

Diplomarbeit

**Antimikrobielle Wirksamkeit von Er:YAG-Laser,  
Dioden-Laser, Natriumhypochlorit und  
Chlorhexidin-Spülung gegen Enterococcus  
faecium**

eingereicht von

**Arno Kristian Schlapschy**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der Zahnmedizin**

**(Dr. med. dent.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit**

**Klinische Abteilung für Zahnerhaltung, Parodontologie und Zahnersatz**

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Dr.med.dent. Lumnije Kqiku-Biblekaj

Univ.Prof.Dr.Karl Glockner

Graz, am 16.10.2019

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 16.10.2019*

*Arno Kristian Schlapschy eh*

## **Danksagungen**

Ich möchte mich vor allem bei meinen Diplomarbeitsbetreuern Frau Priv.Doz.Dr. Lumnije Kqiku-Biblekaj und Herrn Univ.Prof.Dr. Karl Glockner für die großartige Unterstützung und Betreuung der Diplomarbeit danken.

Weiters möchte ich den Damen aus der AEMP meinen Dank aussprechen, die mir beim Sterilisieren der Wurzeln behilflich waren, sowie Frau OA Tamara Savic die mir seitens des Instituts für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie behilflich war. Ganz besonders möchte ich meiner Familie für die jahrelange Unterstützung und die stets offenen Ohren danken.

Des Weiteren gebührt meinen Freunden und Studienkollegen ein gebührender Dank, die die Zeit auf- sowie neben der Uni zu etwas ganz Besonderem gemacht haben.

## Zusammenfassung

Einleitung: Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob CHX, Natriumhypochlorit oder Laser besser gegen *Enterococcus faecalis* bzw. den Laborkeim *Enterococcus faecium* wirkt.

Material und Methoden: Es wurden 46 einwurzelige extrahierte Zähne auf ISO-Größe 45 aufbereitet, anschließend sterilisiert und mit dem *Enterococcus faecium*-Bakterium infiziert. Nach einer Woche Inkubationszeit wurden die eingebetteten Zähne mit den Spüllösungen Chlorhexidin und Natriumhypochlorit gespült bzw. mit Lasern behandelt (Diodenlaser, Erb:YAG-Laser). Nach einer weiteren Woche der Inkubation wurde eine mikrobiologische Untersuchung der Bouillonien vorgenommen.

Ergebnisse: Chlorhexidin hinterließ keimfreie Wurzelkanäle, während bei Wurzelkanälen, die mit Natriumhypochlorit gespült und mit den Lasern behandelt wurden, eine Reduktion der Keimzahl um eine Zehnerpotenz erreicht wurde.

Diskussion: Chlorhexidin sollte der Standard in der Spülung bei Wurzelkanalrevisionen sein.

## **Abstract**

**Introduction:** The aim of the study was to verify which endodontic disinfection procedures work best against enterococcus faecium.

**Material and Methods:** 46 extracted one-rooted teeth were used and prepared to ISO-45 and afterwards sterilized. Then they were inoculated with enterococcus faecium. One week later the teeth were rinsed with chlorhexidine, sodium hypochlorite and treated with the lasers (diode laser, Erb:YAG-Laser). After one week of incubation, a microbiological examination of the bouillons was performed.

**Results:** Chlorhexidine left a germ-free root canal, while the root canals which were rinsed with sodium hypochlorite and treated with the lasers showed a reduction of the number of enterococcus faecium by the power of ten.

**Conclusion:** Chlorhexidine should be the standard irrigant for endodontic retreatments.

# Inhaltsverzeichnis

Danksagungen .....	iii
Zusammenfassung .....	iv
Abstract .....	v
Inhaltsverzeichnis .....	vi
Glossar und Abkürzungen .....	viii
Abbildungsverzeichnis .....	ix
Tabellenverzeichnis .....	x
1 Einleitung .....	1
2 Laser .....	1
2.1 Historie des Lasers .....	1
2.2 Lasereigenschaften .....	2
2.3 Aufbau eines Lasers und Lasergrundlagen .....	2
2.4 Lasersicherheit .....	2
2.5 Laserarten .....	3
2.5.1 Diodenlaser .....	3
2.5.2 Erbium:YAG-Laser .....	5
3 Endodontologie .....	7
3.1 Pulpa .....	7
3.1.1 Anatomie der Pulpa bzw. des Pulpa – Dentin- Komplexes, Histologie und Physiologie der Pulpa .....	7
3.2 Pulpanekrose .....	9
3.3 Parodontitis apicalis .....	9
3.3.1 Chemische Aufbereitung .....	10
3.3.2 Natriumhypochlorit (NaOCl) .....	10
3.3.3 Chlorhexidin (CHX) .....	10
3.3.4 Kochsalzlösung (NaCl) .....	11
3.3.5 Chelatverbindungen .....	11
3.3.6 Alkohol .....	11
4 Mikrobiologie .....	12
4.1 Keime in der Endodontologie .....	12
4.1.1 Keime .....	12
4.2 Aufbau der Bakterien .....	12
4.2.1 Bakterieller Erbgut .....	12

4.2.2	Zellwand und Gramfärbung .....	13
4.2.3	Bakterien in der Endodontie .....	14
4.2.4	Enterokokken.....	15
4.2.5	Enterococcus faecalis.....	15
4.3	Bakterien Kultivierung .....	16
5	Material und Methoden.....	18
6	Ergebnisse .....	21
7	Diskussion.....	23
8	Konklusion.....	24
9	Literaturverzeichnis .....	25

## **Glossar und Abkürzungen**

Hz Hertz

$\lambda$  Wellenlänge

km Kilometer ( $10^3\text{m}$ )

mm Millimeter ( $10^{-3}\text{m}$ )

$\mu\text{m}$  Mikrometer ( $10^{-6}\text{m}$ )

nm Nanometer ( $10^{-9}\text{m}$ )

s Sekunde

spp. Spezies pluralis

W Watt

mW Milliwatt

$\mu\text{W}$  Mikrowatt

## **Abbildungsverzeichnis**

**Abb.1** Abb.1 Mikroskopische Aufnahmen von *Enterococcus faecalis* in Dentinkanälchen (Quelle; A. Moritz et al. Orale Lasertherapie 1.Auflage 2006,S 251-252)

**Abb.2** Schematische Darstellung der Gewebezonen der Pulpa nach Avery 1973 (Quelle; Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung 4. Auflage 2007 S 263)

**Abb.3** *Enterococcus faecalis* (Quelle; A. Moritz et al. Orale Lasertherapie 1.Auflage 2006,S 250)

**Abb.4** Versuchsreihe: Bouillonen mit den gespülten und behandelten Wurzeln

**Abb.5** Diodenlaser MASTER Lase (KAVO)

**Abb.6** Er:YAG (KAVO K.E.Y Laser)

**Abb.7** Grafische Darstellung Wirksamkeit der Spüllösungen gegen *Enterococcus faecium*

## **Tabellenverzeichnis**

**Tabelle 1:**Ergebnisse der Testreihen

# 1 Einleitung

Der *Enterococcus faecalis* ist der Problemkeim schlechthin in der Endodontie (Stuart et al. 2006). Am häufigsten ist er bei einer Sekundärinfektion zu finden. Standard in der konventionellen Endodontie ist die chemomechanische Wurzelkanalaufbereitung unter Verwendung von Natriumhypochlorit. Jedoch zeigt sich diese Spülflüssigkeit als nicht sonderlich wirksam gegenüber *Enterococcus faecalis* (Gomes et al. 2001). Chlorhexidin (CHX) ist der Goldstandard bei Revisionen (Siren et al. 2004, Vianna et al. 2004).

Auch Laser werden in der Endodontie zur Desinfektion empfohlen (Stabholz et al. 2004, Meire et al. 2012).

Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob CHX, Natriumhypochlorit oder Laser besser gegen *Enterococcus faecalis* bzw. den Laborkeim *Enterococcus faecium* wirkt. Zu Beginn dieser Arbeit werden die Geschichte der Laser in der Medizin, Eigenschaften von Lasern und Lasergrundlagen erläutert. Danach werden die Grundlagen der Endodontie erklärt. Weiters werden Grundlagen der Mikrobiologie, für die Endodontie relevante Bakterien und deren Kultivierung über Agarplatten behandelt.

## 2 Laser

### 2.1 *Historie des Lasers*

LASER ist die Abkürzung für **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation, was so viel heißt wie „Verstärkung von Licht durch stimulierte Aussendung von Strahlung.“

1917 wurde von Einstein mit der stimulierten Emission von Strahlen bereits die grundlegende Funktion des Lasers beschrieben (Einstein 1917). 1950 zeigte Charles Townes, dass eine außergewöhnliche Lichtquelle mit Hilfe stimulierter Emission gebaut werden kann (Townes C. 1950).

1960 wurde der erste Laser, ein Rubinlaser, von Maiman (Maiman 1960) vorgestellt, der die Urform aller modernen Laser war und der erste Laser, der an PatientInnen angewandt wurde. Seit Beginn der 1990er-Jahre finden verschiedene Lasersysteme vermehrt Einsatz in der Zahnmedizin (Moritz et al. 2006).

## **2.2 Lasereigenschaften**

Das Laserlicht besteht aus weitgehend monochromatischem Licht, das heißt, die Wellenlänge des ausgesandten Lichts liegt in einem extrem schmalen Bereich (siehe z.B. Er:YAG-Laser - 2940nm). Die Laserstrahlung kann je nach Lasertyp im infraroten, sichtbaren oder ultravioletten Spektralbereich liegen (Trautwein et al. 2004, Moritz et al. 2006).

## **2.3 Aufbau eines Lasers und Lasergrundlagen**

Ein Laser ist ein technisches Gerät, mit dem Laserstrahlen (elektromagnetische Wellen) erzeugt werden können. Grundsätzlich besteht jeder Laser aus einer Pumpe (Energiezufuhr), einem Lasermedium und einem Resonator (Spiegeln). Zur Anregung des laseraktiven Mediums werden unterschiedliche Energieformen, z.B. elektrische Energie, Lichtquanten, chemische Reaktionen usw., eingesetzt. Das Lasermedium bestimmt die Wellenlänge des Lichtes. Es kann ein Festkörper (Rubinkristall, Er: YAG-Kristall, Nd:YAG), ein Gas (Argon, CO<sub>2</sub>, HeNe) oder ein Halbleiter (Diodenlaser) sein. Der Resonator, eine Anordnung von Spiegeln, bewirkt eine kaskadenförmige Lichtverstärkung.

Die Lichtquanten laufen hierbei mehrmals durch das Medium.

Der Resonator bündelt das Licht räumlich und es entsteht eine räumlich - zeitliche Kohärenz = Laserstrahl (Trautwein et al.2004)(Moritz *et al.* 2006).

## **2.4 Lasersicherheit**

Die Laseranlage ist zertifiziert nach der europäischen Norm für die Sicherheit von Laserbearbeitungsmaschinen– DIN EN 1262 .2.4.

## **2.5 Laserarten**

### **2.5.1 Diodenlaser**

#### **2.5.1.1 Grundsätzliches zum Diodenlaser**

Der Diodenlaser erzeugt sein Licht durch Dioden, die aus Halbleitermaterialien bestehen. Es wird zwischen Softlaser, die eine maximale Leistung von 500 mW nicht überschreiten und Hardlaser, deren Leistung über 500 mW liegt, unterschieden. Das Spektrum des Diodenlasers befindet sich zwischen 635nm und 980nm (Moritz et al. 2006).

#### **2.5.1.2 Indikationen für den Diodenlaser**

Der Diodenlaser findet Anwendung in der Parodontologie, (Keimreduktion in parodontalen Taschen zur Photodynamischen Therapie), in der konservierenden Zahnheilkunde (Behandlung von Dentinhypersensibilitäten oder In-Office-Bleaching), wie auch in der Chirurgie (Wundheilungsstörungen, Weichgewebeschirurgie) (Moritz et al. 2006).

#### **2.5.1.3 Diodenlaser in der Endodontologie**

Seit den 1990er Jahren wird der Diodenlaser in der Zahnmedizin benützt. Seine bakterizide Wirkung erlaubt die Desinfektion von Wurzelkanälen (Moritz et al. 2006).

Aufgrund von seiner hohen Eindringtiefe kann er Bakterien in einer Distanz bis 500µm zerstören (Gutknecht et al. 2004). Hingegen wirken chemische Spülflüssigkeiten nur bis ca. 100µm (Moritz et al. 2006). In den Dentintubuli werden vereinzelt Bakterien im Abstand von 1000µm gefunden (Abb.1).

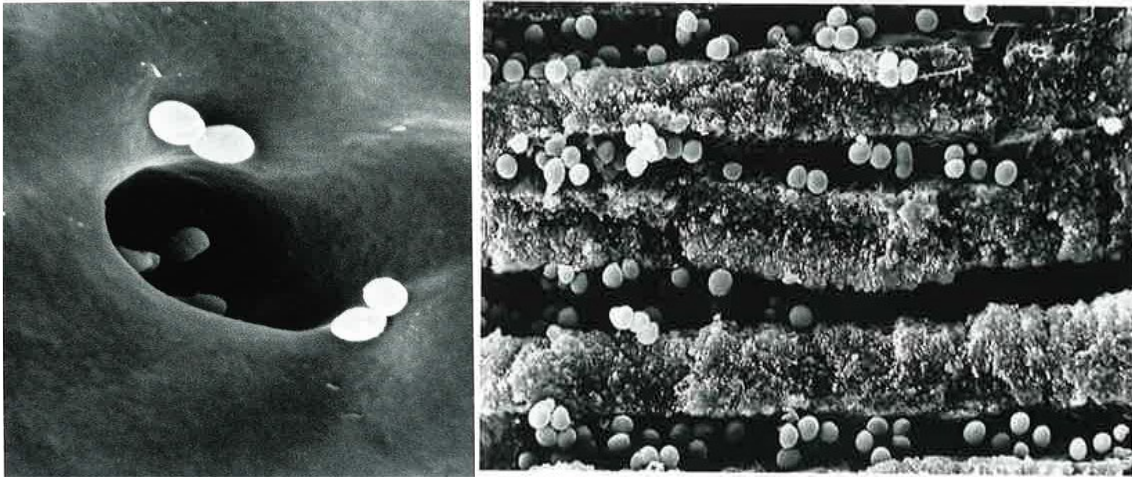


Abb.1 Mikroskopische Aufnahmen von *Enterococcus faecalis* in Dentinkanälchen  
(Quelle A. Moritz et al. 2006)

Laserstrahlung, die das Dentin durchdringt, wird zwar abgeschwächt, die bakterizide Wirkung bleibt aber bestehen, da die Dentintubuli ähnlich Glasfasern Licht leiten (Klinke et al. 1997).

Der Temperaturanstieg ist hierbei nur gering, die Bakterienpopulation wird um 99,91% reduziert (Gutknecht et al. 1997).

## **2.5.2 Erbium:YAG-Laser**

### **2.5.2.1 Grundsätzliches zum Er:YAG-Laser**

Der Erbium:YAG-Laser ist ein Festkörperlaser mit einer Wellenlänge von  $\lambda = 2940\text{nm}$ . Das Herzstück des Er: YAG-Lasers ist der Erbium dotierte Yttrium-Aluminium-Granat-Kristall. Der Er:YAG-Laser wird gepulst eingesetzt, sprich zwischen zwei Pulsen haben die Gewebe Zeit abzukühlen, um nicht zu überhitzen bzw. Schaden zu nehmen. (Moritz et al. 2006)

### **2.5.2.2 Indikationen für den Er:YAG-Laser**

Der Er:YAG-Laser wird vor allem zur Hart- und Weichgewebsbehandlung verwendet. Da das Absorptionsmaximum von Wasser sehr gut mit der Wellenlänge des Er: YAG-Lasers übereinstimmt, wird er vor allem zu ablativen Vorgängen, wie der Kavitätenpräparation genutzt. Der Er:YAG-Laser kann so auch zur Kariesentfernung genutzt werden, zur Fissurenversiegelung, zur Präparation von Veneers, Inlays und Klebebrücken. In der Parodontologie wird der Laser antimikrobiell und zur Abtragung von Konkrementen eingesetzt. In der oralen Chirurgie findet er bei Apikoektomien, bei Osteotomien und bei Inzisionen im Mukoperiost Anwendung (Moritz et al. 2006).

### **2.5.2.3 Er:YAG-Laser in der Endodontologie**

Wie zuvor beschrieben, wurde der Er:YAG-Laser bereits in der chirurgischen Endodontie bei Apikoektomien benützt. Durch die Entwicklung flexibler Lichtleiter fand er Einzug in die konventionelle Endodontie. Der Er:YAG-Laser ist nicht direkt für die Sterilisation des Wurzelkanals geeignet (im Unterschied zu Nd:YAG-Laser oder Diodenlaser), da seine Eindringtiefe zu gering ist. Aber er kann sogenannten Smearlayer entfernen und die Dentintubuli für Spülflüssigkeiten öffnen (Moritz et al. 2006).

2012 kam es zu einer Revolution in der lasergestützten Endodontie. Es ist nun möglich, mit dem Er:YAG-Laser Spülungen zu aktivieren (**Photon Induced**

**Photoacoustic Streaming**, kurz **PIPS**). Hierbei werden nichtthermische photoakustische Schockwellen erzeugt, die die Kanalwände säubern, den Smearlayer entfernen und somit zeitgleich eine Tiefenwirkung der Spülflüssigkeit ermöglichen.

Da für diese Anwendung die Gerätspitze nur in das koronale Drittel eingeführt werden muss, ist die Anwendung frei von Komplikationen (intrakanaläre Fraktur des Lichtleiters oder Überpressung von Spülflüssigkeit (Rödig et al. 2012)).

## 3 Endodontologie

### 3.1 Pulpa

#### 3.1.1 Anatomie der Pulpa bzw. des Pulpa – Dentin-Komplexes, Histologie und Physiologie der Pulpa

Das Pulpengewebe liegt im Pulpakavum, das sich in das Kronenpulpenkavum und die Wurzelkanäle aufteilt.

Im Kronenpulpenkavum befindet sich die Kronenpulpa, die Ausläufer (sogenannte Pulpenhörner) nach okklusal bzw. incisal hat, und in den Wurzelkanälen liegt die Wurzelpulpa. Begrenzt wird die Pulpa nach okklusal/ incisal vom Pulpdach, das aus Dentin besteht bzw. nach apikal durch das Foramen apicale. Durch dieses strahlen die Blutgefäße und Nerven in die Wurzelkanäle ein. In den apikalen 3 mm der Wurzel sind Verästelungen zu finden, die das apikale Delta bilden.

Das Pulpengewebe besteht aus Odontoblasten, Kollagenfasern, elastischen Fasern, Blutgefäßen und Nerven. Vereinzelt können auch Zellen des Abwehrsystems vorkommen. Peripher befinden sich Odontoblasten, deren Fortsätze weit in die Dentinkanälchen ragen, so auf Reize von außen reagieren und verstärkt Dentin bilden können.

Zentral davon liegt die Weil-Zone, die sehr zellarm ist - diese enthält Zytoplasmafortsätze der bipolaren Zone, sowie Endäste von Nervenfasern. Auf die Weil-Zone folgt die bipolare Zone oder zellreiche Zone. Dort befinden sich vor allem undifferenzierte Zellen, die für die Produktion jeglicher in der Pulpa vorkommender Zellen zuständig sind und Fibroblasten, deren Funktion in der Produktion von Kollagen und Grundsubstanz besteht. Außerdem sind hier starke Verästelungen der Nerven zu finden, der sogenannte Raschkow'sche Plexus. Die bipolare Zone umgibt einen bindegewebigen Strang, in dem sich Blutgefäße und Nerven befinden. (Hellwig et al. 2007) (siehe Abb.2).

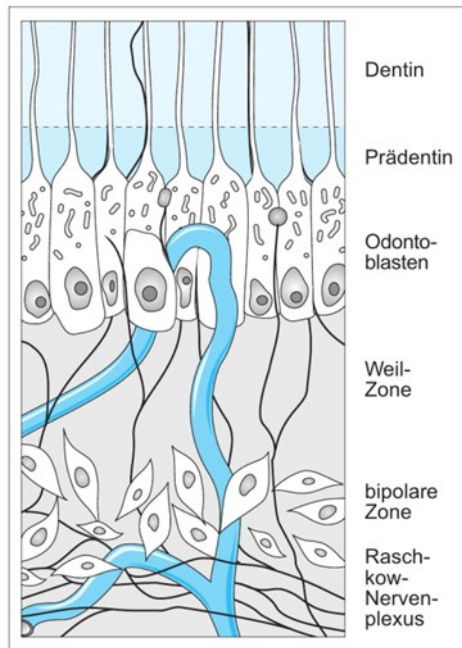


Abb.2 Schematische Darstellung der Gewebezonen der Pulpa nach Avery 1973 (Quelle; Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung 4. Auflage 2007 S 263)

Die Pulpa erfüllt somit vier spezielle Funktionen. Durch die **formative Funktion** der Pulpa kommt es zur Bildung von Primärdentin (Typ-I-Kollagen, Typ-III-Kollagen, nicht kollagene Dentinbausteine). Altersbedingt entsteht fortlaufend Sekundärdentin und infolge dessen eine Verkleinerung der Pulpenkammer. Gefäße und die Innervation sind für die **nutritive Funktion** zuständig. Arteriolen treten durch das Foramen apicale und Seitenkanäle in das Pulpakavum ein und bilden darin ein Geflecht, das bis in die Kronenpulpa verläuft. Peripher in der Wurzel- und Kronenpulpa entsteht so ein Kapillarplexus, der die Odontoblasten und andere Zellen nutritiv versorgt. Venolen führen Blut aus diesem Plexus wieder in größere Venen ab. Durch zahlreiche arterio-venöse Anastomosen wird gewährleistet, dass die Pulpa bei Blutdruckschwankungen nicht geschädigt wird. Für die **sensorische Funktion** sorgen afferente Nervenfasern, die Schmerzempfindungen weiterleiten. Unterschieden wird hierbei von myelinisierten A-Delta-Fasern die dem Nervus trigeminus entspringen und nichtmyelinisierten C-Fasern, deren Zahl überwiegt. A-Delta-Fasern haben durch die Myelinschicht einen größeren Durchmesser und eine höhere Leitungsgeschwindigkeit (ca. 30m/s), im Gegensatz zu den C-Fasern (ca. 2m/s). Zuständig für die Dentinsensibilität, die durch Flüssigkeitsverschiebungen in den Dentintubuli

entsteht, sind die A-Fasern, während die C-Fasern erst durch Zellschäden aktiviert werden.

Weiter besteht eine **defensive Funktion**, die aus der zellulären und humoralen Abwehr resultiert. Wichtigste Funktion hierbei ist die Bildung von Tertiärdentin. Dieses irreguläre Dentin entsteht als Antwort auf Zahnhartsubstanzverlust, bedingt durch Karies oder andere Faktoren. Unmittelbarer Auslöser ist die Nekrose von Odontoblasten (Hellwig et al.2007).

### **3.2 Pulpanekrose**

Pulpennekrosen können partiell (in einzelnen Arealen) oder total (in der gesamten Pulpa) auftreten. Bei einer bakteriellen Infektion und einer daraus folgenden entzündungsbedingten Nekrose kommt es durch die Stoffwechselprodukte der Bakterien zu einer Autolyse der Pulpa (Kolliquationsnekrose).

Durch eine traumatische Unterbrechung der Blutversorgung kommt es zu einem ischämischen Gewebsuntergang (Koagulationsnekrose) (Hellwig et al.2007).

Diese Nekrose kann steril oder infiziert sein.

### **3.3 Parodontitis apicalis**

Eine apikale Parodontitis entsteht als Reaktion auf bakterielle Besiedelung des Wurzelkanals (90%) bzw. Verschleppung von Mikroorganismen über den Apex hinaus (10%). Eine solche Verschleppung ist auch iatrogen möglich.

Entzündungsbedingt kommt es zu einer Resorption des periapikalen Knochens. Ziel der endodontischen Behandlung ist die Ausheilung der apikalen Parodontitis (AAE). Die Therapie der Wahl ist Wurzelbehandlung, deren Ziel es ist, alles Pulpagewebe zu entfernen (Extirpation), den gesamten Pulpa - Dentin Komplex keimfrei zu machen (Desinfektion) und vor weiterem Bakterienzutritt zu schützen (Obturation).

Der Kernstück ist hierbei die mechanische Erschliessung des Wurzelkanalsystems und seine Desinfektion (Chemomechanische Aufbereitung). Die mechanische Aufbereitung schafft hierbei den Zutritt für die chemischen Interaktion: „Access ist the Key to success“. Die mechanische Aufbereitung erfolgt mittels spezieller spanabtragender Instrumente (Feilen), die den Wurzelkanal erweitern (dieser Teil der Wurzelkanalbehandlung ist nicht Gegenstand dieser Diplomarbeit).

### **3.3.1 Chemische Aufbereitung**

Das wichtigste Tool in der chemischen Aufbereitung ist die Wurzelkanalspülung. Durch sie wird sichergestellt, dass Gewebereste, Bakterien und Detritus aus dem Kanal ausgeschwemmt werden. Für diesen Zweck stehen verschiedene Substanzen zur Verfügung, die folgende Eigenschaften besitzen sollten: geringe lokale Toxizität, bakterizide Wirkung, Auflösung vitalen und nekrotischen Pulpengewebes und eine niedrige Oberflächenspannung. Eine Entfernung der Schmierschicht gilt als günstig (Hellwig et al.2007).

### **3.3.2 Natriumhypochlorit (NaOCl)**

Natriumhypochlorit erfüllt die meisten der genannten Anforderungen an eine Spüllösung

Es ist die einzige Spüllösung, die einen gewebsauflösenden Effekt aufweist. Natriumhypochlorit besitzt einen pH-Wert von 12. Es wirkt durch den Gehalt an undissoziierten HOCl-Molekülen, deren Wirkung einerseits oxydierend ist und andererseits chlorierend. Natriumhypochlorit wird in der Zahnmedizin in Konzentrationen von 0,5%-5,25% verwendet (Hellwig et al.2007).

Eine antibakterielle Wirkung wird ab 0,5% erreicht, eine Verbesserung der Wirkung wird durch eine höhere Konzentration nicht erreicht, außerdem werden der Elastizitätsmodul und die Biegefestigkeit des Dentins durch eine 5,25%-Spülung im Gegensatz zur 0,5%-Spülung herabgesetzt. Jedoch löst eine 5,25%-Spülung nekrotische Pulpa schneller auf als eine 0,5%-Spülung. Höhere Konzentrationen steigern aber das Risiko an Nebenwirkungen, vor allem wenn es an die periapikalen Gewebe gelangt. In In-vitro-Studien konnte gezeigt werden, dass vorgewärmte Natriumhypochlorit-Spülungen ein wesentlich besseres antimikrobielles Ergebnis erzielten als auf Raumtemperatur (Zehnder 2006). Entsprechend wird empfohlen, die Spülungen auf eine Temperatur zwischen 50-60°C zu erhitzen (Dioguardi et al. 2018)

### **3.3.3 Chlorhexidin (CHX)**

Chlorhexidin-Digluconat ist ein Biguanid und wird in der Zahnmedizin vielfältig, vor allem aber in der Parodontologie eingesetzt (0,1 bis 0,2% Lösung). In der Endodontologie findet es vor allem als Spüllösung bei Revisionen Anwendung und wird in 2% Konzentration verwendet. Es wirkt bakteriostatisch und bakterizid

gegen gram-positive Bakterien und in höherer Dosis auch gegen gram-negative  
Als alleinige Spülung kann Chlorhexidin nicht empfohlen werden, da es

- a. keine gewebsauflösende Komponente besitzt und
- b. die infizierten Wurzelkanäle meist mit gram-negativen Bakterien besiedelt sind (Zehnder 2006).

### **3.3.4 Kochsalzlösung (NaCl)**

Natriumchlorid ist die gewebeschonendste Spüllösung, die aber keine antibakterielle Wirksamkeit besitzt. Sie wird in 0,9%iger Form in der Endodontie verwendet. Meistens wird sie als Zwischenspülung verwendet, um zu verhindern, dass verschiedene Spülflüssigkeiten interagieren und ihre Wirkung herabgesetzt wird (Hellwig et al.2007).

### **3.3.5 Chelatverbindungen**

Durch die mechanische Aufbereitung entsteht eine Schmierschicht, welche die Dentintubuli verstopft. So können Bakterien in den Tubuli eingeschlossen werden. Um diese Schmierschicht zu entfernen, stehen zwei verschiedene Chelatverbindungen zur Verfügung:  
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und Zitronensäure.  
Sie stehen in flüssiger Form, sowie in Pastenform zur Verfügung. Die Chelatverbindungen sollten nicht in Kombination mit Natriumhypochlorit verwendet werden, da der gewebszerstörende- und der antibakterielle Effekt des Natriumhypochlorits durch die Chelate reduziert wird (Hellwig et al.2007, Dioguardi et al 2018)

### **3.3.6 Alkohol**

Reiner Alkohol wird ebenfalls als Zwischenspülung angewandt, um die Entstehung von Parachloranillin zu verhindern. Dieses entsteht, wenn Natriumhypochlorit und Chlorhexidin interagieren. Es verfärbt die Lösung braun und ist krebserregend. Alkohol kann außerdem zum Trocknen der Kanäle vor dem Einbringen der Wurzelkanalfüllung benutzt werden (Rödig et al. 2010).

## 4 Mikrobiologie

### 4.1 Keime in der Endodontologie

#### 4.1.1 Keime

Bakterien sind prokaryotische (zellkernlose) Mikroorganismen. Sie haben eine aufwändig gestaltete Zellhülle. Ihr Durchmesser liegt zwischen 0,2 bis 15  $\mu\text{m}$ . Bakterien können unterschiedliche morphologische Formen aufweisen. Zu den drei Grundformen gehören Kokken, Stäbchen und schraubenförmige Bakterien.

**Kokken** sind rundliche bis ovale Bakterien, deren Durchmesser bei ca. 1  $\mu\text{m}$  liegt. Sie kommen am häufigsten in Zweier- (Diplokokken), Vierer- (Tetraden), oder in Achterformationen (Sarcinen) vor. Weiters treten sie oft kettenförmig (Streptokokken) und traubenförmig (Staphylokokken) auf.

**Stäbchen** sind längliche Bakterien, die im Querschnitt ca. 0,5  $\mu\text{m}$  und in der Längsachse ca. 2-5  $\mu\text{m}$  groß sind. In ihrer Form werden sie zwischen plump und schlank unterschieden und an den Polen können sie zugespitzt, abgerundet, abgeplattet oder annähernd rechteckig sein. Auch in ihrer Anordnung können Stäbchen sehr stark variieren. Hier reicht das Spektrum von Einzelzellen, über kettenförmig-, palisadenartig-, zopfförmig angeordnet bis hin zu rechtwinkligen Gruppierungen.

**Schraubenförmige Bakterien** haben einen schlanken, gewundenen Zelleib, der weite oder enge Windungen aufweisen und flexibel sein kann.

### 4.2 Aufbau der Bakterien

#### 4.2.1 Bakterieller Erbgut

Die DNA liegt bei Bakterien nicht wie bei Eukaryoten in einem Zellkern, sondern frei im Zytoplasma und wird als Kernäquivalent bezeichnet. Bei manchen Bakterien kommen Nukleioide vor (ringförmige, autonom replizierende, doppelsträngige DNA-Moleküle). Im Zytoplasma der Bakterien fehlen Mitochondrien, sowie Chloroplasten, Vakuolen und ein Endoplasmatisches Retikulum. Anstelle der 80S-Ribosomen der Eukaryoten enthalten die Bakterien 70S-Ribosomen (Suerbaum et al. 2012).

## 4.2.2 Zellwand und Gramfärbung

Die meisten Bakterien weisen eine Zellhülle oder Zellwand auf, die einer Zytoplasmamembran aufgelagert ist. Unterschieden wird zwischen gram-positiven- und gram-negativen-Bakterien. Gram-positive Bakterien haben eine dicke Peptidoglykanhülle (Murein), während gram-negative Bakterien nur eine dünne Mureinschicht besitzen, der eine weitere Schicht, nämlich die äußere Membran aufliegt. Murein besteht aus kurzen Zuckerketten, die durch Oligopeptide verbunden sind. Durch diese Vernetzung entsteht ein „Riesenmolekül“, das mechanisch sehr stabil ist und einem osmotischen Druck von bis zu 25 bar standhält. Die Funktionen der Zellwand sind die Formgebung und Stützfunktion der Bakterienzelle. Außerdem schützt die Zellwand die gesamte Zelle vor osmotischen Druckänderungen. Des Weiteren befinden sich in der Zellwand Virulenzfaktoren, wie Endotoxine, phagozytosebehindernde Strukturen und spezifische Adhäsine.

Die Gramfärbung geht auf den dänischen Arzt Hans Christian Joachim Gram zurück und ermöglicht die Einteilung von Bakterien je nach Dicke der Peptidoglykanschicht. Gram-negative und gram-positive Bakterien weisen nicht nur ein anderes Färbeverhalten auf, sondern sind auch in ihren Virulenzeigenschaften unterschiedlich. Bakterien werden mit den Farbstoffen Fuchsinrot und Kristallviolett angefärbt. **Gram-positive** Bakterien färben sich blau. Sie besitzen eine dicke mehrschichtige Peptidoglykanschicht (diese Schicht kann bis zu 40x dicker als bei gram-negativen Bakterien sein). Lipoteichonsäuren an der Außenseite der Zellwand sind für die Adhärenz und eine allfällige Endzündungsreaktion verantwortlich. Zu diesen Bakterien gehören z.B. Actinomyceten, Streptomyceten und fast alle Arten des Firmicutes-Stammes (Streptokokken, Enterokokken, Listerien, Bazillen, Clostridien, Lactobazillen). **Gram-negative** Bakterien erscheinen nach Gram Färbung in rot. Sie haben einen mehrschichtigen Zellwandaufbau. Um die Zellmembran besitzen sie eine dünne Mureinschicht, der eine äußere Membran, bestehend aus einer asymmetrischen Lipidmatrix, aufliegt. Innen befinden sich herkömmliche Phospholipide, während die äußere Schicht aus einem speziellen, für Bakterien typischen Phospholipid besteht, an das Polysaccharide gebunden sind.

Wegen seiner Pathogenität wird diese Lipopolysacharidschicht Endotoxin genannt. Zu den gram-negativen Bakterien zählen vor allem die Proteobakterien (Enterobakterien, Pseudomonaden, Legionellen, Neisserien, Meningokokken) (Suerbaum et al. 2012).

#### **4.2.2.1 Wachstum und Stoffwechsel**

Der Stoffwechsel von Bakterien ist sehr unterschiedlich, so benötigen einige Sauerstoff zum Überleben (Aerobier), andere können nur bei Abwesenheit von Sauerstoff existieren (Anaerobier) und manche tolerieren Sauerstoff, benötigen diesen aber nicht zwingend (fakultative Anaerobier).

Energie für Stoffwechselfvorgänge beziehen Bakterien entweder durch Fotosynthese (fototroph), oder durch Zufuhr von chemischen Stoffen (chemotroph). Die in der Zahnmedizin relevanten Bakterien sind chemotroph und gewinnen die Energie entweder durch Atmung oder Gärung. Eine maximale Energieausbeute ergibt sich durch Atmung, zu der die meisten aber unfähig sind. Sie erzeugen die Energie durch anaerobe Glykolyse und weiterer Verstoffwechselfung der Nachfolgeprodukte. Dieser unvollständige Abbau wird Gärung genannt.

Das Wachstum von Bakterien wird unter anderem von Temperatur, pH-Wert und osmotischen Verhältnissen beeinflusst. Alle Bakterien haben ein Temperaturfenster, in dem sie am besten wachsen.

Unterschieden wird zwischen psychrophilen- (ca. 15°C), mesophilen- (ca. 37°C) und thermophilen Bakterien (>55°C). Die meisten in der Mundhöhle ansässigen Bakterien bevorzugen saures Milieu (Suerbaum et al. 2012).

#### **4.2.3 Bakterien in der Endodontie**

Da sich in der Mundhöhle ca. 600 Arten von Bakterien befinden (Hellwege 2018), kann jede Nische besiedelt werden, auch der Wurzelkanal. Hier können Mischinfektionen nachgewiesen werden, die zwischen vier und zwölf Bakterienspezies beinhalten. Das Keimspektrum der infizierten Pulpanekrose besteht aus gram-negativen, anaeroben, bis fakultativ aeroben Bakterien (Zehnder 2006). Es gibt bestimmte Mikroorganismen, die sich häufiger in den Wurzelkanälen finden lassen, dazu zählen *Fusobacterium* spp.,

Peptostreptococcus micros, Prevotella intermedia und Porphyromonas spp. (Haapasalo 1993, Siqueira et al. 2007).

Auch wenn diese Keime oft im infizierten Endodont gefunden werden, dürfte es keine spezifischen Auslöserkeime für eine (akute) apikale Parodontitis geben. Außerdem scheint es einen Bezug zwischen Größe der periapikalen Läsion und der Anzahl an Bakterienspezies zu geben (Sundqvist 1992).

Bei Zähnen, die mit einer Wurzelkanalbehandlung therapiert wurden, findet man gerne Enterococcus faecalis, bei Primärinfektionen tritt dieser jedoch eher selten auf (Baumann & Beer 2008).

#### **4.2.4 Enterokokken**

Enterokokken sind gram-positive, fakultativ anaerobe Bakterien. Zu dieser Gattung gehören der Enterococcus faecalis bzw. Enterococcus faecium. Relevanz haben sie in der Allgemeinmedizin durch die zunehmende Resistenz gegen Antibiotika. Neben den Infektionen im Wurzelkanal sind sie bei nosokomialen Harnwegsinfektionen und bei Sepsen zu finden. Sie zeigen den typischen Wandaufbau gram-positiver Kokken und besitzen eine mehrlagige Peptidoglykanschicht. Enterokokken sind sehr widerstandsfähig, so tolerieren sie Temperaturen von bis zu 45°C, hohe pH-Werte bis 9,6 und hohe Salzkonzentrationen (bis 6,5% NaCl) (Suerbaum et al. 2012).

#### **4.2.5 Enterococcus faecalis**

Der Enterococcus faecalis ist der Problemkeim in der Endodontie schlechthin (Portenier et al 2003). Der Grund dafür liegt in der einfach strukturierten Zellhülle, die nicht nur gegen Natriumhypochlorit widerstandsfest ist, sondern auch gegen Laserirradiation bis zu 1,5 W. Gelingt es die Zellmembran zu verletzen, kommt es zum Anschwellen des Zellkörpers, dies führt zu einer Hemmung des Zellwachstums, was quantitative Studien zeigen (Moritz et al. 2006, siehe Abb.3)

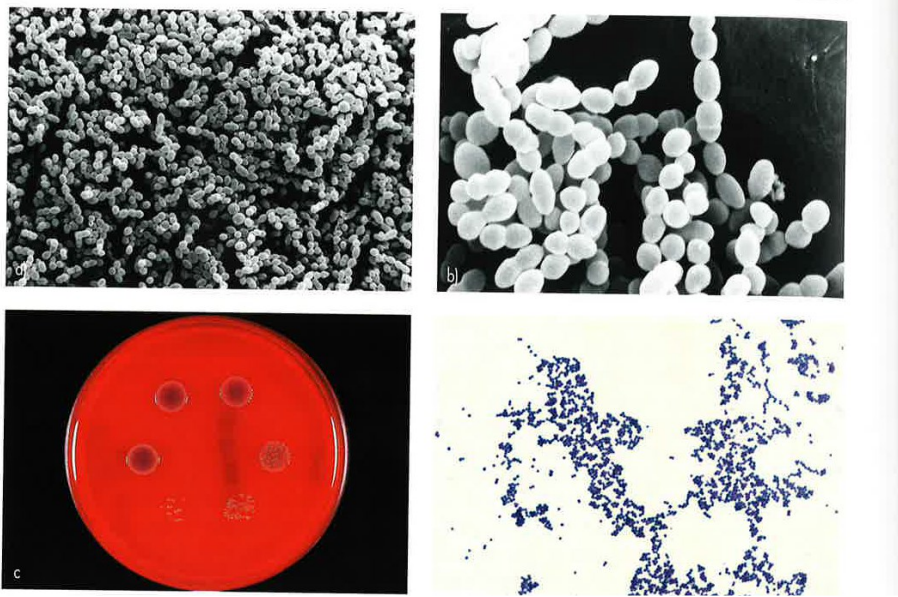


Abb.3. Enterococcus faecalis

(Quelle A. Moritz et al. Orale Lasertherapie 1. Auflage 2006, S 250)

### **4.3 Bakterien Kultivierung**

Eine Kultur der Erreger dient der Sicherung einer Verdachtsdiagnose und einer Empfindlichkeitsprüfung, um Medikamente ausschließen zu können, gegen die der Erreger resistent ist.

Zum Einbetten der Erreger gibt es Universal-, Optimal- oder Selektivmedien. Letztere werden benutzt, um definierte Erregergruppen zu züchten. Weiters gibt es noch Differenzial- oder Indikatormedien, die z.B. zu einer selektiven Anfärbung definierter Erreger führen sollen. Dies soll die Suche nach bestimmten Erregern erleichtern.

Wesentliche Bestandteile von Kulturmedien sind Wasser, Agar-Agar, Nährstoffe, Indikatoren, selektive Substanzen und Puffersubstanzen.

Wasser ist einer der wichtigsten Bestandteile für bakterielles Wachstum, deswegen haben Nährmedien einen hohen Wasseranteil. Dies hat aber die Nachteile, dass Bakterienkolonien sich morphologisch nicht beurteilen lassen und eine Empfindlichkeitsprüfung nicht möglich ist.

Agar-Agar ist ein Extrakt aus Seealgen, das gelierend wirkt.

Je nach Agar-Agar-Anteil wird zwischen festen, halbfesten und flüssigen Medien unterschieden (Suerbaum et al. 2012). Feste Kulturmedien weisen einen Agar-Agar-Anteil von etwa 2% auf und werden vor allem für die morphologische

Beurteilung von Einzelkolonien verwendet. Sie verflüssigen sich auch bei den im Brutschrank herrschenden Temperaturen nicht. Halbfeste Medien haben einen Agar-Agar-Anteil von ca. 0,5 bis 0,75% und werden zur Beweglichkeitsprüfung von Keimen eingesetzt. Flüssige Medien oder Bouillonon werden zur Anreicherung von Bakterien verwendet. Sie sind zur Beobachtung von Bakterienwachstum geeignet, was sich durch die Trübung der Substanzen erkennen lässt.

## 5 Material und Methoden

In der Privatordination Dr. Karl Schlapschy wurden extrahierte Zähne gesammelt und in 0,9%NaCl- Lösung aufbewahrt. Für die Studie wurden 46 einkanälige Wurzeln benutzt. 15 waren Frontzähne, 15 einkanälige Prämolaren und 16 die distale bzw. palatinale Wurzel eines Molaren. Die Zähne wurden auf 12 mm (von apikal nach koronal gemessen) mit einem Diamanten abgetrennt und anschließend mit einer C-Pilot-Feile (ISO-Größe 10) auf Durchgängigkeit geprüft. Danach wurden die Wurzelkanäle mit Feilen stufenweise von ISO-Größe 15 bis 45 erweitert und mit Wasser zwischengespült. Die Zähne wurden anschließend manuell und im Ultraschallbad gereinigt, einzeln verpackt und für 18 Minuten bei 134°C im Vakuklaven sterilisiert.

Unter Lamina wurden am Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie Graz die steril verpackten Zähne in Blöcke aus Optosil (Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) gefasst und mit dem Keim *Enterococcus faecium* (ATCC 6057) beimpft. Dort wurden sie bei 37°C für 7 Tage inkubiert.

Nach den 7 Tagen wurden die Zähne in folgende 5 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe 1. Kontrollgruppe: keine Desinfektion (2 Kanäle)

Gruppe 2. NaOCl 3% (11 Kanäle)

Gruppe 3. NaOCl 3% + Diodenlaser (11 Kanäle)

Gruppe 4. NaOCl 3% + Er:YAG-Laser (11 Kanäle) und

Gruppe 5. CHX 2% (11 Kanäle).

Gruppe 1 wurde direkt in eine Bouillon eingelegt, die Wurzeln aus den Gruppen 2 und 5 wurden je mit 5 ml Spüllösung gespült und danach in die Bouillonen gelegt. Die Wurzeln der Gruppen 3 und 4 wurden mit NaOCl 3% gespült und danach mit den Lasern behandelt (Abb.4).

Folgende Einstellungen wurden hierbei benutzt (Abb.5, Abb.6):

Gruppe 3, Diodenlaser (980nm): MASTER Lase (KAVO, Biberbach an der Riß, Deutschland), Einstellung Endo adjuvant: 2,5 W (Abb.5)

Gruppe 4, Er:YAG: K.E.Y Laser (KAVO Biberbach an der Riß, Deutschland), Einstellung 20 Endodontie (80 mJ, 15 Hz, 1,2 W) (Abb.6).

Jeder Zahn dieser zwei Gruppen wurde 5 mal über 10 Sekunden mit dem Laser behandelt, wobei die Tips bis an den Apex geführt und in kreisförmigen Bewegungen langsam nach koronal retrahiert wurden. Danach wurden die

Wurzeln der Gruppen 3 und 4 ebenso in Bouillonnen eingelegt und über 7 Tage inkubiert, wobei täglich Proben auf Agarplatten aufgebracht wurden (Abb.4.)

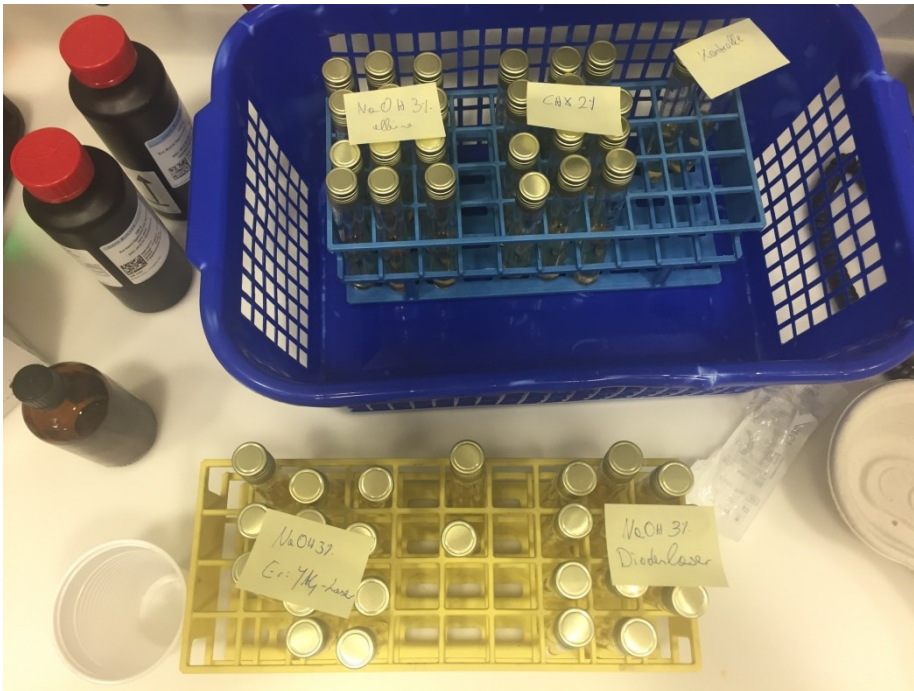


Abb.4 Versuchsreihe: Bouillonnen mit den gespülten und behandelten Wurzeln



Abb.5: Diodenlaser MASTER Lase (KAVO)



Abb.6 Er:YAG (KAVO K.E.Y Laser)

## 6 Ergebnisse

In Gruppe 1 wiesen beide Kanäle keine Elimination des *Enterococcus faecium* auf.

In Gruppe 2, 3 und 4 wurden alle Wurzelkanäle positiv auf *Enterococcus faecium* getestet.

In Gruppe 5 ließ sich in allen Wurzelkanälen kein *Enterococcus faecium* mehr nachweisen (Abb.7).

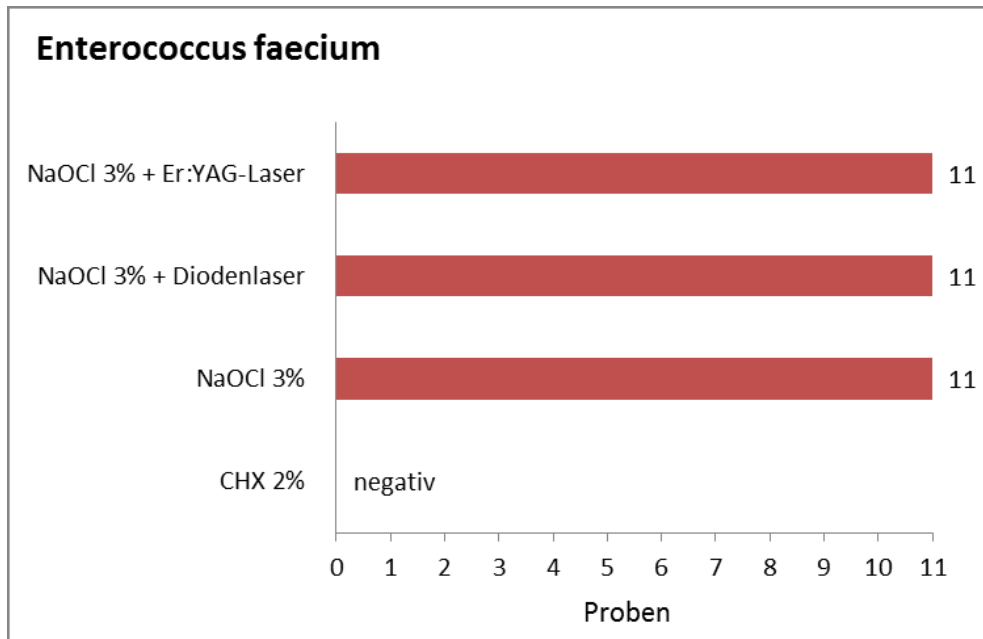


Abb.7 Grafische Darstellung Wirksamkeit der Spüllösungen gegen *Enterococcus faecium*.

**Tabelle 2: Ergebnisse der Testreihen**

Zahn	CHX 2%	NaOCl 3%	NaOCl 3%+ DL	NaOCl 3%+ Erbium	Kontrolle
1	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	0
2	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	0
3	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
4	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
5	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
6	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
7	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
8	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
9	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
10	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	
11	0	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	

**Legen**

de

CHX 2% = Chlorhexidindigluconat

NaOCl 3% = Natriumhypochlorit

NaOCl 3% + DL = Natriumhypochlorit mit  
Diodenlaser

NaOCl 3% + Erbium = Natriumhypochlorit mit  
Er:YAG-Laser

Kontrolle = Spülung mittels Kochsalzlösung 0,9%

## 7 Diskussion

Verbesserte Gerätschaften für die mechanisch-endodontische Kanalaufbereitung haben zu erhöhten Erfolgsaussichten und somit zur Steigerung der Bedeutung endodontischer Revisionen geführt, womit der Bekämpfung des Problemkeims *Enterococcus faecium* eine verstärkte Bedeutung zukommt. Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob Chlorhexidindigluconat, Natriumhypochlorit oder Laser besser gegen *Enterococcus faecalis*, bzw. den Laborkeim *Enterococcus faecium* wirkt.

Diese Frage wurde bereits in der Literatur untersucht und bislang liegen kontroverse Ergebnisse vor.

In der vorliegenden Arbeit erwies sich CHX2% effektiver als Natriumhypochlorit und Laser. Dieses Ergebnis wird auch von anderen Studien bestätigt (Komorowski et al. 2000, Leonardo et al. 1999, White 1997 und Shen et al. 2009).

Orstavik und Haapasalo 1990 fanden keine Unterschiede zwischen CHX und Natriumhypochlorit bezüglich der Elimination von *Enterococcus faecalis*. Gleiche Ergebnisse wurden auch in den Studien von Ercan et al. 2004, Oliveira et al 2007 und Zandi et al 2016 gefunden.

Untersuchungen von Moritz zeigten, dass der *Enterococcus faecalis* durch Bestrahlung mit dem Diodenlaser sehr stark reduziert wird (Moritz et al. 1997). Gutknecht kam zum selben Ergebnis und wies eine Reduktion der Keime um 99,91% nach (Gutknecht et al. 1997). Auch Untersuchungen von Samiei et al. 2016 zeigen, dass die Therapie mit dem Diodenlaser zu einer deutlichen Reduktion der Anzahl von Enterokokken im Wurzelkanal führt (Samiei et al. 2016). Bago-Juric fand, dass laser-aktivierte Spülungen effektiver gegen den *Enterococcus faecalis* waren als Spülungen, die durch Ultraschall aktiviert wurden (Bago Juric et al. 2014).

Schoop hingegen stellte fest, dass alle Laser einen positiven Effekt auf die Kanaldesinfektion haben, jedoch ist der *Enterococcus faecalis* resistenter. Um diesen zu schädigen, reichen Energien von ca. 1 W, um eine namhafte Reduktion der Keimzahl zu erlangen, müssen Energien von über 1,5 W angewandt werden. Jedoch steigen auch dabei die Nebenwirkungen, so werden bei Energien von 1,5 W eine Temperaturerhöhung von 6,6°C beim Diodenlaser und von 8,5°C beim Er:

YAG-Laser erzeugt. Dies kann zur Schädigung der periapikalen Gewebe führen (Schoop et al. 2004).

Auch die Konzentration von Wurzelkanalspülungen spielt bezüglich der antibakteriellen Effektivität eine große Rolle. (Siquera et al. 2000, Gomes et al. 2001) Natriumhypochlorit hat bei geringer Konzentration eine schwache antibakterielle Wirkung, erst eine höhere Konzentration der Lösung kann zu einer Eliminierung von *Enterococcus faecalis* führen (Gomes et al. 2001, Würch et al. 2004).

Spangberg et al. 1973 bestätigen, dass mit der Konzentration von Natriumhypochlorit die Wahrscheinlichkeit steigt, vitales Gewebe zu schädigen (Spangberg et al. 1973). Die Studie von da Silva et al. 2008 ergab, dass CHX weder die Vitalität der Zellen noch die Immunstimulation veränderte.

## **8 Konklusion**

Chlorhexidin 2% kann auf Grundlage der erzielten Ergebnisse als Spüllösung der ersten Wahl bei der Behandlung von mit *Enterococcus faecalis* infizierten Wurzelkanälen empfohlen werden. NaOCl sowie beide Laser sind Mittel der zweiten Wahl.

## 9 Literaturverzeichnis

**Stuart CH**, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB.

Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006 Feb;32(2):93-8. Review.

**Gomes BP**, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*.

*Int Endod J.* 2001 Sep;34(6):424-8.

**Sirén EK**, Haapasalo MP, Waltimo TM, Ørstavik D.

In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*.

*Eur J Oral Sci.* 2004 Aug;112(4):326-31.

**Vianna ME**, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Jan;97(1):79-84.

**Stabholz A**, Sahar-Helft S, Moshonov J. Lasers in endodontics.

*Dent Clin N Am.* 2004; 48(4):809–832, vi. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2004.05.012>.

**Meire MA**, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. Evaluation of

Nd:YAG and Er:YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis*

biofilms. *Int Endod J.* 2012; 45(5):482–491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02000>.

**Einstein A** Zur Quantentheorie der Strahlung. *Physical Z.* 1917;18:121–128.

**Townes C**. From the maser to the laser. Interview by Joerg Heber.

*Nat Mater.* 2010 May;9(5):371-2. doi: 10.1038/nmat2756.

**Maiman TH**. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature.* 1960; 187:493–4.

**Moritz A**, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, Walsh LJ, Wernisch J, Wintner E. *Oral Laser Application.* 2006; Quintessence Publishing Co. Inc. Berlin, Germany.

- Trautwein A**, Kreibitz U, Hüttermann J. 2004 Physik für Mediziner, Biologen, Pharmazeuten 6.Auflage.
- Gutknecht N**, R. Franzen, M. Schippers, and F. Lampert. Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery.Feb 2004.
- Klinke T**, Klimm W, Gutknecht N. Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. J Clin Laser Med Surg. 1997 Feb;15(1):29-31.
- Rödig T**, Hausdörfer T, Konietschke F, Dullin C, Hahn W, Hülsmann M. Efficacy of D-RaCe and ProTaper Universal Retreatment NiTi instruments and hand files in removing gutta-percha from curved root canals - a micro-computed tomography study. Int Endod J. 2012 Jun;45(6):580-9. doi: 10.1111/j.1365-2591.2012.02014.x. Epub 2012 Jan 20.
- Hellwig E**, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung 4. Auflage 2007
- American Association of Endodontists**. Guide to Clinical Endodontics Sixth Edition; 2013 edition.
- Zehnder M**. Root canal irrigants. J Endod. 2006 May;32(5):389-98. Review.
- Dioguardi M**, et al. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. Eur J Dent. 2018.
- Rödig T**, Döllmann S, Konietschke F, Drebenstedt S, Hülsmann M. Effectiveness of different irrigant agitation techniques on debris and smear layer removal in curved root canals: a scanning electron microscopy study. J Endod. 2010 Dec;36(12):1983-7. doi: 10.1016/j.joen.2010.08.056. Epub 2010 Oct 18.
- Suerbaum, S.**, Burchard, G.-D., Kaufmann, S.H.E., Schulz, Th.F. (Hrsg.) 2012; Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie.
- Hellwege**, Klaus-Dieter:  
Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe  
2018; Kapitel 1 Lebensraum Mundhöhle.
- Haapasalo M**. Black-pigmented gram-negative anaerobes in endodontic infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 1993 Mar;6(2-3):213-7.
- Siqueira JF Jr**, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. Braz Dent J. 2007;18(4):267-80. Review.
- Sundqvist G**. Ecology of the root canal flora. J Endod. 1992 Sep;18(9):427-30.
- Michael A. Baumann**, Rudolf Beer, Endodontology Thieme 2007

- Wuerch RM**, Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH.  
Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system J Endod. 2004 Nov;30(11):788-91.
- Portenier I**, Waltimo TM, Haapasalo M. Enterococcus faecalis- the root canal survivor and 'star' in posttreatment disease. Endod Topics 2003;8:135-159.
- Komorowski R**, Grad H, Wu XY, Friedman S.  
Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. J Endod. 2000 Jun;26(6):315-7.
- Leonardo MR**, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY.  
In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J Endod. 1999 Mar;25(3):167-71.
- White RR**, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endod. 1997 Apr;23(4):229-31.
- Shen Y**, Qian W, Chung C, Olsen I, Haapasalo M. Evaluation of the effect of two chlorhexidine preparations on biofilm bacteria in vitro: a three-dimensional quantitative analysis. J Endod. 2009 Jul;35(7):981  
5.doi:10.1016/j.joen.2009.04.030.
- Ørstavik D**, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990 Aug;6(4):142.
- Ercan E**, Ozekinci T, Atakul F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. J Endod. 2004 Feb;30(2):84-7.
- Oliveira DP**, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB.  
In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against Enterococcus faecalis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007 May;103(5):702-6. Epub 2007 Mar 26. J Endod. 2016 Sep;42(9):1307-13. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.006. Epub 2016 Jul 21.
- Zandi H**, Rodrigues RC, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D, Rôças IN, Siqueira JF Jr .Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants in Root-filled Teeth with Infection: A Randomized Clinical Trial. J Endod. 2016 Sep;42(9):1307-13. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.006. Epub 2016 Jul 21.

**Moritz A**, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Doertbudak O, Sperr W. Irradiation of infected root canals with a diode laser in vivo: results of microbiological examinations. *Lasers Surg Med.* 1997;21(3):221-6.

**Gutknecht N** Nuebler-Moritz M, Burghardt SF, Lampert F. The efficiency of root canal disinfection using a holmium:yttrium-aluminum-garnet laser in vitro. *J Clin Laser Med Surg.* 1997;15(2):75-8.

**Samiei M**, Shahi S, Abdollahi AA, Eskandarinezhad M, Negahdari R, Pakseresht Z. The Antibacterial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: An in Vitro Study. *Iran Endod J.* 2016 11(3):179-83.

**Bago Jurič I**, Plečko V, Anić I. Antimicrobial efficacy of Er, Cr:YSGG laser-activated irrigation compared with passive ultrasonic irrigation and RinsEndo(®) against intracanal *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg.* 2014 Nov;32(11):600-5. doi: 10.1089/pho.2014.3767. Epub 2014 Sep 24.

**Schoop U**, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med.* 2004;35(2):111-6.

**Siqueira JF Jr**, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000 Jun;26(6):331-4.

**Wuerch RM** Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod.* 2004 Nov;30(11):788-91.

**Spangberg L**, Engström B, Langeland K. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1973 Dec;36(6):856-71. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro.

**da Silva RA**1, Leonardo MR, da Silva LA, Faccioli LH, de Medeiros AI. Effect of a calcium hydroxide-based paste associated to chlorhexidine on RAW 264.7 macrophage cell line culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Nov;106(5):e44-51. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.06.027. Epub 2008 Aug 20.