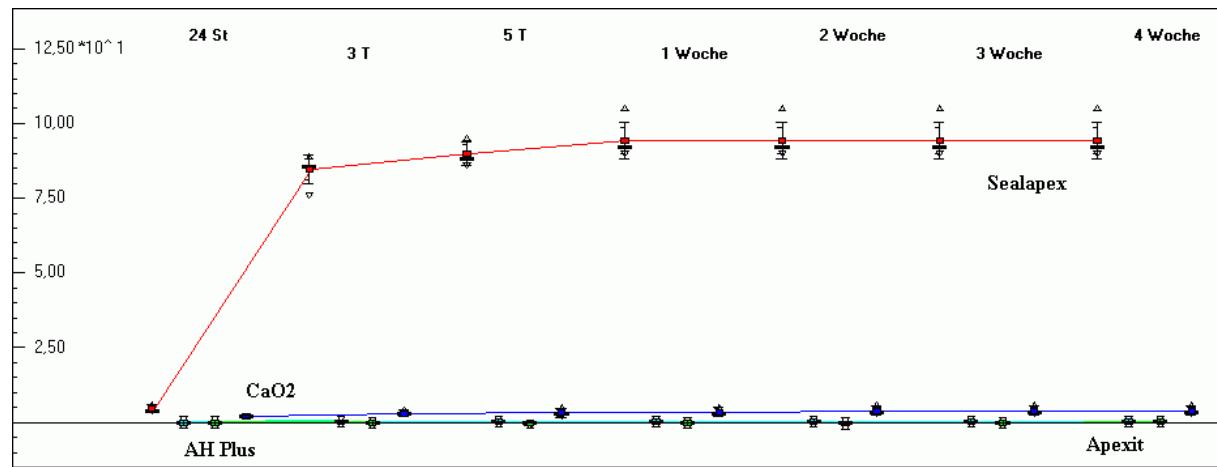
Tabelle 6. Die Dimensionsstabilität

Zeit	Sealapex (%)	AH Plus (%)	Apexit (%)	CaO ₂ -Sealer (%)
24h	2,6 ± 2,4	0	0	2,1 ± 1,1
3d	84,5 ± 9,5	0,08 ± 0,12	-0,07 ± 0,13	3 ± 2
5d	89,9 ± 6,1	0,21 ± 0,11	-0,28 ± 1,72	3,3 ± 2,7
1w	94,2 ± 11,8	0,27 ± 0,13	-0,22 ± 0,12	3,5 ± 2,5
2w	94,2 ± 11,8	0,33 ± 0,13	-0,32 ± 0,008	3,9 ± 3,1
3w	94,2 ± 11,8	0,36 ± 0,14	-0,1 ± 0,1	3,9 ± 3,1
4w	94,2 ± 11,8	0,36 ± 0,14	0,17 ± 0,23	3,9 ± 3,1

Das calciumoxidhaltige Sealapex (*Gruppe A*) zeigte eine bedeutende volumetrische Expansion während der Härtung in feuchter Atmosphäre bei 37°C (Tabelle 6). Die größten Volumenvänderungen (94,2%) fanden innerhalb der ersten 7 Tage statt. Bei den anderen Sealern wurden dagegen nur geringe Volumenveränderungen beobachtet.

Die Experimente mit Sealapex (*Gruppe A*) demonstrierten eine volumetrische Expansion von mehr als 90%. Apexit, der (Ca(OH)₂)-haltige Sealer (*Gruppe C*), zeigte während der ersten 14 Tage eine geringe Kontraktion (- 0,32%) mit einer darauffolgenden stetigen Expansion bis auf 0,17%. AH Plus, ein Material auf Kunstharzbasis (*Gruppe B*) zeigte innerhalb der ersten 3 Wochen eine mäßige Expansion (0,36%), die danach stabil blieb. Der experimentelle (CaO₂)-haltige Sealer (*Gruppe D*) zeigte innerhalb der ersten 2 Wochen eine volumetrische Expansion bis auf 3,9% und blieb in der folgenden Beobachtungszeit volumetrisch stabil.

Graphik 6. Volumenveränderung der verwendeten Wurzelkanalsealer zu sieben unterschiedlichen Zeiten (bis 4 Woche)



V 1. 7. Farbstoffpenetrationstest

Die gemittelten Werte der vier Sealer im Farbstoffpenetrationstest werden in Tabelle 7.1 zusammengefasst. Die niedrigste apikale Farbstoffpenetration (\pm SD) wurde in der AH-Plus Gruppe mit 0,97 (\pm 0,43) mm (Abb. V 2.) beobachtet. Die Proben, die mit dem experimentellen Sealer behandelt wurden, zeigten im Mittel eine Farbstoffpenetration von 1,1 (\pm 0,48) mm (Abb. V 4). Die gemittelte Mikropenetrationstiefe für Sealapex betrug 1,3 (\pm 0,26) mm (Abb. V 1), die für Apexit 2,35 (\pm 1,23) mm (Abb. V 3).

Tabelle 7.2 stellt die statistische Analyse, die mit dem ANOVA- und Scheffé-Test berechnet wurde, dar. Der Farbstoffpenetrationstest zeigte bei AH Plus und beim experimentellen Sealer kaum Unterschiede ($p = 0,385$). Dagegen war die Farbstoffpenetrationstiefe bei Sealapex und Apexit verglichen mit AH Plus und dem experimentellen Sealer erheblich höher.

Abb. V 1. Penetrationstiefe für Sealapex Abb. V 2. Penetrationstiefe für AH Plus

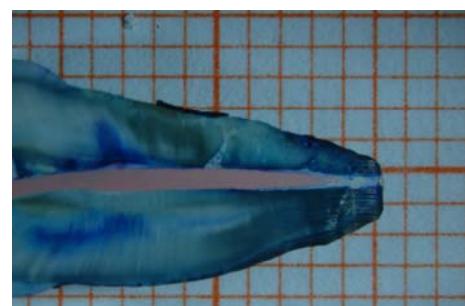
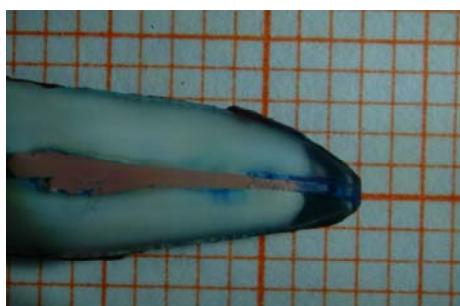


Abb. V 3. Penetrationstiefe für Apexit Abb. 4. Penetrationstiefe für CaO2-Sealer



Tabelle 7.1. Farbstoffpenetration. Die Ergebnisse sind nach vier verschiedenen Gruppen differenziert. Die Unterschiede sind signifikant

Material	Mean (mm)	Max (mm)	Min (mm)	SD (mm)	n
Sealapex	1,30	1,75	0,85	0,26	20
AH-Plus	0,98	2,1	0,2	0,43	20
Apexit	2,35	5,5	0,3	1,23	20
experimental	1,09	2,2	0,3	0,49	20

Tabelle 7.2. Statistischen Auswertung des Farbstoffpenetrationstests mit ANOVA und Scheffé Test ($p < 0,05$)

p-value	Sealapex	AH-Plus	Apexit	CaO ₂ -Sealer
Sealapex	-	0,009	0,018	0,045
AH-Plus	0,009	-	0,002	0,385
Apexit	0,018	0,002	-	0,003
experimental	0,045	0,385	0,003	-

V 2. Biologische Eigenschaften

V 2. 1. Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten

Der Wert der optischen Dichte wird in Tabelle 8.1 und Tabelle 8.2 gezeigt. Der Mittelwert der optischen Dichte war am größten und am niedrigsten in den Kontrollgruppen. Der größte Wert zeigte sich bei der positiven Kontrollgruppe bei der die Probestücke mit Bakterium versahen waren und keine Medikation verwendet wurde. Am kleinsten war dieser Wert bei der negativen Kontrollgruppe mit Keimlosen ohne Medikation. Eine Zunahme der optischen Dichte ist ein Indikator für bakterielles Wachstum. Calciumperoxidhaltige Sealer und Calciumperoxid Mischungen zeigten antibakterielle Eigenschaften gegen alle Mikroorganismen. Der AH Plus Sealer hemmte *Escherichia coli* und *Streptococcus sanguinis* in den Dentintubuli. Sealapex, Calciumhydroxid- und Calciumoxidmischungen führten nur zu einer Hemmung von *Escherichia coli*. Apexit war gegen alle Mikroorganismen wirkungslos.

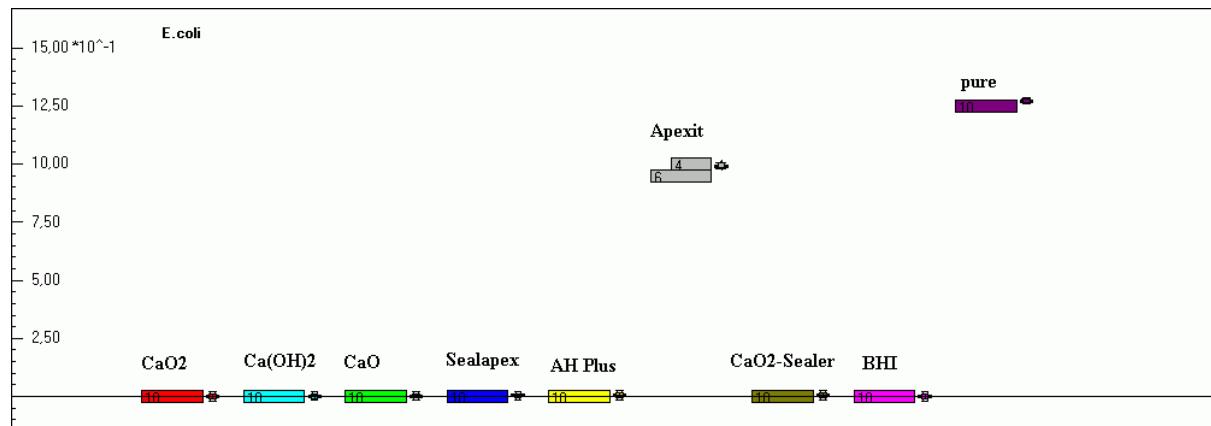
Tabelle 8.1. Optische Dichte, Wirkung von Calciumperoxids, Calciumhydroxids und Calciumoxids auf fünf unterschiedliche Mikroorganismen.

	CaO₂	Ca(OH)₂	CaO	positive Kontrolle	negative Kontrolle
<i>E. coli</i> (ATCC 10556)	0,002 (0,001-0,002)	0,002 (0,001-0,003)	0,003 (0,002-0,004)	1,273 (1,268-1,278)	0,002 (0,001-0,002)
<i>E. faecalis</i> (ATCC 49478)	0,002 (0,001-0,003)	1,321 (1,308-1,334)	1,239 (1,227-1,251)	1,145 (1,14-1,15)	0,002 (0,001-0,002)
<i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556)	0,002 (0,001-0,004)	1,269 (1,251-1,286)	1,284 (1,273-1,295)	1,221 (1,217-1,226)	0,002 (0,001-0,003)
<i>S. lentus</i> (ATCC 49574)	0,002 (0,002-0,003)	1,212 (1,216-1,297)	1,089 (1,075-1,103)	1,283 (1,274-1,293)	0,001 (0,001-0,002)
<i>C. albicans</i> (ATCC 11006)	0,002 (0,001-0,004)	1,157 (1,15-1,164)	1,181 (1,167-1,195)	1,261 (1,252-1,27)	0,001 (0,001-0,002)

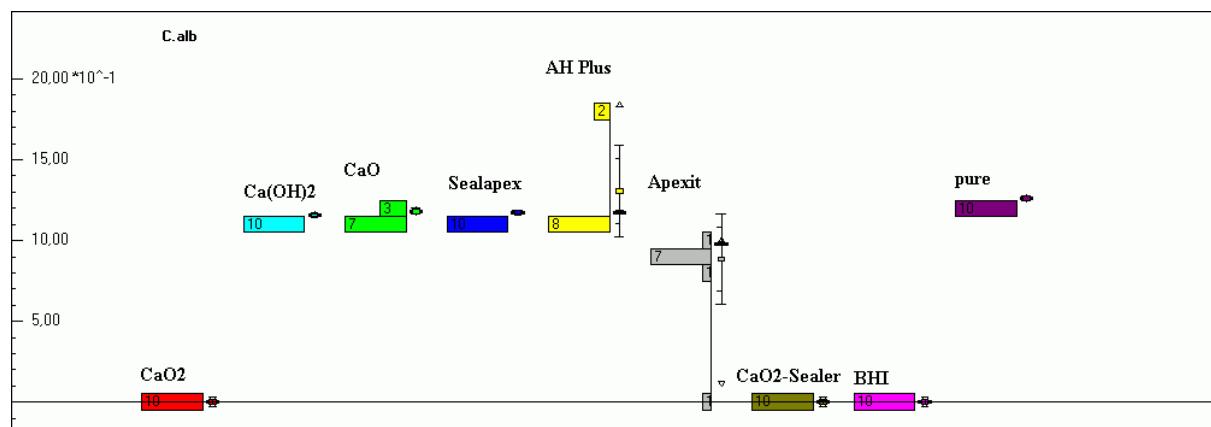
Tabelle 8.2. Optische Dichte. Wirkung von Wurzelkanalfüllmaterialien auf fünf unterschiedliche Mikroorganismen.

	Sealapex	AH Plus	Apexit	CaO₂ Sealer
<i>E. coli</i> (ATCC 10556)	0,004 (0,002-0,005)	0,004 (0,002-0,005)	0,994 (0,984-1,003)	0,004 (0,003-0,005)
<i>E. faecalis</i> (ATCC 49478)	1,135 (1,118-1,152)	1,079 (1,072-1,086)	1,053 (1,046-1,059)	0,004 (0,003-0,005)
<i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556)	1,21 (1,202-1,219)	0,004 (0,003-0,005)	1,246 (1,235-1,257)	0,003 (0,001-0,007)
<i>S. lentus</i> (ATCC 49574)	1,155 (1,146-1,163)	1,228 (1,121-1,245)	1,068 (1,061-1,074)	0,003 (0,002-0,004)
<i>C. albicans</i> (ATCC 11006)	1,174 (1,167-1,182)	1,307 (1,102-1,512)	0,886 (0,687-1,085)	0,004 (0,003-0,005)

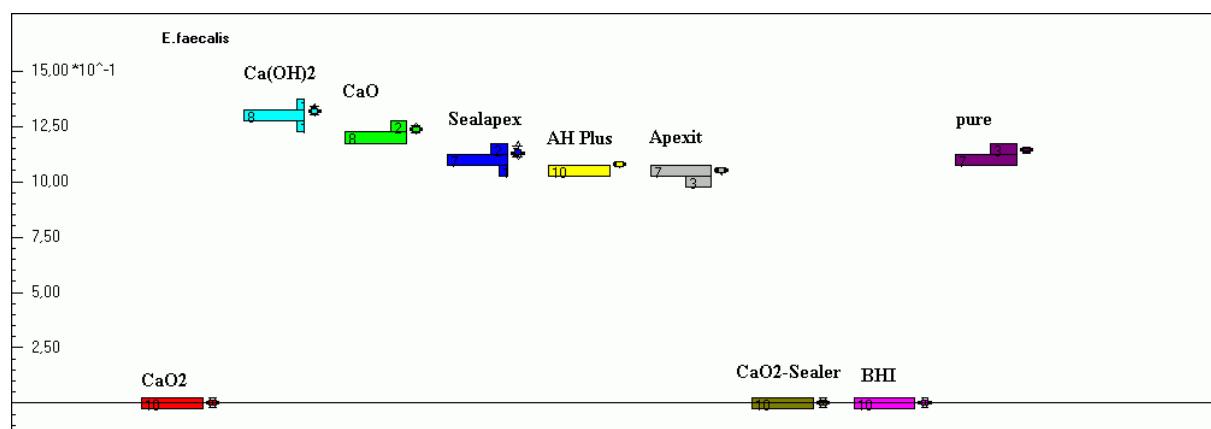
Graphik 8.1. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen *Escherichia coli*



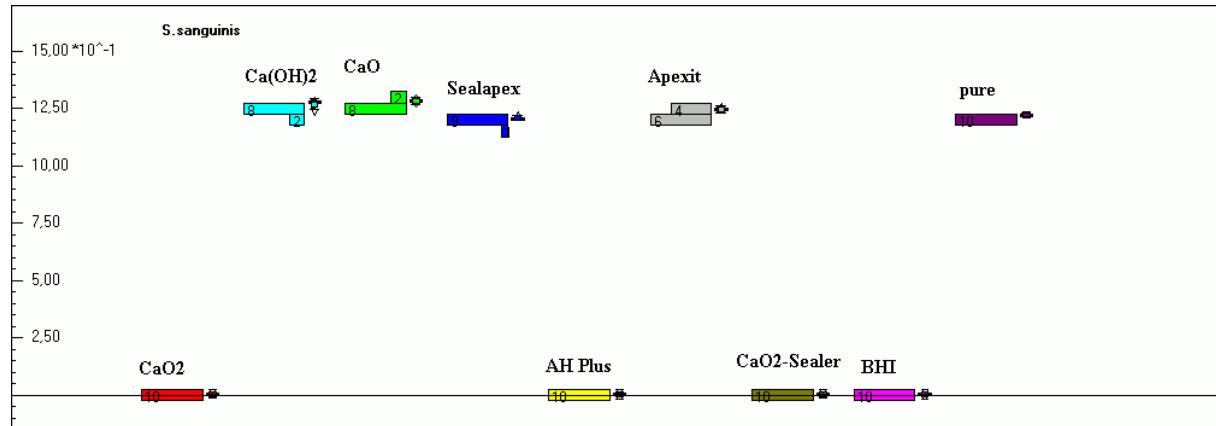
Graphik 8.2. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen *Candida albicans*



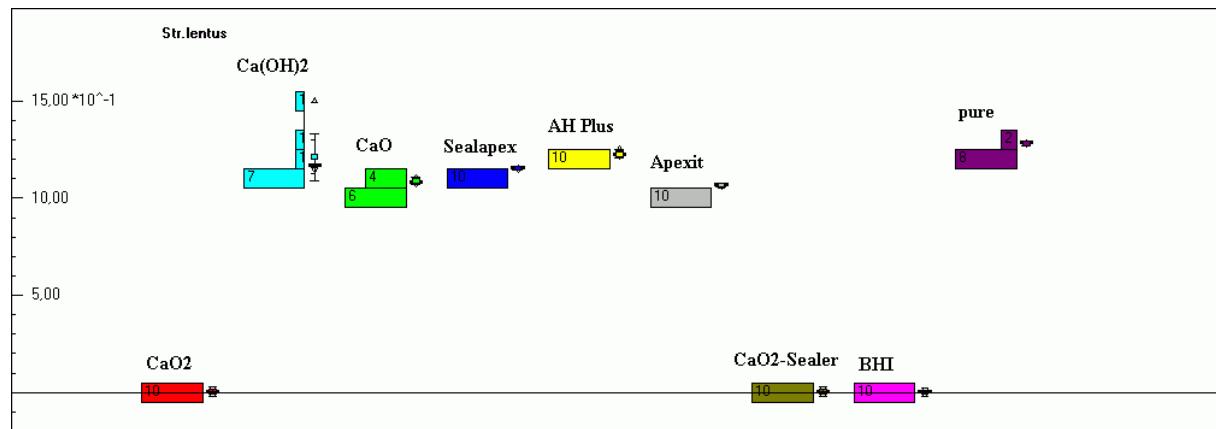
Graphik 8.3. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen *Enterococcus faecalis*



Graphik 8.4. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen *Streptococcus sanguinis*



Graphik 8.5. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen *Staphylococcus lentus*



V 2. 2. Agardiffusionstest

Die Größe der Halos der bakteriellen Wachstumshemmung, die im Agardiffusionstest für jeden Sealer und Medikation erreicht wurde, sind in Tabelle 9 dargestellt.

Die benutzten Sealers und calciumhaltigen Mischungen, ausgenommen Apexit und AH Plus, zeigten antibakterielle Eigenschaften gegen alle Bakterien. Die Hemmhöfe der calciumhaltigen Mischungen waren bei *Escherichia coli* (14,5 mm), *Streptococcus sanguinis* (16,3 mm) und *Staphylococcus lentus* am größten (13,3 mm). Der größte Hemmhof für calciumhydroxidhaltige Einlagen wurde bei *Candida albicans* (13,3 mm) beobachtet.

Bei *Enterococcus faecalis* wurde eine beträchtlich größere Zone der Wachstumshemmung durch Calciumperoxid (11,5 mm) verglichen mit Calciumhydroxid und Calciumoxid gefunden. Demgegenüber wurde eine größere Zone der Wachstumshemmung durch Calciumoxid und Calciumhydroxid verglichen mit Calciumperoxid bei *Streptococcus sanguinis*, *Staphylococcus lentus* und *Candida albicans* gemessen.

Der experimentelle Sealer hatte, verglichen mit den anderen Sealern, deutlich größere hemmende Wirkungen bei *Enterococcus faecalis* (13,2 mm), *Candida albicans* (12,6 mm), *Streptococcus sanguinis* (15 mm) und *Staphylococcus lentus* (12,1 mm). Danach folgen die Sealers mit abnehmender Hemmwirkung: Sealapex mit dem größten Hemmhof bei *Escherichia coli* (12,5 mm), AH Plus Sealer, der keine Wirkung bei *Enterococcus faecalis* besaß, und schließlich Apexit mit dem niedrigsten antibakteriellen Effekt. Apexit zeigte weder bei *Escherichia coli* noch bei *Candida albicans* eine antibakterielle Wirkung.

Tabelle 9. Agardiffusionstest. Antibiotische Effekte der verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Mixturen gegen fünf unterschiedliche Mikroorganismen

	Sealapex (mm)	AH Plus (mm)	Apexit (mm)	CaO₂- Sealer (mm)	CaO₂- Mixture (mm)	Ca(OH)₂- Mixture (mm)	CaO- Mixture (mm)
<i>E. coli</i>	12,53 (\pm 1,53)	10,88 (\pm 1,82)	0	12,08 (\pm 2,08)	13,83 (\pm 1,31)	14,35 (\pm 1,78)	14,47 (\pm 1,40)
<i>E. faecalis</i>	9,06 (\pm 1,44)	0	7,3 (\pm 0,8)	13,22 (\pm 1,47)	11,5 (\pm 0,63)	7,94 (\pm 0,52)	8,46 (\pm 0,54)
<i>S. sanguinis</i>	14,44 (\pm 1,64)	12,07 (\pm 1,27)	8,37 \pm 0,83	15,05 (\pm 1,25)	15,1 (\pm 0,85)	16,24 (\pm 1,05)	16,28 (\pm 0,90)
<i>S. lentus</i>	8,97 (\pm 0,57)	8,24 (\pm 1,06)	9,54 (\pm 0,94)	12,01 (\pm 0,9)	12,09 (\pm 0,45)	12,56 (\pm 0,85)	13,27 (\pm 0,62)
<i>C. albicans</i>	7,75 (\pm 1,45)	7,16 (\pm 0,74)	0	12,63 (\pm 2,17)	11,49 (\pm 1,20)	13,28 (\pm 1,19)	12,09 (\pm 1,22)

Abb. V 5. Agardiffusionstest für *Escherichia coli*

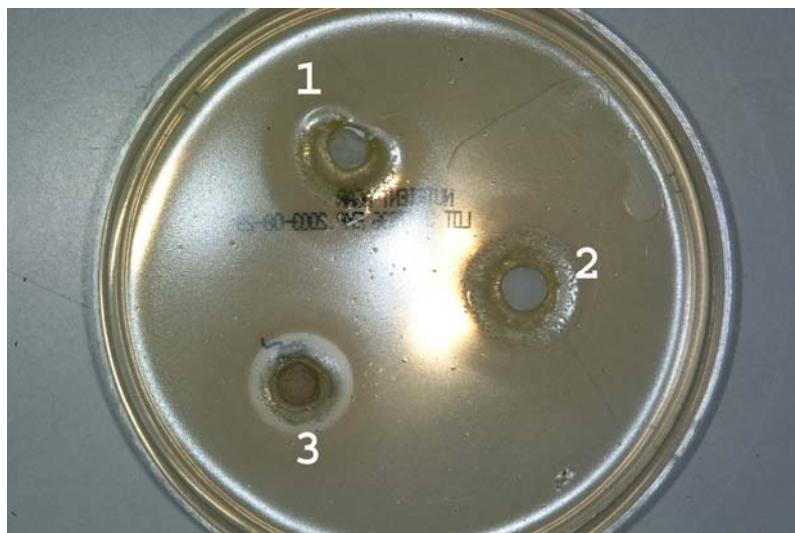


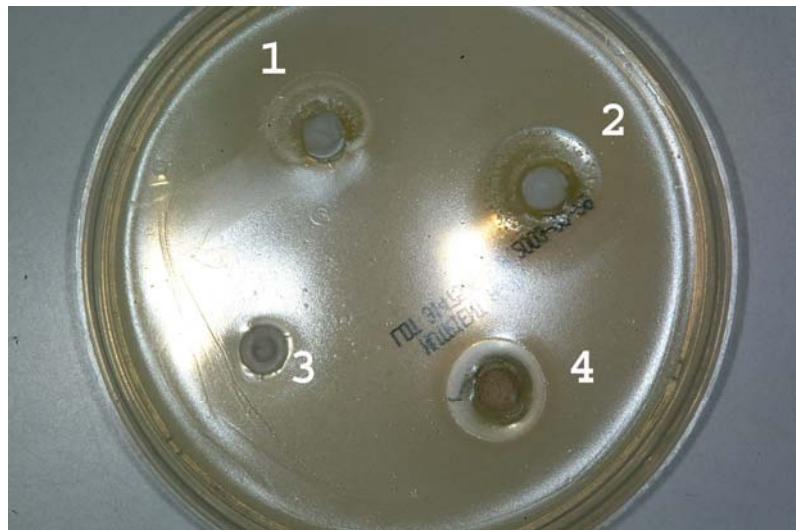
Abb. V 6. Agardiffusionstest für *Escherichia coli*



Abb. V 7. Agardiffusionstest für *Enterococcus faecalis*



Abb. V 8. Agardiffusionstest für *Enterococcus faecalis*



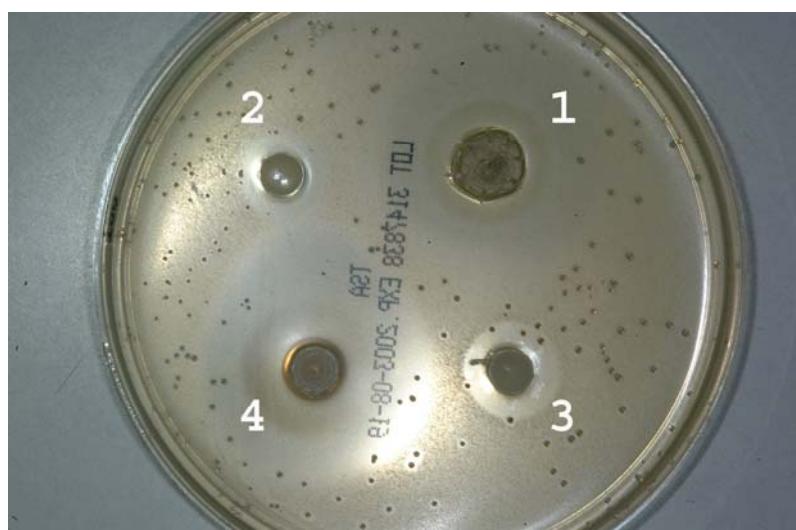
1. Sealapex (9,6 mm)
2. Apexit (7,3 mm)
3. AH-Plus (0 mm)
4. CaO₂-Sealer (13,2 mm)

Abb. V 9. Agardiffusionstest für *Streptococcus sanguinis*



1. CaO (16,3 mm)
2. Ca(OH)₂ (16,2 mm)
3. CaO₂ (15,1 mm)

Abb. V 10. Agardiffusionstest für *Streptococcus sanguinis*



1. Sealapex (14,4 mm)
2. Apexit (8,3 mm)
3. AH Plus (12 mm)
4. CaO₂ Sealer (15 mm)

Abb. V 11. Agardiffusionstest auf dem Wachstum von *Staphylococcus lentus*



Abb. V 12. Agardiffusionstest für *Staphylococcus lentus*

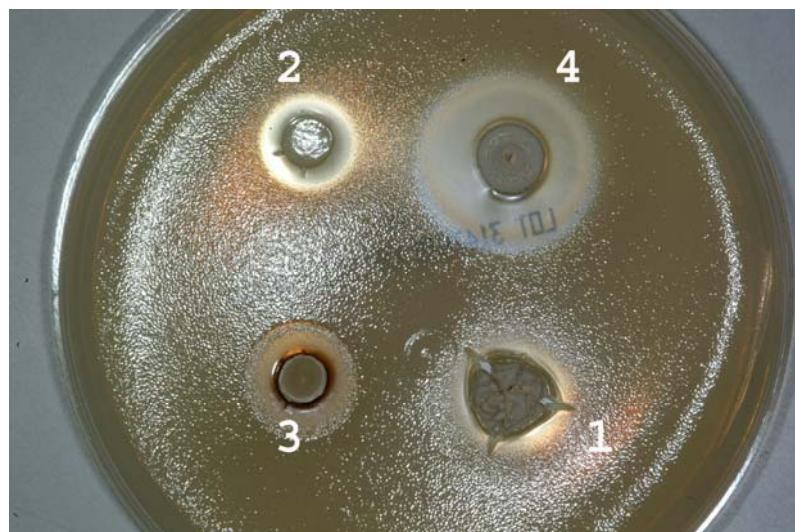


Abb. V 13. Agardiffusionstest für *Candida albicans*

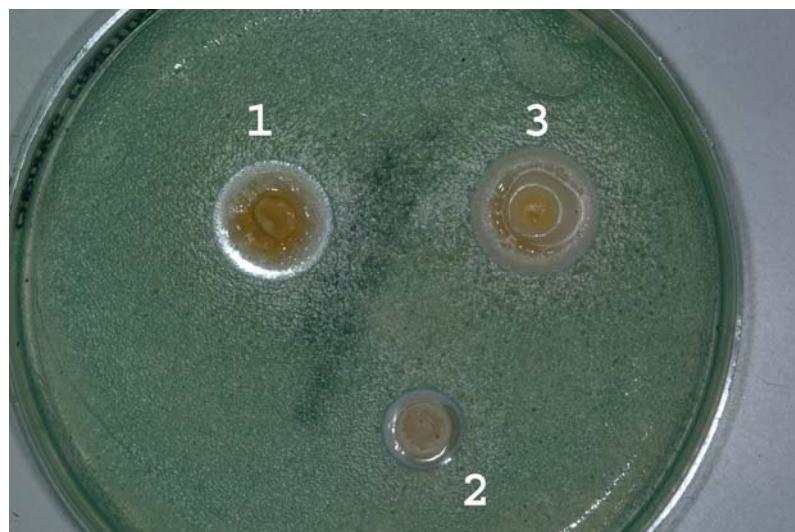
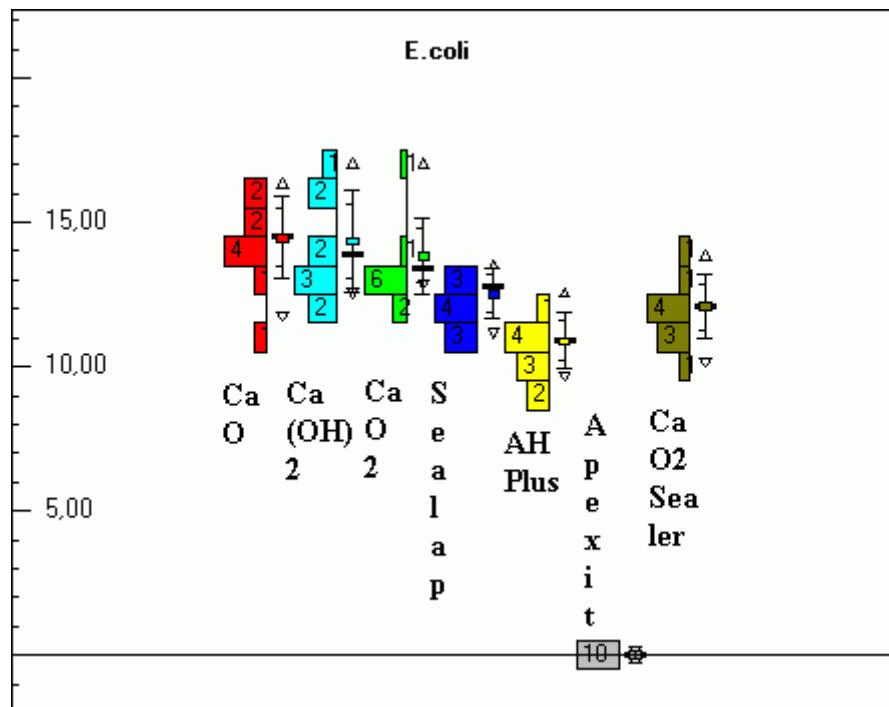


Abb. V 14. Agardiffusionstest für *Candida albicans*

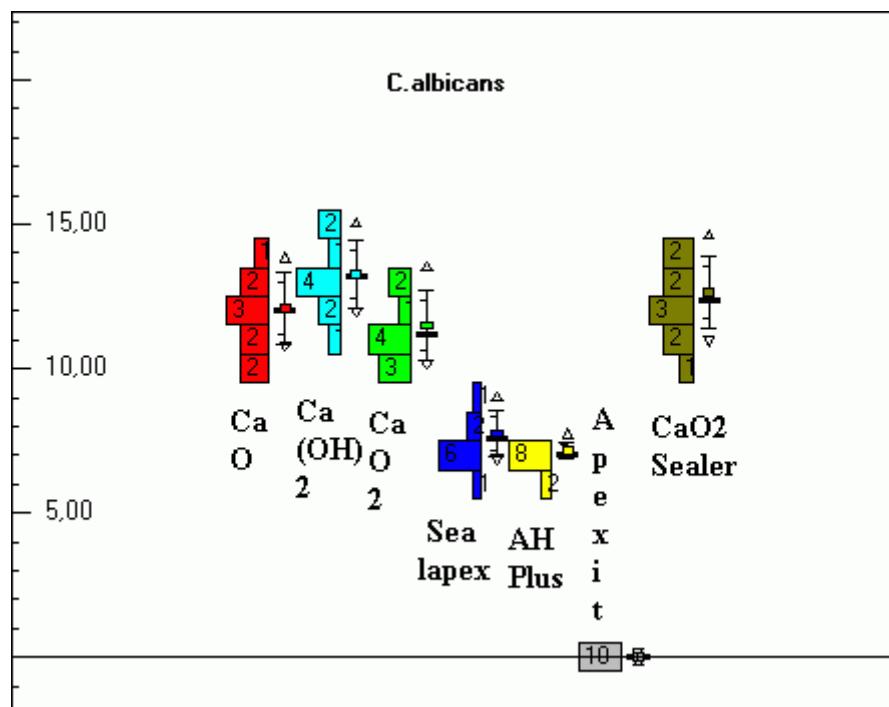


1. Sealapex (7,7 mm)
2. Apexit (0 mm)
3. AH Plus (7,1 mm)
4. CaO₂-Sealer (12,6 mm)

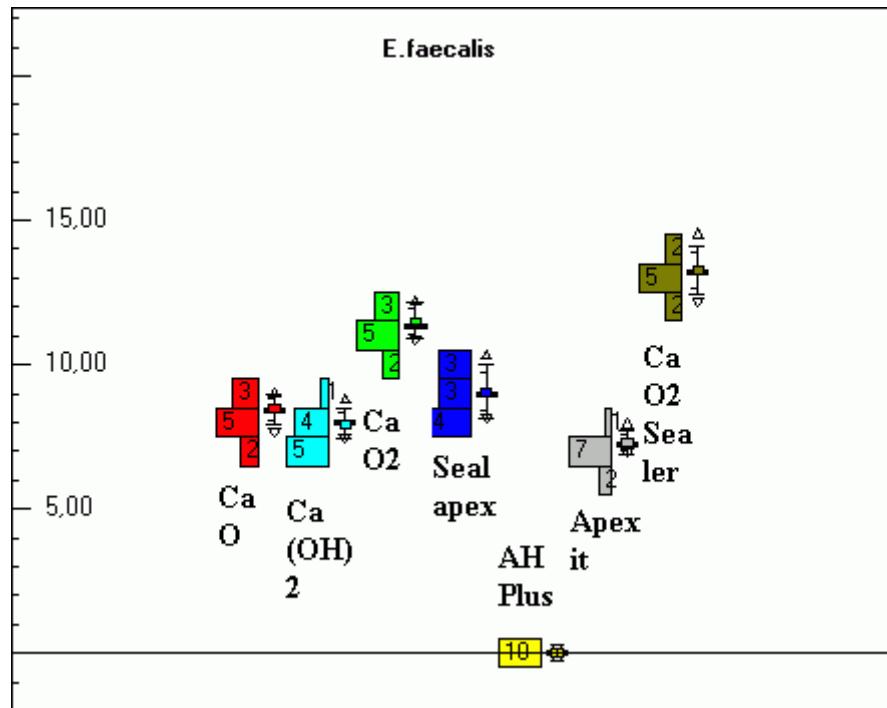
Graphik 9.1. Zonen der bakteriellen Wachstumshemmung für die verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Einlagen (*Escherichia coli*)



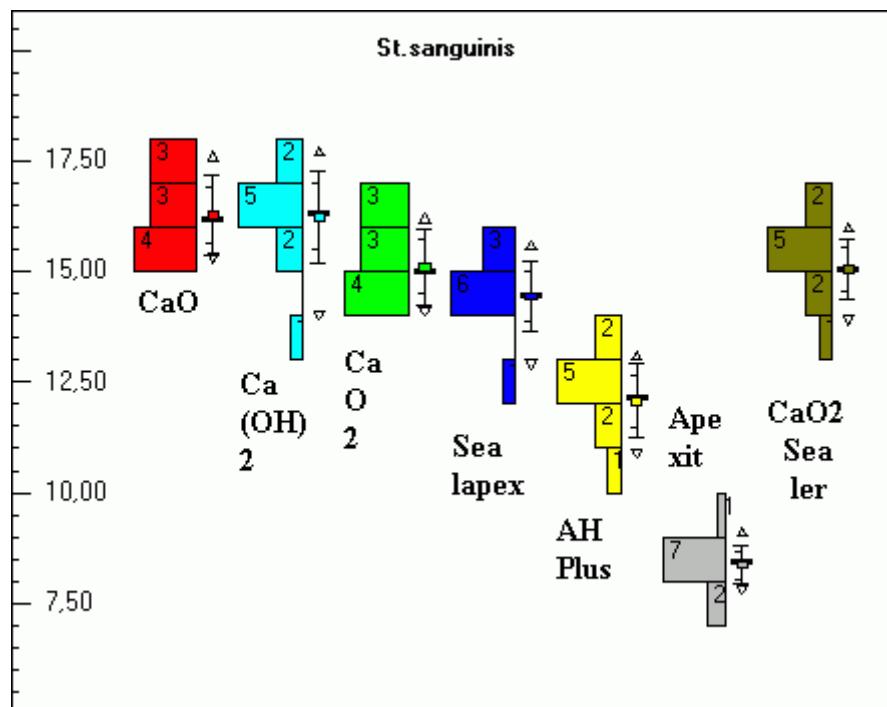
Graphik 9.2. Zonen der bakteriellen Wachstumshemmung für die verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Einlagen (*Candida albicans*)



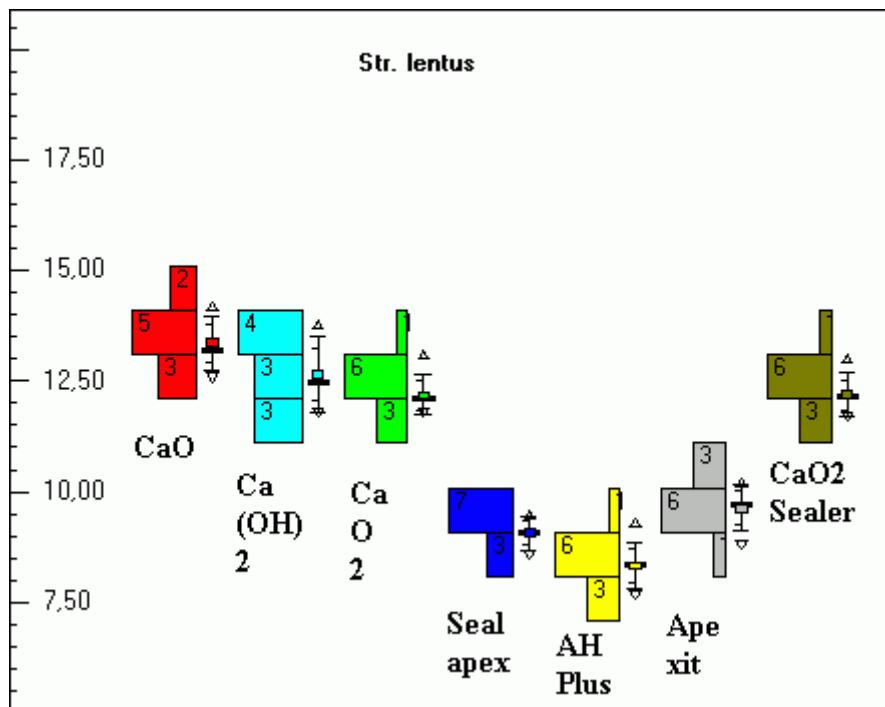
Graphik 9.3. Zonen der bakteriellen Wachstumshemmung für die verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Einlagen (*Enterococcus faecalis*)



Graphik 9.4. Zonen der bakteriellen Wachstumshemmung für die verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Einlagen (*Streptococcus sanguinis*)



Graphik 9.5. Zonen der bakteriellen Wachstumshemmung für die verwendeten Wurzelkanalfüllmaterialien und Einlagen (*Staphylococcus lentus*)



Im Agardiffusionstest zeigte sich eine starke antibakterielle Wirkung für alle drei calciumhaltige Mischungen auf alle geprüften Mikroorganismen. Calciumperoxid zeigte eine beträchtlich höhere antibakterielle Wirkung auf *Enterococcus faecalis* verglichen mit den anderen Einlagen, wobei Calciumoxid und Calciumhydroxid auf *Staphylococcus lentus*, *Streptococcus sanguinis* und *Candida albicans* deutlich höhere antibakterielle Effekte hatten.

VI DISKUSSION

Das Ziel einer endodontischen Therapie ist der vollständige, hermetische Verschluss des Wurzelkanals, um eine Reinfektion von koronal bzw. apikal zu verhindern [Zehnder et al. 2003]. Für den Erfolg der Behandlung sind dabei die gründliche mechanische Aufbereitung, die chemische Reinigung und das vollständige Ausfüllen des Wurzelkanalsystems mit geeigneten Wurzelkanalfüllmaterialien maßgebend. Wurzelkanalfüllmaterialien sollten für die praktische Anwendung sterilisierbar, leicht applizierbar und röntgenopak sein. Zudem sollten die Materialien eine gute Wandhaftung und eine geringe Feuchtigkeitsaufnahme aufweisen. Für die Gewährleistung eines guten klinischen Langzeitverhaltens ist es notwendig, dass Sealer nicht resorbierbar sind und reizlos auf das periapikale Gewebe wirken. Zur Vermeidung einer Reinfektion des Wurzelkanals sollten Wurzelkanalsealer formstabil und porenfrei sein, sowie eine antibakterielle Wirkung besitzen.

Für Calciumperoxid (CaO_2) wurde in früheren Arbeiten eine ausgeprägter antibakterielle Wirkung postuliert [Lange 1976]. Nicht zuletzt im Hinblick auf eine persistierende bzw. rezidivierende bakterielle Infektion des Wurzelkanals als Ursache für therapeutische Misserfolge, erscheinen calciumperoxidhaltige Sealermaterialien deshalb als interessante Alternative zu konventionellen Präparaten. Im Rahmen dieser Studien wurden die chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften eines experimentellen, calciumperoxidhaltigen Sealers und eine temporären calciumperoxidhaltigen Einlage untersucht.

VI 1. Abbindezeit

Die Abbindezeit ist die Zeit, die für das Mischen und die Aufbereitung eines Wurzelkanalfüllmaterials notwendig ist, bevor es zu der gewünschten Viskositätszunahme des Materials kommt [Owadally et al. 1994]. Sie ist von konstituierenden Bestandteilen, der Teilchengröße, der umgebenden Temperatur und der relativen Feuchtigkeit abhängig [Uhrich et al. 1978]. Es gibt keine standardisierte Abbindezeit für Sealer. Dennoch gibt es Richtlinien für eine korrekte Plazierung und Justage des Sealers im Wurzelkanal. Generell scheint eine zweistündige Abbindezeit optimal zu sein [Grossman 1976].

Die ersten Messungen sollten eine Abbindezeit für vier verschiedene Sealer bestimmen, indem ihr Fließverhalten untersucht wurde. Alle vier Sealer zeigten eine ausreichende Abbindezeit mit zunehmendem Anstieg in folgender Reihenfolge: Sealapex < Apexit < experimentell (CaO_2)-Sealer < AH Plus (Tabelle 2).

Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass der experimentelle (CaO_2)-Sealer (137,5 Minuten) eine ausreichende Abbindezeit besitzt.

VI 2. Fließverhalten

Ein Sealer sollte ein optimales Fließverhalten besitzen, damit selbst geringe Unregelmäßigkeiten im Dentin ausgefüllt werden [Gutmann et al. 1998]. Das Fließverhalten der Sealer wurde unter Verwendung von Glasplatten bestimmt. Der *Britische Standard BS 6934* (1988) definiert das Fliessverhalten eines Sealers als die Produktion einer 20 mm großen Scheibe, die entsteht, wenn eine Last von 2500 Gramm auf ein 0,5 ml großes Volumen eines Materials ausgeübt wird. Dabei entstanden beim experimentellen (CaO_2)-Sealer Scheiben mit einem Durchmesser von 50,4 mm (min) bis 55,4 mm (max) (Tabelle 3).

Bei der Auswahl eines Sealers sollte ein Gleichgewicht zwischen passendem Fließverhalten und optimaler Handhabung bestehen. Der Sealer sollte in die

Dentinkanälchen und zwischen Guttaperchastifte fließen, ohne dass er gleichzeitig periapikal entweicht [Smith et al. 1993].

VI 3. Löslichkeit

Die Löslichkeit eines Sealers ist ein wichtiges Charakteristikum. Eine geringe Löslichkeit gilt als ideale Eigenschaft für Sealer [Owadally et al. 1993]. Eine Abnutzung von Sealern kann einerseits durch Säuren, die durch Bakterien erzeugt werden, oder Säuren, die in den Nahrungsmitteln und Getränken vorhanden sind, auftreten, andererseits aber auch durch mechanischen Verschleiß hervorgerufen werden [Pluim et al. 1987]. Vorerst sind Sealer durch die periradikuläre Gewebeflüssigkeit geschützt, bis sie danach mit faserartigem Bindegewebe oder Zementgewebe umgeben werden. Klinisch sollte bei biokompatiblen Sealern mit guter Dichte keine Entzündung in den periradikulären Geweben entstehen, sodass es zur Bildung von faserartigem Bindegewebe und Zement kommen kann. Diese umfassen die gesamte Wurzelspitze. Der mechanische Verschleiß spielt bei der Abnutzung von Sealern eine untergeordnete Rolle.

Im Wurzelkanal kann der Sealer Gewebeflüssigkeiten und Exsudaten ausgesetzt werden. Deshalb war es notwendig, die Effekte eines verlängerten Kontakts der Sealer mit Flüssigkeiten festzustellen. In diesem Fall diente Wasser als Ersatz für die Gewebeflüssigkeit. Zwei Effekte waren an den Materialien zu beobachten: eine Wasseraufnahme und eine Zerstörung des Sealers. Dabei gab es Unterschiede zwischen den vier Sealern. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Rate der zerstörten Sealers viel größer ist, als ihre Fähigkeit, Flüssigkeit aufzunehmen.

Der Gewichtverlust nach abschließender Trocknung des Sealers zeigte einen gleichzeitigen Materialverlust während des Untersuchungszeitraumes (AH Plus < experimentelles (CaO₂)-haltigen Material < Sealapex < Apexit) (Tabelle 5). Der empfohlene Löslichkeitswert für Sealer beträgt 3% (*Britisches Standart BS*

6934, 1988). Die Löslichkeitswerte von AH Plus, Sealapex und dem experimentellen (CaO_2)-haltigen Material entsprachen dieser Vorgabe.

VI 4. pH-Wert

Die antibakterielle Wirkung und die Toxizität eines Sealers sind von seinem pH-Wert abhängig. Ziel dieser Studie war es, pH-Werte des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers mit denen der drei anderen konventionellen Sealer (Sealapex, Apexit und AH Plus) über einen Zeitraum von 6 Monaten zu vergleichen. Die Ergebnisse zeigten, dass die pH-Wertänderung der Sealer auf Calcium-Basis (*Gruppe A und C*) nahezu identisch war. AH-Plus (*Gruppe B*) wies bei jeder Zeitmessung den niedrigsten pH-Wert auf. Die alkalische Wirkung des experimentellen Sealers (*Gruppe D*) zeigte gleiche pH-Werte wie bei *Gruppe A* und *C*. Im Gegensatz zu Sealapex und Apexit war der pH-Wert niedriger und blieb konstant (Graphik 5.2).

Ein Anstieg des pH-Werts ist während der Reparaturvorgänge, die durch Ossifikation geprägt sind, für die Aktivität der Hydrolase in Osteoklasten unvorteilhaft, da sie dadurch in ihrer Aktivität gehemmt werden. Ihr optimaler pH-Wert liegt zwischen pH 5 und pH 5,5 [Vaes 1969]. Ein alkalischer pH-Wert kann alkalische Phosphate aktivieren, die eine wichtige Rolle in der Knochenbildung spielen. Der pH-Wert des experimentellen Sealers war im Gegensatz zu den calciumhaltigen Sealern in allen Testgruppen niedriger. Dies könnte einen positiven Effekt auf den biologischen Knochenanbau am *Foramen apicale* haben.

VI 5. Dimensionstabilität

Eine erfolgreiche endodontische Therapie sollte eine komplette Obturation des Wurzelkanalsystems voraussetzen. Man weiß, dass der Sealer ein sehr wichtiger Bestandteil der Wurzelkanalfüllung ist, da er zu einer dreidimensionalen Obturation des Wurzelkanals führt. Eine inkomplette Obturation kann eine wichtige Ursache für postendodontische Probleme sein. Daraus folgt, dass Sealer den Wurzelkanalraum mit den angrenzenden Makro- und Mikrokanälen versiegeln sollen. Außerdem sollten Sealer den Raum zwischen Guttaperchastiften und Kanalwänden ausfüllen, um ein Durchsickern von Gewebeflüssigkeiten und Mikroorganismen zu verhindern.

Volumenänderungen eines Sealers können die Zwischenräume von Sealer und Dentin oder Sealer und Guttaperchastiften ausfüllen. Dies soll eine Ausbreitung von Mikroorganismen entlang der Kanäle vermeiden. Die Dimensionsstabilität ist deshalb ein wichtiger Faktor, um die Funktion eines Sealer zu beurteilen [Ørstavik et al. 2001].

Die Ergebnisse von Messungen der volumetrischen Expansion gaben Aufschluß, dass Sealapex im Vergleich zu den anderen Sealern ein atypisches Verhalten zeigt. Ein Molekül Calciumoxid reagiert mit einem Molekül Wasser zu Calciumhydroxid. Diese chemische Verbindung verursacht eine Volumenexpansion [Hendra 1970]. AH Plus wies nach 3 Wochen eine Volumenexpansion von 0,3 % auf und war danach konstant. Apexit zeigte eine geringe Kontraktion in den ersten 2 Wochen (-0,32%) gefolgt von einer Stufenweisen Zunahme bis 0,17% in der vierten Woche. Der experimentelle (CaO₂)-haltige Sealer zeigte eine Expansion von 3,9% und blieb nach 2 Wochen konstant (Graphik 6). Allgemein kann gesagt werden, dass das physiologische Hindernis des Wurzelkanals ein Eindringen von Bakterien aus der Mundhöhle verhindert. Aus diesem Grund sollten Sealer eine volumetrische Stabilität oder nur eine geringe Volumenzunahme zeigen.

Die beschriebene Dimensionsstabilität und die geringe Löslichkeit des experimentellen (CaO₂)-Sealers sind eine mögliche Erklärung für die signifikant niedrige Farbstoffpenetration verglichen mit den anderen untersuchten Sealer.

VI 6. Farbstoffpenetrationstest

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde die apikale Abdichtung von extrahierten menschlichen Zähnen mit Hilfe eines Farbstoffpenetrationstests gemessen. Verschiedene Methoden sind beschrieben worden, um die Dichtigkeit von endodontischen Füllmaterialien festzustellen. Die durchgeführten Experimente beziehen sich auf bereits verwendete Methoden [Cherng et al. 2001]. Dabei zeigt der Farbstoffpenetrationstest ein Durchsickern von Mikroorganismen, Endotoxinen und Toxinen mit niedermolekularem Gewicht [Ahlberg et al. 1995]. Hierbei wird nur die relative Dichtigkeit der Wurzelkanalfüllung *in-vitro* gemessen. Eine Aussage von der Fähigkeit eines Sealers, das Durchdringen von Bakterien in Wurzelkanäle *in vivo* zu verhindern, kann nicht getroffen werden [Sriwalee et al. 1992, Timpawat et al. 2001].

Die Untersuchungen zeigten in allen Probestücken eine unterschiedliche apikale Farbstoffpenetration. Die Tiefe der Farbstoffpenetration ist abhängig von den Eigenschaften eines Sealers. Insgesamt erstreckte sich die durchschnittliche Tiefe der Farbstoffpenetration zwischen ca. 1,0 und 2,5 mm. Vorhergehende Studien berichteten über Penetrationstiefen zwischen 1,0 und 7,7 mm unter identischen experimentellen Bedingungen [Gencoglu et al. 2002, De Almeida et al. 2000]. Somit entsprach die Tiefe der Farbstoffpenetration in dieser Studie weitgehend den Werten anderer Arbeitsgruppen.

Die apikale Abdichtung des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers war mit AH Plus vergleichbar. Beide Sealer zeigten erheblich bessere Ergebnisse als Sealapex und Apexit (Tabelle 7.1). Dies beruht auf unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften der Wurzelkanalsealer und erklärt somit die Unterschiede der Mikropenetration. Bei Sealapex ist eine starke Mikropenetration zu verzeichnen, da dieser Sealer vermutlich eine hohe

Löslichkeit dieses Materials besitzt [Berbert et al. 2002]. Im Gegensatz zum kunstharzbasierten Sealer (AH Plus) zeigt Sealapex während des Untersuchungszeitraums eine beträchtliche Auflösung von Ca^{2+} und OH^- [Østravik 1983]. Die Auflösung der Sealer ist mit vorteilhaften Effekten verbunden, unter anderem antibakterielle Effekte, Auflösung von nekrotischen Geweberesten und Endotoxinhydrolyse. [Hasselgren et al. 1988, Safavi et al. 1994, Tronstad et al. 1988]. Aber auch Volumenänderungen der Sealer spielen für die apikale Mikropenetration eine wichtige Rolle. Im Allgemeinen stellt die physikalische Obturation des endodontischen Raums gegen das Eindringen von Bakterien die wichtigste Aufgabe einer Wurzelkanalfüllung dar [Sundquist et al. 1998]. Deshalb sollten Sealer volumenstabil sein oder eine geringe Expansion zeigen [Østravik et al. 2001]. Konventionellen Sealer besitzen große Unterschiede in der Dimensionsstabilität nach der Abbindezeit [Østravik et al. 2001, Kirkevang et al. 2000].

In dieser Studie zeigte Apexit eine geringe Kontraktion nach 4 Wochen, während AH Plus eine Expansion um 1,2% aufwies und zu einer besseren apikale Abdichtung führte. Dies scheint auf einer unterschiedlichen Dimensionsstabilität beider Materialien zu beruhen. Die Abdichtung des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers war vergleichbar mit der AH Plus.

VI 7. Antimikrobielle Wirkungen

Es gibt verschiedene Methoden, um die antibakteriellen Effekte von Sealer und intrakanalären Medikamenten zu beobachten. In dieser Studie wurden zwei Methoden angewendet: der Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten und der Agardiffusionstest.

Die beiden Methoden konnten mit unterschiedlichen Bakterienspezies und Pilzspezies durchgeführt werden. Es zeigte sich jedoch, dass die Überlebensrate der Erreger in den Dentintubuli von unterschiedlichen Spezies stark variierte.

Aus verschiedenen Gründen wurden *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguinis* und *Candida albicans* für die Untersuchungen ausgewählt: zum einen sind sie die am besten untersuchte Spezies, welche eine hohe Resistenz gegen die mechanische Aufbereitung und antiseptische Mittel besitzen, zum anderen können ihre Enzymprodukte eine Infektion aufrechterhalten und den Abbruch der Wurzelkanalbehandlung verursachen.

Für den Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten wurde ein experimentelles Wurzelkanalmodell eingesetzt. Es wurden Dentinspäne gesammelt und die Bakterienzahl durch Messung der optischen Dichte des Bakterienkulturmediums quantifiziert. Der Keimträgerversuch bietet experimentelle Bedingungen, die der klinischen Situation in endodontisch behandelten Zähnen entsprechen. Für die Untersuchungen wurden Bakterien verwendet, die am häufigsten Wurzelkanalinfektionen verursachen. Diese Bakterien sind vor allem in den tieferen Dentintubuli lokalisiert. Durch ihre bevorzugte Lokalisation können sie vor der Applikation intrakanalärer Medikamente geschützt sein. Ein weiterer Hinweis für das Überleben von Bakterien im Wurzelkanal ist die Ausbildung einer Resistenz. Diese zwei Aspekte spielen eine wichtige Rolle für die Entstehung von Wurzelkanalinfektionen.

In den Untersuchungen wurden Nickel-Titan Instrumente verwendet, um Dentinspäne von der Kanalwand der Zähne zu entfernen und schließlich den antibakteriellen Effekt zu bestimmen. Safavi hat in seiner histologischen Studie gezeigt, dass *Enterococcus faecalis* im Mittel 50µm bis 100µm in die Dentintubuli penetriert, bis zu einer maximalen Penetration von 300 µm. In der vorliegenden Arbeit wurde 9%-ige EDTA Lösung benutzt, um zuvor Schmierchicht zu entfernen [Safavi et al. 1990].

In den Wurzelkanäle applizierte calciumperoxidhaltige Sealer und calciumperoxidhaltigen Mischungen waren gegen alle Mikroorganismen wirkungsvoll (Graphik 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5). Calciumoxid-,

calciumhydroxidhaltigen Mischungen und Sealapex führten zu einer vollständige Beseitigung von *Escherichia coli*, hatten aber auf *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguinis* und *Staphylococcus lentus* keinen Effekt. AH Plus zeigte bei *Escherichia coli* und *Streptococcus sanguinis* antimikrobielle Eigenschaften. Apexit hatte keine antibakteriellen Effekt.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von Ørstavik und Haapasalo überein. Sie berichteten ebenfalls von einer geringen antibakteriellen Wirkung von Calciumhydroxid auf *Enterococcus faecalis* in Dentintubuli [Ørstavik et al. 1990].

Es konnte aber gezeigt werden, dass die antibakteriellen Effekte der intrakanalären calciumperoxidhaltigen Mischungen, verglichen mit Calciumhydroxid und Calciumoxid, erheblich stärker waren (Tabelle 8.1). Eine vollständige Beseitigung der Erreger konnte allerdings bei keinem Sealerpräparat beobachtet werden.

Nach der Aussage von Tobias ist der Agardiffusionstest die gängigste Methode zur Beurteilung antibiotischer Effekte von zahnmedizinischem Material [Tobias 1988]. Durch diese Test sollen antibakterielle Eigenschaften von endodontischen Sealermaterialen und Medikamenten der Wurzelkanalfüllung bestimmt werden. Ein großer Nachteil dieses Tests ist, dass er nicht zwischen bakteriostatischer und bakterizider Wirkung der untersuchten Substanzen unterscheiden kann. Zudem sind die im Agardiffusionstest beobachteten Effekte nicht allein von der Toxizität des untersuchten Materials auf die jeweiligen Mikroorganismen abhängig, sondern auch von seinem Diffusionsvermögen. Ein Material mit größerem Diffusionsvermögen wird demnach auch größere Hemmhöfe hervorrufen. Infolgedessen haben außer der direkten Toxizität auch das unterschiedliche Diffusionsverhalten der Sealermaterialien die Untersuchungsergebnisse beeinflusst. Weiterhin spielen andere Parameter wie

Inoculum-Größe, Inkubationszeit und der Kontakt des Materials zum Agar eine wichtige Rolle [Tobias 1988].

Der Agardiffusionstest verdeutlichte die antibakteriellen Effekte der drei calciumhaltigen Mischungen auf alle untersuchten Mikroorganismen. Calciumhydroxid- und calciumoxidhaltigen Mischungen waren gegen alle Mikroorganismen wirkungsvoll. Calciumperoxid- und calciumperoxidhaltigen Sealer zeigten einen geringfügig kleineren antimikrobiellen Effekt. Der Hemmhof bei *Enterococcus faecalis* war allerdings am größten. Sealapex hatte ebenfalls gute antimikrobielle Wirkungen. AH Plus zeigte wenig antibakterielle Effekte und war gegen *Enterococcus faecalis* wirkungslos. Apexit hatte auf *Escherichia coli* und *Candida albicans* keine antimikrobielle Wirkung Graphik 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5). Die untersuchten Sealer zeigten unterschiedliche Änderungen der Agardichte an der Kontaktstelle des Materials zum Agar, was auf eine Diffusion der verschiedenen Sealerbestandteile hinweist.

Mehrere Studien haben nachgewiesen, dass Calciumhydroxid nicht in der Lage ist, Bakterien innerhalb der Dentintubuli zu eliminieren. Ørstavik und Haapasalo berichteten, dass die Calciumhydroxidpaste nicht einmal oberflächlich *Enterococcus faecalis* aus den Dentintubuli eliminieren konnte [Haapasalo et al. 1987]. Safavi zeigte, dass auch nach relativ langen Behandlungszeiten von Calciumhydroxid in Kochsalzlösung *Enterococcus faecalis* in den Dentintubuli verblieb [Safavi et al. 1999]. Ørstavik und Haapasalo beobachteten, dass es bis zu zehn Tage dauern kann, bis Calciumhydroxid bakterienbesiedelte Dentintubuli desinfiziert [Ørstavik et al. 1990]. Heling stellte fest, dass Calciumhydroxid gegen *Enterococcus faecalis* innerhalb der Dentintubuli keinerlei antibakterielle Wirkung besitzt und damit eine Sterilisation des Dentins sowie die Prävention einer sekundären Infektion nicht erreicht werden kann [Heling et al. 1992]. Siqueira und Uzeda beschrieben, dass Calciumhydroxid mit steriler Kochsalzlösung auch nach einer Woche nicht in der Lage ist, *Enterococcus faecalis* und *Fusobacterium nucleatum* in den Dentintubuli zu

eliminieren [Siqueira et al. 1996]. Auch neuere Studien konnten bestätigen, dass sich *Enterococcus faecalis* in Dentintubuli resistent gegen Calciumhydroxid verhält [Weiger et al. 2002].

Es gibt Hinweise dafür, dass Dentin und verschiedene Gewebekomponenten antibakterielle Wirkungen von Medikamenten, wie zum Beispiel von Calciumhydroxid, neutralisieren können. Portenier hat die Hemmung der antibakteriellen Wirkung von drei Medikamenten miteinander verglichen. Diese Hemmung erfolgte durch Dentin, Hydroxylapatit und bovines Serumalbumin. Dabei zeigte sich, dass Calciumhydroxid in Gegewart aller drei organischen und anorganischen Komponenten inaktiviert wurde [Portenier et al. 2001]. Haapasalo überprüfte die Hemmung der antibakteriellen Wirkung durch Dentin auf *Enterococcus faecalis*. Dentinpulver hatte auf alle getesteten Substanzen einen inhibitorischen Effekt. Calciumhydroxid zeigte in Anwesenheit von Dentinpulver keinerlei Wirkung mehr gegen diesen Keim [Haapasalo et al. 2000].

Um gezielt auf Mikroorganismen in Dentintubuli eine effektive Wirkung auszuüben, müssten Hydroxylionen von Calciumhydroxid in das Dentin diffundieren und eine ausreichende Konzentration erreichen. Als Protonendonator von H_2PO_4 , H_2CO_3 und HCO_3 aus dem Hydroxylapatit verfügt Dentin über Pufferkapazitäten, die den pH-Wert unverändert halten können [Nerwic et al. 1993]. Um eine ausreichende antibakterielle Wirkung in den Dentintubuli erzielen zu können, müsste die Ionendiffusion des Calciumhydroxids die Pufferkapazität des Dentins überschreiten, um auf diesem Weg pH-Werte zu erreichen, die eine zuverlässige Zerstörung der Mikroorganismen gewährleisten. Nach kurzzeitiger Calciumhydroxideinlage werden letale Level an Hydroxylionen nur an den Eingängen der Dentintubuli erreicht. Dies erklärt die Ineffizienz von Calciumhydroxid bei der Desinfektion der gesamten Dentintubuli.

Die Zusammensetzung der Mikroorganismen an der Wurzelkanalwand kann die Wirkung des Calciumhydroxids herabsetzen, da am Rand und in Dentintubuli lokalisierte Bakterien das Eindringen von Calciumhydroxyd in die Tubuli verhindern können [Siqueira et al. 1996].

Mikroorganismen, die nekrotisches Gewebe in Ramifikationen, Isthmi und Irregularitäten des Wurzelkanals kolonisieren, werden ebenfalls durch eine Neutralisierung des pH-Werts vor der Wirkung des Calciumhydroxids geschützt. Durch eine kurzzeitige Calciumhydroxideinlage werden daher im wesentlichen Bakterien ausgeschaltet, die in direkten Kontakt mit der Substanz geraten, das heißt die Keime, die sich im Wurzelkanal und im direkt angrenzenden zirkumpulpalen Dentin befinden.

Neben der Inaktivierung durch Dentin und andere Gewebekomponenten konnte nachgewiesen werden, dass bestimmte Bakterienspezies resistenter gegen diese Substanz sind als andere. Einige dieser resistenten Mikroorganismen, beispielweise *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* und *Actinomyces radicidentis* wurden häufig in Fällen fehlgeschlagener endodontischer Behandlungen isoliert.

Obwohl *Enterokokken* normalerweise nicht oder nur in geringen Mengen vor der endodontischen Therapie anzutreffen sind, gibt es Hinweise, dass sie in Fällen endodontischer Misserfolge eine bedeutende Rolle spielen. Molander untersuchte den mikrobiellen Status in 100 Fällen wurzelkanalbehandelter Zähne mit Parodontitis apicalis. *Enterokokken* wurden in 32% der Fälle gefunden [Molander et al. 1998]. Unter ähnlichen Bedingungen isolierte Sunqvist *Enterococcus faecalis* aus 38% der Wurzelkanäle [Sundqvist et al. 1998].

Pilze wurden gelegentlich in primären Wurzelkanalinfektionen entdeckt, und auch in Fällen fehlgeschlagener Therapie wurden sie bereits nachgewiesen. Waltimo berichtet über einen positiven Pilznachweis in 7% der untersuchten

Fälle persistierender Wurzelkanalinfektionen, alleine oder in Kombination mit weiteren Bakterien [Waltimo et al. 1997].

Der Sealer AH Plus lieferte im Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten und im Agardiffusionstest gleiche Ergebnisse. AH Plus hatte gute antibiotische Wirkungen gegen den gramnegativen Keim *Escherichia coli* und den grampositiven Keim *Streptococcus sanguinis*. Dieses Resultat kann mit den Epoxidbisphenol Harzbestandteilen von AH Plus zusammenhängen.

Calciumperoxidhaltige Sealer und calciumperoxidhaltigen Mischungen waren gegen alle geprüften Mikroorganismen wirkungsvoll. Die Materialien führten zu einer Eliminierung aller Mikroorganismen in den Dentintubuli und zeigten eine effiziente Wachstumshemmung im Agardiffusionstest.

Eine mögliche Erklärung für eine desinfizierende Wirkung von Calciumperoxid in Dentintubuli ist, dass bei Kontakt von CaO_2 mit wässrigen Flüssigkeiten Calciumhydroxidionen, Sauerstoff und wiederum CaO_2 entsteht, welches erneut mit Wasser reagieren kann (Verhältnis $\text{CaO}_2:\text{Ca}(\text{OH})_2$ 5:1) [Riedel 1994].

Bei dieser chemischen Reaktion entsteht ein pH-wert von ca. 10.8 (sofort nach dem Mischen). Sauerstoff eliminiert anaerobe Mikroorganismen, die in der Peripherie der Dentintubuli zu finden sind. Sauerstoff dient Calcium- und Hydroxidionen innerhalb der Tubuli tiefer einzudringen. Auf Kontakt mit bakteriellen Säuren, produziert Calciumperoxid Wasserstoffperoxid, das in Verbindung mit Gewebe und bestimmten Chemikalien physikalisch Debris aus der Kanal schäumt. Peroxide induzieren die Lipidoxidation und die daraus resultierende Zerstörung der Phospholipide, der Hauptstruktur der Zellmembran. Hydroxylionen entfernen Atome von ungesättigten Fettsäuren und schaffen so ein freies Fettsäureradikal. Dieses freie Radikal reagiert mit Sauerstoff und bildet ein Lipid-Peroxid-Radikal, das wiederum eine weitere Hydroxygruppe von einer zweiten Fettsäure entfernt und damit eine weitere oxidierte Fettsäure bildet. Auf diese Weise agieren Peroxide als freie Radikale, die eine autokatalytische Kettenreaktion initiieren und einen weiteren Verlust

ungesättigter Fettsäuren sowie extensive Membranschäden verursachen [Halliwell 1987, Cotran et al. 1999].

Als Schlussfolgerung der vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Calciumperoxid (CaO_2), Calciumhydroxid (Ca(OH)_2) und Calciumoxid (CaO) starke antibakterielle Eigenschaften besitzen. Die Verwendung von Calciumperoxid als intrakanaläres Medikament, verglichen mit Calciumoxid und Calciumhydroxid, hatte gegen die untersuchten Mikroorganismen ein größeres Wirkungsspektrum. Dabei konnten vor allem antibiotische Effekte gegen *Enterococcus faecalis* und *Candida albicans* nachgewiesen werden.

VII ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden *in-vitro* Studie wurden die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften eines experimentellen Calciumperoxidhaltigen Sealermaterials und die von drei verschiedenen konventionellen Sealermaterialien (Apexit, Ivoclar Vivadent; AH Plus, Dentsply DeTrey; Sealapex, Kerr Sealapex) untersucht.

Die statistische Auswertung der physikalischen und biologischen Eigenschaften ergab:

1. **Abbindezeit.** Der experimentelle calciumperoxidhaltige Sealer besitzt eine ausreichende Abbindezeit von 137,5 Minuten unter standardisierten Testbedingungen (*ISO 6876*).
2. **Fließverhalten.** Die Ergebnisse nach der *ISO* Methode (*ISO 6876*) zeigen, dass der experimentelle calciumperoxidhaltige Sealer (53,09 mm) und AH Plus (49,39 mm) eine höheres Fließverhalten haben als Sealapex (38,89 mm) und Apexit (45,45 mm).
3. **Löslichkeit.** Der empfohlene Löslichkeitswert für Sealer beträgt 3% (*Britisches Standart BS 6934 1988*). Der Löslichkeitswert des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers (2,75%) entsprach dieser Vorgabe.
4. **Wasseraufnahme.** Zur Vermeidung einer Reinfektion des Wurzelkanals sollten Wurzelkanalsealer formstabil und porenfrei sein. Die Wasseraufnahme während eines 4 wöchigen Zeitraumes nahm in folgender Reihenfolge zu: AH Plus 0,37% (*Gruppe B*) < experimenteller (CaO₂)-haltigen Sealer 2,13% (*Gruppe D*) < Sealapex 2,46% (*Gruppe A*) < Apexit 9,47% (*Gruppe C*).

5. **pH-Wert.** Ziel dieser Studie war es, pH-Werte des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers mit denen der drei anderen konventionellen Sealer (Sealapex, Apexit und AH Plus) über einen Zeitraum von 6 Monaten zu vergleichen. Der pH-Wert des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers war im Gegensatz zu den calciumhaltigen Sealer in allen Testgruppen niedriger und blieb konstant. Dies könnte einen positiven Effekt auf den biologischen Knochenanbau am *Foramen apicale* haben.

6. **Dimensionsstabilität.** Eine erfolgreiche endodontische Therapie sollte eine komplette Obturation des Wurzelkanalsystems voraussetzen. Aus diesem Grund sollten Sealer eine volumetrische Stabilität oder nur eine geringe Volumenzunahme zeigen. Der experimentelle calciumperoxidhaltige Sealer zeigte eine Expansion von 3,9% und blieb nach 2 Wochen konstant.

7. **Farbstoffpenetrationstest.** Die Dichte des experimentellen calciumperoxidhaltigen Sealers (1,1 mm) war mit der von AH Plus (0,97 mm) nahezu identisch. Beide Sealer zeigten erheblich bessere Ergebnisse als Sealapex (1,3 mm) und Apexit (2,35 mm).

8. Die antimikrobielle Wirkung der 7 untersuchten Sealers und temporalen Einlagen zeigte sowohl im Agardiffusionstest als auch im Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten deutliche Unterschiede.

9. **Agardiffusionstest.** Calciumhydroxid- und calciumoxideinlagen waren gegen alle Mikroorganismen wirkungsvoll. Calciumperoxidhaltige Einlagen und calciumperoxidhaltige Sealers zeigten einen geringfügig kleineren antimikrobiellen Effekt. Der Hemmhof bei *Enterococcus faecalis* war am größten. Sealapex hatte ebenfalls gute antimikrobielle Wirkungen. AH Plus zeigte wenig antibiotische Effekte und war gegen *Enterococcus faecalis*

wirkungslos. Apexit hatte auf *Escherichia coli* und *Candida albicans* keine antimikrobielle Wirkung.

10. Keimträgerversuch an humanen Zahnpräparaten. An humanen Zahnpräparaten applizierte calciumperoxidhaltige Sealer und calciumperoxidhaltige Einlagen waren gegen alle verwendete Mikroorganismen wirkungsvoll. Calciumoxid- und calciumhydroxidhaltige Einlagen und Sealapex führten zu einer Beseitigung von *Escherichia coli*, hatten aber auf *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguinis* und *Staphylococcus lentus* keinen Effekt. AH Plus zeigte bei *Escherichia coli* und *Streptococcus sanguinis* antimikrobielle Eigenschaften. Apexit hatte keinen antibakteriellen Effekt.

11. Zusammenfassend waren calciumperoxidhaltige Sealer und Einlagen gegen alle geprüften Mikroorganismen wirkungsvoll. Die Materialien führten zu einer Eliminierung aller Mikroorganismen in den Dentintubuli und zeigten eine effiziente Wachstumshemmung im Agardiffusionstest.

12. Die antibakteriellen Experimente zeigen, dass der calciumperoxidhaltige Sealer und Einlage für eine Behandlung von infizierten Wurzelkanälen geeignet ist.

13. Die Verwendung von Calciumperoxid als Wurzelkanalfüllung, verglichen mit Calciumoxid und Calciumhydroxid, hatte auf die untersuchten Mikroorganismen ein größeres Wirkungsspektrum. Dabei konnten vor allem antibiotische Effekte gegen *Enterococcus faecalis* und *Candida albicans* nachgewiesen werden.

14. Vor einem möglichen klinischen Einsatz von Calciumperoxid als neue Wurzelkanalsealer und temporale Einlage müssen die toxikologischen Eigenschaften und die Bioverfügbarkeit untersucht werden.

15. Diese Studie stützt sich allein auf *in-vitro*-Untersuchungen. Für die Anwendung von Calciumperoxid *in vivo* sollten klinische Studien folgen.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

1. Ahlberg KM, Assavanop P, Tay WM. A comparison of the apical dye penetration patterns shown by methylene blue and india ink in root-filled teeth. *Int Endod J.* 1995;28:30-4.
2. Andersen M, Lund A, Andersen JO, Andersen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol.* 1992; 8: 104-8.
3. Auterhoff H, Knabe J, Höltje HD. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie.* Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, Stuttgart, 1991.
4. Berbert FLCV, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Barmante CM. Influence of root canal dressings and sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;93:184-189.
5. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985;18:35-40.
6. Byström A. Claessen R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorphenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Tarumotol.* 1985;5:170-5.
7. Camps J, About I. Cytotoxicity testing of endodontic sealers: a new method. *J Endod.* 2003;29:583-6.
8. Cherng AM, Chow LC, Takagi S. In vitro evaluation of a calcium phosphate cement root canal filler/sealer. *J Endod.* 2001;27:613-5.
9. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of disease.* &. Aufl., Saunders, Philadelphia, 1999.
10. De Almeida WA, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB. Evaluation of apical sealing of three endodontic sealers. *Int Endod J.* 2000;33:25-27.
11. Doran MG, Radtke PK. A review of endodontic medicaments. *Gen Dent.* 1988;46:484.

12. Ebert J, Loeffler H, Zeis H, Petschelt A. Sealing Ability of RoekoSeal-Automix under different conditions. Posterpräsentation, ESE-Kongreß, Göteborg, Schweden, 1997.
13. Fehr B, Huwyler T, Wüthrich B. Formaldehyd- und Paraformaldehydallergie. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 1992;102:94-7.
14. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982;47:412-24.
15. Gambarini G, Andreasi-Bassi M, Bolognini G, Testarelli L, Nocca G, Ceccarelli L, Scatena R, Lupi A, Castagnola M. Cytotoxicity of a new endodontic filling material. Aust Endod J. 2003;29:17-9.
16. Gencoglu N, Garip Y, Bas M, Samani S. Comparison of different gutta-precha root filling techniques: Thermafil, Quick-Fill, System B, and lateral condensation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;93:333-6.
17. Gentleman BH, Messer H, ElDeeb M. Adhesion of sealer cements to dentin with and without the smear layer. J Endod. 1991;17:15-20.
18. Grade AC. Eugenol in Wurzelkanalzementen als mögliche Ursache für eine Urtikaria. Endodontie 1995;102:9-11.
19. Grossman LI. Physical properties of root canal cements. J Endod. 1976;2:166-75.
20. Guigand M, Pellen-Mussi P, Vulcain JM, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of the cytocompatibility of three endodontic materials. J Endod. 1999;25:419-23.
21. Gutmann LJ, Witherspoon DE. Obturation of cleaned and shaped root canal system. In: Cohen S, Burns RC, eds. Pathways of Pulp, 7th edn. 264. St.Louis, USA: Mosby, 1998.
22. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TMT, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local canal medicaments by dentine: an in vitro study. Inter Endod J. 2000;33:126-31.

23. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66:1375-9.
24. Halliwell B. Oxidans and human diseases: some new concepts. *FASEB Journal.* 1987;1:358-64.
25. Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod.* 1988;14:125-127.
26. Heithersay SG. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *J Br Endod Soc.* 1975;8:74-92.
27. Heling I, Steinberg D, Kenig S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedmann M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int Endod J.* 1992;25:20-4.
28. Hendra LP. Biocalex: a new approach to endodontia dependent upon biological principles and chemical action only. *J Br Endod Soc.* 1970;4:37-41.
29. Hermann BW. Calciumhydroxid als mittel zum Behandeln und Füllen von Wurzelkanälen. *Med Diss.* Würzburg, 1920.
30. Huumonen S, Lenander-Lumikari M, Sigurdsson A, Østravik D. Healing of apical periodontitis after endodontic treatment: a comparison between a silicone-based and zinc oxide-eugenol-based sealer. *Int Endod J.* 2002;36:296-301.
31. Kirkevang LL, Østravik D, Hørsted-Bindslev P, Wenzel A. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in a Danish population. *Int Endod J.* 2000;33:509-15.
32. Klinger G, Glockmann E, Gruhn I, Lang G. Bacteriological studies during conservative treatment of periapical inflammations. *Stomatol DDR.* 1975;25:801-8.
33. Kobayashi A. Asymptomatic aspergillosis of the maxillary sinus associated with foreign body of endodontic origin – report of a case. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1995;24:243-4.
34. Lange G. *Med. Habil.-Schrift.* Leipzig 1961.

35. Langeland K, Olsson B, Pascon E. Biological evaluation of Hydron. *J Endod.* 1981;7:196-204.
36. Matsumiya S. The conditions for a histological cure of periapical osteitis after root canal therapy. *Dtsch Zahnärztl Z.* 1955;10:519-28.
37. Matsumoto K, Inoue K, Matsumoto A. The effect of newly developed root canal sealers on rat dental cells in primary culture. *J Endod.* 1989;15:60-7.
38. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiologocal status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31:1-7.
39. Nerwich A, Figgdr D, Messer HH. pH changes in root dentine over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod.* 1993;19:302-6.
40. Oguntebi BR. Dentine tubule infection and endodontic therapy implications. *Int Endod J.* 1994;27:218-22.
41. Ono K, Matsumoto K. Physical properties of CH 61, a newly developed root canal sealer. *J Endod.* 1998;4:244-7.
42. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressing of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6:142-9.
43. Ørstavik D, Hongslo JK. Mutagenicity of endodontic sealers. *Biomaterials.* 1985;129-32.
44. Ørstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. Clinical performance of three endodontic sealers. *Endod Dent Traumol.* 1987;3:178-86.
45. Ørstavik D, Nordahl I, Tibbalis JE. Dimensional change following setting of root canal sealer materials. *Dent Mat.* 2001;17:512-9.
46. Ørstavik D. Weight loss of endodontic sealers, cements and pastes in water. *Scand J Dent Res.* 1983;91:316-9.
47. Owadally ID, Chong BS, Pitt Ford TR, Watson TF. The sealing ability of IRM with the addition of hydroxyapatite as a retrograde root filling. *Endod Dent Traumol.* 1993;9:211-5.

48. Owadally ID, Pitt Ford TR. Effect of addition of hydroxyapatite on the physical properties of IRM. *Int Endod J.* 1994;27:227-32.
49. Pecchioni A. Die Wurzelkanalbehandlung. Quintessenz Verlags-GmbH, 1982.
50. Pierlot C, Nardello V, Schrive J, Mabille C, Barbillat J, Sombret B, Aubry JM. Calcium peroxide diperoxohydrate as a storable chemical generator of singlet oxygen for organic synthesis. *J Org Chem.* 2002;8:2418-23.
51. Pluim LJ, Arends J. The relationship between salivary properties and in vivo solubility of dental cements. *Dent Mater.* 1987;3:13-8.
52. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J.* 2001;34:184-8.
53. Qualitätsrichtlinien endodontischer Bahandlung. *Endodontie.* 1994; 4:263-76.
54. Rappaport HM, Lilly GE, Kapsimalis P. Toxicity of endodontic filling materials. *J Oral Surg.* 1964;18:785-802.
55. Remy H. Lehrbuch der Anorganischen Chemie. Band I. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G, 1960.
56. Riedel E. Anorganische Chemie. Berlin u.a. de Gruyter, 1994.
57. Safavi KE, Nicholls FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod.* 1994;20:127-9.
58. Safavi KE, Spangberg LSW, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod.* 1990;16:207-10.
59. Schäfer E. Wurzelkanalfüllmaterialien. *Stomatologie.* 2000;3:73-85.
60. Schröder U. Effects of calcium hydroxide containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res.* 1985;64:541-8.
61. Schroeder A. Mitteilungen über die Abschlußdichhtigkeit von Wurzelfüllmaterialien und erster Hinweis auf ein neuartiges Wurzelfüllmittel. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 1954;64:921-31.

62. Schweikl H, Schmalz G. Evaluation of the mutagenic potential of root canal sealers using the *Salmonella*/microsome assay. *J Mater Sci Mater Med.* 1991;2:181-7.
63. Siqueira JF jr, Lopes HP, Uzeda M. Atividade antibacteriana de medicamentos endodonticos sobre bacterias anaerobias estritas. *Revista da APCD.* 1996;50:326-32.
64. Siqueira JF jr, Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22:674-6.
65. Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32:361-9.
66. Smith CS, Setchell DJ, Harty FJ. Factors influencing the success of conventional root canal therapy – a five-year retrospective study. *Int Endod Journal.* 1993;26:321-33.
67. Spangberg LSW, Barbosa SV, Lavigne GD. AH26 releases formaldehyd. *J Endodont.* 1993;19:596-8.
68. Sriwalee L, Abbott PV, Sandler AB. Apical dye penetration with four root canal sealers and gutta-percha using longitudinal section. *J Endod.* 1992;11:535-39.
69. Staehle H. Calciumhydroxid in der Endodontie. *Endodontie* 1992; 1:19-34.
70. Sundqvist G, Figdor D, Østravik D, Pitt-Ford TR. Endodontic treatment of apical periodontitis. *Blackwell Science.* 1998;242-77.
71. Sundqvist G. Endodontic microbiology. *Experimental Endodontics.* CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 131-53.
72. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologocal analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1998;85:86-93.
73. Tai KW, Huang FM, Huang MS, Chang YC. Assessment of the genotoxicity of resin and zinc-oxide eugenol-based root canal sealers using an in vitro mammalian test system. *J Biomed Mater Res.* 2002;59:73-77.

74. Tanzilli JP, Nevins AJ, Borden BG. The reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants filled with Hydron or gutta-percha. *Oral Surg Oral Med Pathol.* 1983;55:507-13.
75. Tepel J, Darwisch M, Hoppe W. Reaction of inflamed periapical tissue to intracanal medicaments and root canal sealers. *Endod Dent Traumatol.* 1994;10:233-8.
76. Thoden van Velzen SK, Genet PR, Kersten HW, Moorer WR, Wesselink PR. *Endodontie.* 1988.
77. Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan WR. Bacterial coronal leackage after obturation with three root canal sealers. *J Endod.* 2001;27:36-9.
78. Tobias RS. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *Int Endod J.* 1988;21:155-60.
79. Tronstad L, Barnett F, Flax M. Solubility and biocompatibility of calcium hydroxide-containing root canal sealers. *Endod Dent Traumatol.* 1988;4:152-9.
80. Tsui-Hsien Huang, Chia-Tze Kao. PH Measurement of root canal sealers. *J Endod.* 1998;4:236-7.
81. Uhrich IM, Moser IB, Heuer MA. The rheology of selected root canal sealer cements. *J Endod.* 1978;4:373-9.
82. Vaes G. Lysosomes and the cellular physiology of bone resorption. IN: Dingle JL, Fell HB, eds. *Lysosomes in biology and pathology.* Amsterdam: North-Holland Publishing Co., 1969:210-53.
83. Waltimo TMT, Siren EK, Torkko HLK, Olsen I, Haapasalo MPP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:96-101.
84. Weiger R, de Lucena J, Decker HE, Löst C. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. *Int Endod J.* 2002;35:166-71.
85. Weine FS. Canal filling with semisolid materials. in: Weine FS.: *Endodontic therapy.* Mosby, St. Louis 1995;423-477.
86. Wesselink PR. Die Wurzelkanalfüllung (I). *Endodontie.* 1995;4:181-8.

87. Wrbas KT, Kielbassa AM, Hellwig E. Das Wasseraufnahmeverhalten verschiedener Wurzelkanalsealer. Dtsch Zahnärztl Z. 1998;53:146-50.
88. Zehnder M, Grawehr M, Hasselgren G, Waltimo T. Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;5:608-13.

IX ANHANG

IX 1. Danksagung

Diese Arbeit ist das Resultat der Einsatzbereitschaft zahlreicher Personen aus verschiedenen Universitäten und Ländern. Ich möchte mich bei all diesen Personen bedanken, auch bei jenen, deren Namen nicht explizit genannt sind.

Ganz besonders möchte ich meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Dr. M. Folwaczny für seine Unterstützung danken. Erst nach und nach wird mir die Tragweite der von ihm vermittelten wissenschaftlichen und persönlichen Erkenntnisse deutlich. Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht verwirklicht worden.

Herrn Prof. Dr. R. Hickel, Direktor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU München, danke ich herzlich für die Bereitstellung und Nutzungsmöglichkeit der Einrichtungen der Poliklinik und auch für das Vertrauen in meine Person.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie in München, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit immer wieder Ihre Unterstützung und Ihren Rat gegeben haben, möchte ich aufrichtig danken.

Meinen Eltern und meiner Großmutter möchte ich ganz besonders danken, die mir das Studium und den Aufenthalt in München ermöglicht haben und auf deren moralische Unterstützung ich stets zählen konnte. Ohne Sie wäre die vorliegende Arbeit nicht zustande gekommen.

Zuletzt möchte ich herzlich meiner Freundin für ihre Unterstützung und Geduld danken.

Дякую Мамі за добру дорогу. Твою любов і підтримку я відчував за тисячі кілометрів. Батькові за мудре слово і пораду.

Слава Богу.

IX 2. Lebenslauf

M A L Y K Y U R I Y

BERUFLICHES PROFIL

10.2003 - anno
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU)
Goethestr. 70, 80336, München
Wissenschaftliche Mitarbeiter

BERUFLICHE ERFAHRUNG

09.1999 - 09.2003
Institut für Medizine
Kiew, Ukraine
Wissenschaftliche Mitarbeiter

AUSBILDUNG

09.1998-08.1999
Akademie für postgraduale Weiterbildung
Kiew, Ukraine
Zertifikat N.1077
Zahnarzt

09.1991-06.1998
Nationalen Universität für Medizin
Kiew, Ukraine,
Zahnarztdiplom Nr. LM BE 004980
Zahnarzt

