

Aus dem medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Abteilung für Zahnerhaltungskunde

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. R. Frankenberger

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

Titel der Dissertation:

**Bakteriendichtigkeit von Wurzelkanalfüllungen nach
Einsatz verschiedener Obturationstechniken –
Eine In-vitro-Studie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin,
dem Fachbereich der Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Charlene Simon

aus Weimar

-Marburg, 2015-

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 15.07.2015

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Herr Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Herr Prof. Dr. R. Frankenberger

1. Korreferent: Herr Prof. Dr. T. Auschill

*– Meinen lieben Großeltern
Evelyn und Georg, Marianne und Klaus
gewidmet –*

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Zielstellung	3
3 Grundlagen der Wurzelkanalbehandlung	4
3.1 Bedeutung des infizierten Endodonts	4
3.2 Wurzelkanalaufbereitung	9
3.3 Wurzelkanalspülung	14
3.4 Wurzelkanalfüllung	18
4 Material und Methode	27
4.1 Übersicht und Arbeitsschritte	27
4.2 Versuchsaufbau	37
4.3 Versuchsdurchführung	40
4.4 Nachweis und Identifizierung von <i>L. paracasei</i>	43
4.5 Statistische Auswertung	45
5 Ergebnisse	46
6 Diskussion	52
6.1 Diskussion der Methode	52
6.2 Diskussion der Ergebnisse	61
7 Schlussfolgerung	69
8 Zusammenfassung	70
8.1 Hintergrund und Ziele	70
8.2 Methode	70
8.3 Ergebnisse	71
8.4 Praktische Schlussfolgerungen	71
9 Summary	72
9.1 Background and objectives	72
9.2 Materials and methods	72
9.3 Results	73

9.4 Practical conclusion	73
10 Literaturverzeichnis	74
11 Anhang	98
11.1 Abkürzungen	98
11.2 Materialien	100
11.3 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	105
12 Danksagung	107
13 Verzeichnis akademischer Lehrer	108

1 Einleitung

Bis ins 19. Jahrhundert diente die Wurzelkanalbehandlung in ihrer ursprünglichen Form ausschließlich der Beseitigung akuter dentaler Schmerzen. Heutzutage ist die endodontische Therapie ein elementarer Bestandteil der Zahnerhaltung und stellt eine vielversprechende Alternative zur Extraktion dar. Die Wurzelkanalbehandlung verfolgt eine systematische Vorgehensweise, deren einzelne Behandlungsmaßnahmen im Laufe der Zeit immer weiter optimiert wurden. Wenn eine Vitalerhaltung der Pulpa nicht mehr möglich ist, soll im Rahmen einer Wurzelkanalbehandlung eine bakterielle Infektion des Wurzelkanals und umliegender parodontaler Strukturen eliminiert und eine bereits bestehende entzündliche Veränderung am Periapex ausgeheilt oder dieser vorgebeugt werden [216].

Eine Heilung des betroffenen Zahnes wird angenommen, wenn eine klinische Schmerz- bzw. Symptombefreiheit vorliegt und radiologisch eine Ausheilung des periapikalen Gewebes beobachtet werden kann oder, falls gegeben, eine zuvor progressive Resorption des umliegenden Knochens zum Stillstand kommt [52]. Von der DGZMK wird zu der Prognose einer Wurzelkanalbehandlung ein Beobachtungszeitraum von 4-5 Jahren angegeben, um eine vollständige knöcherne Regeneration zu erwarten. Eine vollständige Ausheilung und damit ein klinischer Erfolg konnte in einer Studie von Ray und Trope für 94,1% der Behandlungsfälle ermittelt werden. Jedoch musste dabei sowohl der Wurzelkanal als auch die koronale Zugangskavität suffizient gefüllt sein [157].

Tatsächlich ergeben sich im klinischen Alltag immer wieder Situationen, durch die die Integrität des koronalen Verschlusses verloren gehen kann und die somit für den Behandler nur schwer kontrollierbar sind. Häufige Ursachen sind ein unzureichendes Abdichtungsvermögen temporärer Füllungswerkstoffe, ein protahierter Behandlungsverlauf oder der partielle oder vollständige Verlust der postendodontischen Restauration. Auch können marginale Undichtigkeiten an einer bereits erfolgten definitiven koronalen Restauration die Entstehung einer Sekundärkaries begünstigen, die dem Speichel und den Bakterien der Mundhöhle erneuten Zugang zum endodontisch vorbehandelten Wurzelkanal verschafft. Folglich führt eine undichte Wurzelkanalfüllung in einem solchen Szenario zu einer Reinfektion des Wurzelkanals, die eine bakterielle Penetration in Richtung des Periapex ermöglicht. Andererseits kann eine nach apikal undichte Wurzelkanalfüllung dazu führen, dass

im Endodont persistierende Bakterien über den Apex in das periapikale Gewebe übertreten und erneut eine Entzündungsreaktion periapikaler Strukturen provozieren.

Von zentraler Bedeutung ist somit die Forderung, dass durch die Wurzelkanalfüllung selbst dauerhaft ein flüssigkeits- und bakteriendichter Verschluss über die gesamte Wurzellänge sowohl nach koronal als auch nach apikal angestrebt werden muss [56]. Aufgrund dieser Tatsache wurden neben einer Reihe von Werkstoffen zur Wurzelkanalfüllung auch unterschiedliche Fülltechniken entwickelt.

Prinzipiell soll die Wurzelkanalfüllung aus einer möglichst biokompatiblen, erhärtenden Wurzelkanalpaste, dem Sealer und dem Kernmaterial Guttapercha bestehen, während durch den Sealer Inkongruenzen zwischen der Kanalwand und dem Kernmaterial volumenstabil ausgefüllt werden sollen. *AH Plus*, ein Sealer auf Epoxidharzbasis, besitzt neben einer guten Gewebsverträglichkeit auch eine adäquate Volumenstabilität [140, 174]. Je nach der gewählten Fülltechnik, wird das Kernmaterial Guttapercha als einzelner Hauptstift oder kombiniert mit akzessorischen Nebenstiften, mit oder ohne zusätzliche Kompaktion in den Kanal eingebracht. Auch Fülltechniken bei denen zusätzlich mit Wärme gearbeitet wird, wurden bisher zahlreich beschrieben. Eine aktuelle Warmfülltechnik ist *Thermafil*.

Da Bakterien die Hauptursache endodontischer Beschwerdebilder sind und bisher keine Garantie für eine dichte koronale Abdeckung besteht, ist die Optimierung eines bakteriendichten Verschlusses des Wurzelkanals weiterhin im Interesse wissenschaftlicher Untersuchungen.

2 Zielstellung

Ziel dieser *In-vitro*-Studie ist es, den Einfluss verschiedener Obturationstechniken auf die Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllungen zu überprüfen.

Mithilfe eines Bakterienpenetrationstests soll untersucht werden, inwieweit die Dauer einer bakteriellen Durchdringung von Wurzelkanalfüllungen von der Wahl der Obturationstechnik beeinflusst ist. Als Wurzelfüllmaterialien werden für alle Probenzähne *AH Plus* und Guttapercha gewählt, so dass die Einteilung in vier unterschiedliche Gruppen auf den vier verschiedenen Obturationstechniken basiert. Eine negative und positive Kontrollgruppe sollen den Versuch begleiten, um die Validität des Verfahrens zu überprüfen. Der Beobachtungszeitraum wurde auf 180 Tage festgelegt und die ermittelten Dichtigkeitswerte (Penetrationszeiten) der einzelnen Gruppen miteinander verglichen.

Nullhypothese #1:

Die positive Kontrollgruppe zeigte schon nach kurzer Zeit eine Trübung der unteren Kammer, während bei der negativen Kontrollgruppe über den gesamten Versuchszeitraum keine Trübung zu beobachten ist.

Nullhypothese #2:

Zwischen den unterschiedlichen Obturationstechniken bestehen keine Unterschiede in der bakteriellen Penetrationsdauer.

Nullhypothese #3:

Es bestehen keine Unterschiede in der Dichtigkeit zwischen der Warmfülltechnik und den Kaltfülltechniken.

3 Grundlagen der Wurzelkanalbehandlung

3.1 Bedeutung des infizierten Endodonts

Das Endodont umfasst funktionell-anatomisch die Pulpa-Dentin-Einheit und besteht einerseits aus einem mineralisierten Anteil, dem Dentin, andererseits aus einem nicht mineralisierten Anteil, der Pulpa. Eine Infektion des Endodonts kann primär, sekundär und persistierend auftreten.

Das primär infizierte Endodont

Bei der primären Infektion des Endodonts erfolgt durch mechanische, chemische oder bakterielle Einwirkungen ein Schmelz- oder Zementverlust, der eine Verbindung des Pulpa-Dentinkomplexes zur Mundhöhle schafft. Die freigelegte Pulpa, exponierte Dentinkanälchen oder Seitenkanäle werden dabei zu potenziellen Infektionswegen, die einen Zutritt von Mikroorganismen in das Wurzelkanalsystem ermöglichen. Als immunkompetentes Gewebe antwortet die Pulpa auf einen (mikrobiellen) Reiz immer mit einer Entzündung. Bei anhaltendem Reiz und einer direkten mikrobiellen Besiedlung pulpaler Gewebsanteile muss von einer irreversiblen Entzündung (Pulpitis) in den betroffenen Pulpaarealen ausgegangen werden, der sich bei zunehmender Infektionsausbreitung eine Pulpanekrose anschließt.

Laut den europäischen Richtlinien für Endodontologie ist eine Wurzelkanalbehandlung indiziert, wenn eine irreversible Pulpitis oder eine Pulpanekrose vorliegt, mit oder ohne klinische und / oder radiologische Kenntnisse auf das Vorliegen einer apikalen Parodontitis [64]. Bei der Pulpanekrose kommt es zu einem fortschreitenden Zerfall des Pulpagewebes infolge einer zunehmenden Infektionsausbreitung im Endodont und der Erschöpfung der körpereigenen Immunabwehr. Bleibt eine infizierte Pulpanekrose unbehandelt, schließt sich immer eine Entzündung des periapikalen Gewebes (Parodontitis apicalis) an, die apikal, lateral, inter- oder periradikulär vorliegen kann. Die Entzündung wird durch Bakterientoxine induziert und ist mit einer Resorption des umliegenden Knochens und des Wurzelzements assoziiert, in einigen Fällen auch des Wurzeldentins. In einem Tierexperiment an keimfreien und infizierten Pulpaen von Ratten konnten Kakehashi et al. zeigen, dass die orale Mikroflora bei den meisten entzündlichen Veränderungen der Pulpa und des apikalen Parodonts eine entscheidende Rolle spielt. So zeigte sich bei steril gehaltenen Ratten an breitflächig exponierten Pulpen keine Pulpanekrose, sondern eine Hartgewebsneubildung nach 21 - 28 Tagen, während sich bei den nicht steril

gehaltenen Ratten schon nach 8 Tagen eine Pulpanekrose entwickelte mit apikalen Parodontiden und Abszessen [102].

Zu einer akuten periapikalen Entzündungsreaktion kommt es selten primär, sondern meist sekundär (Exazerbation einer chronischen apikalen Parodontitis, Phönixabszess) infolge einer infizierten Pulpanekrose. Eine akute Parodontitis nimmt einen schmerzhaften Verlauf und ist röntgenologisch meist unauffällig, wenn auch in einigen Fällen eine Verbreiterung des apikalen Desmodontalspalts diagnostiziert werden kann. Neben einer spontanen Ausheilung kann es bei einem akuten Verlauf auch zur Abszess- und Fistelbildung kommen [136]. Bakterien sind dann meist im Periapex nachweisbar. Bei anhaltendem Reiz kann die akute in eine chronische Parodontitis apicalis übergehen, die zumeist durch eine abgekapselte Entzündung des periapikalen Gewebes gekennzeichnet ist [178]. Die chronische Parodontitis apicalis verläuft klinisch asymptomatisch und wird röntgenologisch neben einem erweiterten Desmodontalspalt durch eine variabel große Knochenläsion sichtbar. In einer Langzeitstudie von Sjögren et al. konnte gezeigt werden, dass der Behandlungserfolg einer Wurzelkanalbehandlung über die Zeit vom präoperativen Zustand des periapikalen Gewebes abhängt. Die Erfolgsrate lag bei Zähnen ohne periapikale Radioluzens bei 96%, während bei Vorliegen einer Pulpanekrose und einer radiologisch deutlich sichtbaren periapikalen Läsion nur in 86% der Fälle eine Ausheilung des periapikalen Gewebes zu beobachten war [193].

Im infizierten Endodont sind Bakterien nicht nur im nekrotischen Pulpagewebe und dem zerstörten Restgewebe anzutreffen, sondern auch auf der Wurzelkanalwand sowie in den Dentinkanälchen des Wurzeldentins [65]. Die Tiefe der bakteriellen Penetration korreliert dabei mit der Anzahl und der Vermehrungsrate, das heißt, je mehr Bakterien vorhanden sind, umso tiefer dringen diese in das tubuläre Dentin ein [2]. Nicht nur der Wurzelkanal selbst dient als mikrobielles Habitat, sondern auch Seitenkanäle, akzessorische Kanäle und Kanäle des apikalen Deltas, die eine Verbindung zum infizierten Wurzelkanal besitzen. Eine primäre Infektion des Wurzelkanalsystems tritt meist als eine Folgeerscheinung einer tiefen kariösen Läsion auf [113].

Im Vergleich zu der in der Mundhöhle vorhandenen Bakterienvielfalt (über 700 Bakterienarten) etabliert sich im infizierten Endodont in der Regel eine aus wenigen Bakterienarten bestehende Mischflora [85]. Anhand von einer mikrobiologischen Analyse von Affenzähnen konnte Fabricius et al. zeigen, dass über die Zeit obligat anaerobe nicht sporenbildende Bakterienarten die Mischflora im Wurzelkanal

dominieren [65]. Eine Isolierung der Bakterienstämme vor und während der endodontischen Behandlung hat ergeben, dass es sich um gramnegative anaerobe Stäbchen, grampositive anaerobe Kokken, grampositive anaerobe und fakultative Stäbchen, Laktobazillen und grampositive Streptokokken handelt [137, 163, 190, 201]. Die ermittelten Keimzahlen pro infiziertem Wurzelkanal schwanken in der Regel zwischen 10^2 und 10^7 kolonienbildenden Einheiten (CFU = Colony Forming Units). Ein Zusammenhang zwischen der Größe einer röntgenologisch sichtbaren periapikalen Läsion und der Keimzahl im Wurzelkanal wird angenommen [201].

Blome et al. untersuchten Wurzelkanäle auf das Vorhandensein und die spezifische Anzahl der Bakterienspezies sowie die Gesamtkeimzahl bei Zähnen mit chronischen apikalen Parodontitiden. Die Echtzeit-PCR (Polymerase-Kettenreaktion) konnte deutlich zeigen, dass bei primär infizierten Wurzelkanälen eine deutlich höhere Keimlast vorlag als bei sekundär infizierten Wurzelkanälen [19].

Der sekundär infizierte Wurzelkanal

Die sekundäre Infektion des Wurzelkanals führt häufig zu einem endodontischen Misserfolg [135, 186]. Das Risiko für eine Reinfektion des Wurzelkanals ist sowohl von der Qualität der Wurzelkanalfüllung als auch von der Qualität des koronalen Verschlusses abhängig [169]. Ohne einen koronal dichten Verschluss wird die Dauer bis zu einer bakteriellen Reinfektion des Wurzelkanals ausschließlich durch das Abdichtungsvermögen einer Wurzelkanalfüllung bestimmt. Infolge einer koronalen Mikroleakage, einer Spaltbildung im Mikrometerbereich, kann der bereits obturierte Wurzelkanal durch Speichel und Mikroorganismen der Mundhöhle sekundär infiziert werden. Wie in zahlreichen Untersuchungen gezeigt werden konnte, treten Undichtigkeiten innerhalb der Wurzelkanalfüllung an Grenzflächen auf, entweder zwischen Sealer/Guttapercha, Sealer/Dentin, durch Hohlräume innerhalb des Sealers und den Guttaperchastiften oder infolge einer materialbedingten Löslichkeit der Wurzelkanalpasten gegenüber Flüssigkeiten [67, 112, 223]. Innerhalb einer Mikroleakage kommt es zu einer Flüssigkeitsbewegung entweder von koronal oder von apikal, die Mikroorganismen, ihre Metabolite und deren Strukturkomponenten mitführt und damit die Ursache einer periapikalen Entzündung sein kann [70].

Mit der Fragestellung, inwieweit eine zur Mundhöhle hin offen liegende Wurzelkanalfüllung dicht bleibt, beschäftigten sich Swanson und Madison in einer *In-vitro*-Studie. Ohne einen koronalen Verschluss konnte bereits nach 3 Tagen das Eindringen von Farbstoff in die Wurzelkanalfüllung der vorbehandelten Probenzähne

beobachtet werden, nachdem diese künstlichen Speichel ausgesetzt wurden. Die negative Kontrollgruppe, die nicht mit dem Speichel in Kontakt gebracht wurde, wies keine Farbstoffpenetration auf [203]. Die Zeit bis zu einer vollständigen Kontamination war von der Wahl des Sealers abhängig. Die Ergebnisse konnten auf eine differenzierte Volumenstabilität der eingesetzten Sealer zurückgeführt werden [121]. In einem nachfolgenden *In-vivo*-Modell konnten die Beobachtungen anhand von Affenzähnen mit Einschränkungen bestätigt werden. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die Exposition einer Wurzelkanalfüllung gegenüber dem Mundmilieu Undichtigkeiten zeigte und über eine unbestimmte Zeit als Risikofaktor für den klinischen Erfolg angesehen werden muss [122].

Khayat et al. fanden in ihrer späteren Untersuchung heraus, dass Wurzelkanäle während der Exposition gegenüber menschlichen Speichel bereits nach 30 Tagen vollständig rekontaminiert sind, ungeachtet der Wahl der Obturationstechnik. Die Dichtigkeitsanalyse mittels Farbstoffpenetrationstests konnte zeigen, dass der Farbstoff *India Ink* insbesondere zwischen Kanalwand und Wurzelfüllmaterial eingedrungen war [110]. Inwieweit die Dauer für eine Reinfektion des Wurzelkanals infolge einer Mikroleakage durch bestimmte Bakterien erfolgen kann, untersuchten Torabinjad et al. Ohne koronalen Verschluss zeigten 50 % der Probenzähne bereits nach 19 Tagen eine bakterielle Kontamination durch *Staphylococcus epidermidis*, während nach 42 Tagen bei 50 % der Proben eine bakterielle Penetration durch *Proteus vulgaris* eingetreten war [206]. Im Rahmen weiterer Studien wurde das Auftreten von Mikroleakage anhand eines polymikrobiellen Markers untersucht. Eine bakterielle Penetration der Wurzelkanalfüllung durch die Versuchskeime *Streptococcus sanguis* und *Prevotella intermedia* konnte durch die Wahl unterschiedlicher Sealer nicht dauerhaft vermieden werden. Bakterielle Leakages konnten zwischen 17 und 88 Tagen detektiert werden [30].

Magura et al. konnten in ihrer Studie deutlich machen, dass durch den Faktor Zeit eine Kontamination und folglich das Auftreten von Mikroleakage durch menschlichen Speichel zunimmt. Nach 90 Tagen war die Eindringtiefe größer als nach 2, 7, 14 und 28 Tagen. Aus den gewonnenen Erkenntnissen forderten die Autoren eine Revision der Wurzelkanalfüllung nach 90-tägiger Exposition vor der definitiven Versorgung des Zahnes [123].

Unabhängig davon sieht die Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) bei einer zur Mundhöhle hin frei liegenden Wurzelkanalfüllung eine Indikation für die Revision [53].

Persistierende Infektion des Wurzelkanals

Die persistierende Infektion des Wurzelkanals ist eine weitere Ursache endodontischen Misserfolgs [135, 186]. Bei einer persistierenden Infektion erweisen sich spezielle Bakterienarten oder auch Pilze wie *Candida albicans* trotz durchgeführter Wurzelkanalbehandlung als therapieresistent [146, 186]. In endodontisch behandelten Zähnen mit radiologischen Zeichen einer Parodontitis apicalis ist die Bakterienspezies *Enterococcus faecalis* signifikant häufiger vorzufinden als andere Bakterienspezies [131]. Durch persistierende Mikroorganismen kann der Ausheilungsprozess einer chronischen Parodontitis verhindert werden und die apikale Parodontitis persistieren oder sogar in eine akute Verlaufsform überführt werden. Somit können auch Fistelgänge und Exsudation aufrechterhalten werden.

Die Persistenz spezieller Bakterienarten wird durch die Bildung polymikrobieller Biofilme begünstigt [134]. Zum einen können die im Biofilm organisierten Mikroorganismen aus der extrazellulären Matrix freigesetzt und so eine Infektion aufrechterhalten werden. Zum anderen sind Mikroorganismen im Biofilm viel resistenter gegenüber antimikrobiellen Agenzien als in ihrer planktonischen (freischwimmenden) Form [101, 137]. Der polymikrobielle Biofilm bildet sich dabei in ähnlicher Weise wie die Plaque, die auf der Zahnoberfläche anzutreffen ist. Zuerst wird über eine Proteinadsorption eine Oberfläche geschaffen, an die sich planktonische Bakterien anheften. Durch so genannte Koaggregation kommt es zu einer sekundären Besiedlung. Infolge einer bakteriellen Vermehrung und der Bildung extrazellulärer Polysaccharide wird der Biofilm stabilisiert und löst sich [31]. Der polymikrobielle Biofilm etabliert sich dabei nicht nur an der Innenseite der Wurzelkanalwand, sondern auch extraradikulär auf der Wurzeloberfläche, etwa periradikulär [186]. Persistierende Mikroorganismen entstammen in der Regel aus der Bakterienflora eines primären oder sekundär infizierten Wurzelkanals. Bisher konnten *Staphylococci spp.*, *Actinomyces spp.*, *Lactobacilli spp.*, *Streptococci spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella spp.* und *Campylobacter rectus* in diesem Zusammenhang isoliert werden [177]. Neben der Persistenz bestimmter Mikroorganismen kann eine persistierende apikale Parodontitis auch durch eine unzureichende Keimreduktion während der Wurzelkanalaufbereitung verursacht werden [186].

3.2 Wurzelkanalaufbereitung

Die Hauptziele der mechanischen Wurzelkanalaufbereitung sind die Reinigung (so genanntes Cleaning) und die Formgebung (so genanntes Shaping) des Wurzelkanals [176]. Unabhängig vom Ausgangszustand der Pulpa soll durch das Cleaning das Kanalsystem sowohl von nekrotischem als auch vitalem Pulpagewebe vollständig gereinigt werden. Mikroorganismen sollen möglichst umfassend aus dem Kanallumen eliminiert und, im Fall einer infizierten Pulpanekrose, die bakteriell infizierte Zahnhartsubstanz vollständig entfernt werden [54]. Durch das Shaping soll eine von apikal nach koronal kontinuierlich konisch ansteigende Kanalform geschaffen werden, wobei die engste Stelle des instrumentierten Wurzelkanals am apikalen Endpunkt liegen soll und die apikale Konstriktion in ihrer Position nicht verändert und so klein wie nötig gehalten werden soll [176]. Dabei soll auch, im Falle gekrümmter Wurzelkanäle, der ursprüngliche Wurzelkanalverlauf weitgehend beibehalten werden und eine Schwächung der Wurzel durch einen unnötig starken Materialabtrag vermieden werden [54]. Die mechanische Aufbereitung kann manuell, maschinell oder kombiniert in einer so genannten Hybridtechnik erfolgen.

Vor Beginn der mechanischen Aufbereitung muss die exakte Festlegung der Arbeitslänge erfolgen. Der apikale Endpunkt der Arbeitslänge sollte so nah wie möglich der apikalen Konstriktion (Foramen physiologicum) festgelegt werden. Die Lokalisation der apikalen Konstriktion variiert zwischen 0,5 und 2 mm vom radiologischen Apex [64]. Die apikale Konstriktion stellt die engste Stelle des Wurzelkanals dar und stimmt meist mit der Dentin-Zement-Grenze überein.

Während radiologisch das apikale Foramen (Foramen apicale) bestimmt werden kann, kann mit Hilfe moderner Apexlokatoren die apikale Konstriktion recht genau lokalisiert werden [150]. Auch die Diagnose von Perforationen und Frakturen ist mit Hilfe endometrischer Längenmessungen relativ sicher möglich [9, 106]. Trotzdem wird empfohlen, die endometrisch ermittelte Arbeitslänge radiologisch zu überprüfen, zum einen aus forensischen Gründen, um das Risiko einer möglichen Überinstrumentierung zu reduzieren, aber auch, um eine Information über den Kanalverlauf zu erhalten. Die Anfertigung einer Messaufnahme kann sowohl Aufschluss über die Anzahl der Wurzelkanäle, deren Kanalatomie sowie über mögliche Kanalkrümmungen liefern. Zudem ist nicht in jedem Fall eine apikale Konstriktion vorhanden, insbesondere nicht bei Zähnen mit pathologischen Veränderungen wie etwa einer chronischen Parodontitis apicalis [224]. In solchen Fällen sollte das etwas weiter apikal gelegene Foramen apicale als Bezugspunkt

gewählt werden [32]. Die Aufbereitungslänge muss über die gesamte Aufbereitungsdauer strikt eingehalten werden, um eine Reizung und/oder Reinfektion des periapikalen Gewebes zu vermeiden [187].

Heutzutage werden Aufbereitungsinstrumente aus den Rohlegierungen von Chrom-Nickel-Edelstahl und Nickel-Titan angeboten. Die Nickel-Titanlegierung besteht zu 55 % aus Nickel und zu 45% aus Titan (55-Nitinol) und zeichnet sich durch eine Reihe günstiger Materialeigenschaften aus, so dass NiTi-Instrumente insbesondere zur maschinellen Aufbereitung empfohlen werden [54].

Nickel-Titan-Instrumente zeigen im Vergleich zu Edelstahlfeilen eine dreifach höhere Flexibilität. Sie besitzen ein pseudoelastisches Verhalten, durch welches die Legierung auf eine Belastung mit einer rückstellbaren Verformung antwortet, bedingt durch eine reversible Transformation im Kristallgitter [96]. Neben dieser auch als Superelastizität bezeichneten Eigenschaft, verfügt die Legierung auch über ein Formgedächtnis (shape memory), was bedeutet, dass sie nach einer irreversiblen Verformung durch Erwärmung in ihre Ausgangsform zurückkehren [6]. Vorteile bietet diese Flexibilität vor allem in der Aufbereitung gekrümmter und enger Kanäle. Durch den Einsatz rotierender NiTi-Instrumente wird der ursprüngliche Kanalverlauf gekrümmter Wurzelkanäle besser erhalten und das Risiko ungewollter Kanalbegradigungen reduziert [20, 63, 81, 82].

Frakturen von Nickel-Titan-Instrumenten können durch zyklische Ermüdung sowie Torsionen verursacht werden [166]. Als begünstigende Faktoren werden neben anatomischen Gegebenheiten wie Radius und Krümmungswinkel, auch die Anwendungshäufigkeit, die Drehmoment-Einstellung und die Erfahrung des Behandlers genannt [16, 68, 153, 230].

Daher sollte der Einsatz rotierender NiTi-Instrumente mit drehmoment-kontrollierten Mikromotoren erfolgen, bei denen das Drehmoment (Torque) individuell einstellbar ist, damit das Instrument nicht über seine Elastizitätsgrenze angewendet und die Gefahr von Torsionsfrakturen reduziert wird [71]. Da NiTi-Instrumente auch bei sachgerechter Anwendung ein erhöhtes Frakturrisiko aufweisen, sollten die Feilen nach 4-5-maliger Anwendung ausgetauscht werden. Ein druckloses (passives) Handling und die Einhaltung vorgegebener Drehzahlen werden empfohlen [54].

Maschinelle NiTi-Systeme besitzen besondere Konstruktionsmerkmale:

- Instrumentenspitze: Die meisten NiTi-Feilen besitzen eine nichtschneidende abgerundete Instrumentenspitze. Durch die sogenannte Battspitze soll die Feile besser im Kanal zentriert und das Risiko einer Kanalbegradigung minimiert werden.
- Konizität: Während der Instrumentendurchmesser bisher um 0,02 mm pro Millimeter (2 %) zunahm (ISO-Norm), wurden mit der Einführung der Nickel-Titan-Legierung auch NiTi-Systeme mit höherer Konizität (4-6% bis zu 12 %) entwickelt.
- Länge des Arbeitsteils: Einige Systeme besitzen spezielle Instrumente mit einem verkürztem Arbeitsteil und sehr großer Konizität zur initialen Erweiterung des koronalen Anteil des Wurzelkanals (*Orifice Shaper*, Maillefer, Introfeile, VDW)
- Schneidengeometrie: Hierbei unterscheiden sich die NiTi-Feilen in der Anzahl, dem Abstand der Schneiden sowie Schneidekantenwinkeln. Prinzipiell können NiTi-Feilen in aktive, semiaktive und passive Instrumentenfeilen eingeteilt werden. Nicht-schneidende Feilen haben seitliche, kufenartige Führungsflächen, so genannte „radial lands“, und U-förmige Gruben auf den Außenflächen, während schneidende Instrumente einen Dreikantquerschnitt mit konvexen Außenflächen und keine seitliche Führung besitzen.
- Instrumentenquerschnitt: Die geometrische Form der Instrumente ist vielfältig, Grundsätzlich wird durch den Querschnitt die Bruchsicherheit der Feile bestimmt. Für den Abtransport von abgetragenen Dentinspänen ist die Größe des Spanraums entscheidend.

In dieser Studie wurde mit den vollrotierenden maschinellen NiTi-Systemen *FlexMaster* und *ProFile* gearbeitet, weshalb auf diese beiden Systeme im Folgenden genauer eingegangen werden soll.

ProFile ist seit 1996 erhältlich und gehört neben *GT Rotary* und *LightSpeed* zur ersten Generation vollrotierender NiTi-Feilensysteme. Die Instrumente besitzen eine nicht schneidende Batt-Spitze und eine U-förmige Schneidengeometrie mit seitlichen Führungsflächen („radial lands“) für eine gute Zentrierung der Feile im Wurzelkanal. Dadurch wird der originäre Wurzelkanalverlauf erhalten und das Risiko einer iatrogenen Kanalbegradigung minimiert. Durch den U-förmigen Querschnitt wird ein ausreichender Abtransport der Dentinspäne gewährleistet. *ProFile*-Instrumente

besitzen aufgrund ihres geringen Kerndurchmessers eine erhöhte Flexibilität. Sie eignen sich daher insbesondere für die Aufbereitung stark gekrümmter Kanäle, während die Abtragsleistung gegenüber anderen Systemen unterlegen ist [95].

Zur Aufbereitung des koronalen Abschnitts besitzt das *ProFile*-Set so genannte *Orifice Shaper* (19 mm lange Instrumente mit einer Konizität von 5-8 %), für den mittleren Kanalabschnitt stehen *ProFile*-Instrumente mit 6 % Konizität in den Größen 15-40 zur Verfügung. Um den apikalen Kanalabschnitt zu bearbeiten werden *ProFile*-Instrumente mit 4% Konizität (Größe 15-90) auf die volle Arbeitslänge eingesetzt.

FlexMaster ist neben *ProTaper* und *Hero 642* ein Vertreter der 2. Generation und besitzt ebenfalls eine nicht schneidende Battspitze. Die *FlexMaster*-Instrumente weisen einen dreieckigen konvexen Querschnitt mit schneidenden Kanten vom modifizierten K-File-Typ auf. Einerseits ermöglicht dies eine erhöhte Schneidleistung [214]. Andererseits besteht die Gefahr, dass es bei Friktion des Instruments zu einem ungewollten Hineinziehen der Feile in den Kanal kommen kann und dass schneller eine ungewollte Kanalbegradigung erzeugt wird als bei Instrumenten mit seitlichen Führungsflächen [83]. Durch den massiven Instrumentenkern soll die Gefahr eines Instrumentenbruchs verhindert werden. Bei höheren Konizitäten verlieren die Feilen an Flexibilität, da sie im Querschnitt eine größere Oberfläche zeigen als Instrumente mit konkaven Außenflächen [208]. Bei der Anwendungssequenz unterscheidet man die Instrumentation weiter, mittlerer und enger Wurzelkanäle (blaue, rote und gelbe Sequenz).

Das Basisset von *FlexMaster* enthält die Größen 20, 25,30 in den Konizitäten 2%, 4% und 6% sowie eine *IntroFile*. Weitere Instrumente können hinzugefügt werden. Bei der Aufbereitung mit *FlexMaster* sollen die Instrumente, ohne zu starkes Focieren nach apikal, für maximal 10 Sekunden im feuchten Kanal arbeiten.

Für die 1. und 2. Generation vollrotierender Instrumente wird die *Crown-down-pressureless-Technik* empfohlen, bei der zwischen einer koronalen und apikalen Sequenz unterschieden wird. Nachdem mit einer *Intro*-Feile ein koronaler Zugang geschaffen wurde, erfolgt die koronale Aufbereitung in der Crown-down-Sequenz mit Instrumenten .04 und .06 Konizität. Dabei werden die immer dünner werdenden Instrumente tiefer in den Kanal eingeführt, bis das apikale Kanaldrittel erreicht ist. Im Anschluss erfolgt die apikale Erweiterung (apikale Sequenz) mit der Step-back-Technik, von apikal nach koronal. Mit zunehmenden Instrumentengrößen der .02 Konizität wird auf die volle Arbeitslänge aufbereitet, während stets auf eine drucklose Anwendung geachtet werden muss. Durch die frühe koronale Erweiterung kann zum

einen eine verbesserte Spülung erzielt und zum anderen das Risiko einer Extrusion von Debris nach apikal reduziert werden [4, 162]. Für die Beurteilung einer qualitativen Präparation sind die Reinigungswirkung, Formgebung, Arbeitssicherheit und Arbeitszeit maßgebliche Bewertungskriterien.

In einer Studie von Sonntag et al. wurde die Leistung der rotierenden NiTi-Systeme *FlexMaster* und *M-File* in gekrümmten Kanäle untersucht und verglichen. Während beide Systeme keine Zip- oder Ledge- Konfigurationen nach der Kanalaufbereitung zeigten, wies nur *FlexMaster* bei der Instrumentierung von simulierten Wurzelkanälen in Acrylblöcken keine Instrumentenfrakturen auf. Die Aufbereitung dauerte allerdings bei *FlexMaster* pro Wurzelkanal rund vier Minuten länger [196]. Auch Hübscher et al. konnte *FlexMaster* eine geringe Frakturnrate bescheinigen. *FlexMaster* zeigte sich hinsichtlich zyklischer Ermüdung widerstandsfähig und erzeugte niedrige Drehmomente [93]. Weiger et al. kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass mit *FlexMaster* gekrümmte Kanäle ähnlich gut aufbereitet werden können wie mit *LightSpeed*-Instrumenten, bei einem gleichzeitig reduzierten Frakturrisiko [215]. In einer Studie von Hülsmann et al. konnte mit *FlexMaster* zwar der originäre Wurzelkanalverkauf in gekrümmten Wurzelkanälen beibehalten werden, jedoch konnte ähnlich wie mit *HERO 642* der Smear Layer und Debris nur unzureichend entfernt werden [94]. Mit *ProFile* konnten gut ausgeformte konische Kanäle mit nur geringem Verlust der Arbeitslänge erzielt werden [23]. Eine Studie von Schäfer et al. ergab, dass mit *FlexMaster* in gekrümmten Kanälen signifikant weniger Kanalbegradigungen erzeugt wurden als mit Handinstrumenten, bei verkürzter Aufbereitungsdauer [172]. Hinsichtlich der Keimreduktion konnten Dalton et al. keinen signifikanten Unterschied zwischen der maschinellen Aufbereitung mit Profile und der manuellen Aufbereitung mit K-Feilen mit der Step-back-Technik feststellen. Eine vollständige Keimreduktion konnte mit keiner Technik erzielt werden [39].

Neben einer ungenügenden Reinigung der Wurzelkanalwände werden auch schwer zugängliche Bereiche des Wurzelkanalsystems wie laterale Kanäle, Isthmen und apikale Deltas während der mechanischen Aufbereitung nicht ausreichend erfasst [27, 127, 133]. Im Kanal verbliebene Mikroorganismen und Gewebsreste können die Folge und die Ursache für eine persistierende Infektion sein [191]. Um eine effiziente Reinigung und Desinfektion des Kanalsystems zu erzielen, muss die mechanische Aufbereitung durch die Verwendung von antibakteriell wirksamen und gewebsauflösenden Spüllösungen (chemisches Debridement) komplementiert werden, im Rahmen einer chemo-mechanischen Aufbereitung.

3.3 Wurzelkanalspülung

Bei der chemo-mechanischen Aufbereitung wird intermittierend, d.h. nach jeder Instrumentengröße, gespült. Zum einen sollen durch die Wurzelkanalspülung Dentinspäne aus dem Kanallumen herausgeschwemmt, zum anderen vitales und nekrotisches Restgewebe gelöst werden. Im infizierten Endodont sollen zudem Mikroorganismen effektiv reduziert und bakterielle Endotoxine neutralisiert werden [55]. Des Weiteren soll die Gleitwirkung der Aufbereitungsinstrumente verbessert und einer ungewollten Verkantung und einer Instrumentenfraktur vorgebeugt werden [56]. Auch soll die infolge der mechanischen Aufbereitung entstandene Schmierschicht entfernt werden.

Manuelle Applikation

Konventionell wird die Spüllösung mit Hilfe mit einer möglichst dünnen Injektionsnadel (Durchmesser 0,4 mm) durch pumpende Bewegungen bei lockerer Positionierung in den Wurzelkanal injiziert. Die Eindringtiefe der Spülnadel ist für eine effektive Spülwirkung von entscheidender Bedeutung, da die Wirkung der Spüllösung nur 1-2 mm über die Nadelspitze hinausreicht. Somit muss der Kanal während der mechanischen Aufbereitung entsprechend weit aufbereitet werden [155]. So wird schon ab einer Aufbereitung bis ISO 30, das Vordringen der Spüllösung in das apikale Kanaldrittel verbessert und eine gute Spülwirkung erzielt [109]. Neben der Aufbereitungsgröße, wird die Eindringtiefe der Kanüle von der Größe und Flexibilität der Kanüle sowie der Kanalanatomie bestimmt.

Auswahl der Spüllösung

Neben einer adäquaten Spültechnik muss auch eine geeignete Spüllösung ausgewählt werden. Diese sollte möglichst folgende Anforderungen erfüllen:

- Geringe Toxizität
- Inaktivierung bakterieller Toxine
- Penetrationsvermögen
- Niedrige Oberflächenspannung
- Schmiereffekt
- Bakterizide und gewebssauflösende Wirkung
- Auflösung der Schmierschicht

Um den Biofilm in infizierten Wurzelkanälen aufzulösen, muss eine ausreichend lange Einwirkung der Spüllösung erfolgen [199]. Auch kann in Abhängigkeit von der Applikationsmenge und -dauer, der Konzentration und der Temperatur der jeweiligen Spüllösung die antimikrobielle Wirksamkeit der Spüllösungen gesteigert werden [55]. Die in der Praxis meist verwendeten Spüllösungen sind Natriumhypochlorit, Wasserperoxid, EDTA, Zitronensäure, Kochsalzlösung und Chlorhexidindigluconat (kurz CHX). Es wird empfohlen eine Kombination aus mehreren Spüllösungen zu verwenden, da eine Spüllösung allein die oben aufgeführten Anforderungen nicht erfüllen kann. Im Rahmen dieser Studie wurde eine Kombination aus Natriumhypochlorit und Zitronensäure verwendet.

Natriumhypochlorit

Mit Natriumhypochlorit wird ein großer Teil der Anforderungen an eine endodontisch wirksame Spüllösung erfüllt, daher wird Natriumhypochlorit insbesondere während der chemo-mechanischen Aufbereitung als Spüllösung der ersten Wahl angesehen. Natriumhypochlorit wirkt stark antibakteriell, besitzt die Fähigkeit Pulpagewebe und nekrotisches Material aufzulösen und Lipopolysaccharide (Endotoxine) zu neutralisieren [12, 25, 189]. Uneinigkeit herrscht in der Literatur über die optimale Konzentration hinsichtlich der antimikrobiellen und gewebsauflösenden Wirkung. Siqueira et al. konnten keine signifikanten Unterschiede in der antibakteriellen Wirksamkeit bei den Konzentrationen von 1 %, 2,5 % und 5 % feststellen. Die Autoren beobachteten, dass nicht die Konzentration, sondern vielmehr die Applikationsmenge entscheidend ist [192]. Im Allgemeinen wird Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 0,5 % bis 5 % empfohlen. Dabei sollte die Maximalkonzentration von 5,25 % nicht überschritten werden, da mit steigender Konzentration die Gewebstoxizität zunimmt [231].

Bei Anwesenheit von organischem Material zerfällt die Natriumhypochlorit-Lösung in Na⁺- und Cl⁻-Ionen, und es folgt die Inaktivierung der antimikrobiellen Wirkung [26]. Somit ist neben dem Volumen auch die Kontaktzeit ein relevanter Faktor. Die Spülung mit Natriumhypochlorit sollte kontinuierlich erfolgen und die Spüllösung häufig erneuert werden. Unabhängig von der Konzentration kann durch Natriumhypochlorit alleine die Schmierschicht, auch als Smear layer bezeichnet, nicht aufgelöst werden [12, 229].

Schmierschicht (Smear layer)

Durch die mechanische Aufbereitung entsteht eine Schmierschicht auf den Wurzelkanalwänden, die aus anorganischen Ablagerungen und organischen Komponenten wie Pulpa und Gewebsresten, Blut, Speichel und Bakterien besteht [37]. Die Schmierschicht besitzt eine 1-5 µm dicke oberflächliche Schicht, die der Wurzelkanalwand aufliegt und eine tiefe Schicht, die bis zu 40 µm in die Dentintubuli hineingepresst wird und zu einer tubulären Verbolzung führt [120].

Über die Bedeutung des Smear layers gibt es in der Literatur unterschiedliche Auffassungen. Auf der einen Seite wird ein Belassen des Smear layers von einigen Autoren als vorteilhaft angesehen, da die Dentinpermeabilität gegenüber Bakterien und Toxinen herabgesetzt wird [57]. Andere Autoren postulieren, dass die Schmierschicht als Nährboden und Reservoir für Bakterien dient und diese vor desinfizierenden Agenzien geschützt werden [147, 207].

Hinsichtlich der Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllungen konnte gezeigt werden, dass die Entfernung des Smear layers zu geringeren Mikroleakagewerten führt, insbesondere auch bei Sealern auf Epoxidharzbasis [14, 59, 78, 180, 204]. Nach Entfernung des Smear Layers kann der Sealer in die freigelegten Dentintubuli penetrieren, was zu einer besseren Haftung des Wurzelfüllmaterials an der Kanalwand führt [78, 144].

Zitronensäure

Zitronensäure zählt neben EDTA zu den Chelatoren und wirkt bei der Entfernung des Smear layers sehr effektiv [165]. Während Zitronensäure im Vergleich zu Natriumhypochlorit eine geringe antibakterielle Wirkung besitzt, können durch sie anorganische Komponenten im Kanalinneren gelöst werden [168]. Infolge des niedrigen pH-Wertes werden Kalzium-Ionen gelöst und in einem Komplex gebunden. Zitronensäure gilt als biokompatibel und wird in Konzentrationen von 5-50 % angeboten. Um den Smear layer effektiv zu entfernen, ist weniger die Konzentration als vielmehr der pH-Wert von Bedeutung: Zitronensäurelösungen mit niedrigem pH-Wert sind Lösungen mit hohem pH-Wert, die das peritubuläre Dentin mehr zerstören, überlegen [90]. Durch eine alternierende Spülung mit Natriumhypochlorit wird durch das entstehende Chlorgas (Schaumeffekt) neben dem Reinigungseffekt auch die Auflösung und Entfernung des Smear layers gefördert [119, 229].

Ultraschallaktivierung

Durch die Anwendung von Schall- oder Ultraschallsystemen kann die Wirkung und Effektivität der Spüllösung im Wurzelkanal gesteigert werden. Die passive Ultraschall-Aktivierung (PUI = Passive Ultrasonic Irrigation) zeigt sich sowohl der rein konventionellen Spülung als auch den niederfrequenten Schallsystemen überlegen [209, 218]. Durch Einsatz dieses Verfahrens kann insbesondere im apikalen Kanal Drittel eine verbesserte Reinigungswirkung erzielt werden [8, 18, 84].

Bei der passiven Ultraschallaktivierung wird Ultraschallenergie entweder direkt, über ein eingespanntes Instrument am Ultraschallgerät oder indirekt auf die Spülflüssigkeit übertragen, indem der Ultraschallansatz an ein im Kanal befindliches Instrument angelegt wird. Als Übertragungsinstrumente werden schneidende K-Feilen der ISO-Größen 15-20 verwendet, aber auch die Verwendung nicht schneidender Fingerspreader ist möglich. Dabei wird ein Großteil der Schwingungsenergie weniger seitlich, sondern vielmehr in Längsrichtung des Instruments frei. In einem Frequenzbereich von 25-40 kHz, kommt es während der Ultraschallaktivierung zu akustischen Strömungsphänomenen, bezeichnet als Microstreaming, die sich vorteilhaft auf die Reinigungseffizienz auswirken [210]. Debris und Teile des Smear layers werden einfacher von der Kanalwand gelöst und die Spüllösung besser in dem komplexen Wurzelkanalsystem verteilt– einschließlich Bereichen, die der mechanischen Aufbereitung nicht zugänglich sind. An der Spitze des Ultraschall-instruments kommt es zusätzlich zu Kavitationseffekten, einer Implosion von Blasen, deren Bedeutung noch nicht abschließend geklärt ist [1]. Durch die mechanische Energie kommt es zusätzlich zu einer Erwärmung innerhalb der Spülflüssigkeit, was im Fall von Natriumhypochlorit zu einer Steigerung der Wirkung und zu signifikant saubereren Wurzelkanälen führt [36].

Entscheidend ist, dass die Feile frei im Kanal ohne Wandkontakt schwingen kann. Andernfalls kann es neben einer ungenügenden Verteilung des Flüssigkeitsvolumens zu einer iatrogenen Stufenbildung oder einer seitlichen Perforation innerhalb der Wurzelkanals kommen [126, 161].

Trocknen der Wurzelkanäle

Am Ende der chemo-mechanischen Reinigung erfolgt die abschließende Spülung mit 70-95%-igem Ethanol. Dadurch wird die Trocknung des Wurzelkanals durch Verdunstung des Alkohols beschleunigt und die Oberflächenspannung an der

Kanalwand reduziert. Die Penetration des Sealers in die Dentintubuli wird verbessert und das Vorkommen möglicher Leakages in Wurzelkanalfüllungen wesentlich reduziert [200]. Eine Restfeuchtigkeit im Kanal kann die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung sealerabhängig beeinflussen [159].

3.4 Die Wurzelkanalfüllung

Nach der chemo-mechanischen Aufbereitung und Trocknung erfolgt abschließend die Wurzelkanalfüllung, an die folgende Kernanforderungen bestehen [64]:

- das gesamte Kanalsystem, offene Dentintubuli und akzessorische Seitenkanäle dicht verschließen, um so einer Passage von Mikroorganismen und Flüssigkeiten entlang der Kanalwand vorzubeugen.
- einer möglichen Reinfektion sowohl von koronal als auch von apikal vorbeugen und zugleich das Wachstum und den Übertritt im Kanal verbliebener Mikroorganismen in den Periapex verhindern
- möglichst homogen sein und bis an die apikale Konstriktion reichen.

Ein Überstopfen des Wurzelfüllmaterials kann eine Fremdkörperreaktion im periapikalen Gewebe provozieren und sollte daher ebenso vermieden werden, wie eine zu kurze Wurzelfüllung, die ein Wiederaufflammen der Entzündungsreaktion begünstigen kann [108, 158].

Auch materialseitig bestehen zahlreiche Anforderungen, um einen dauerhaft dichten Verschluss des anatomisch komplexen Wurzelkanalssystems zu sichern. Das Wurzelfüllmaterial sollte biokompatibel, dimensionsstabil, unempfindlich und unlöslich gegenüber Gewebsflüssigkeiten sein, bakterielles Wachstum nicht fördern, röntgenopak und im Bedarfsfall auch wieder einfach aus dem Kanal entfernbar sein [64]. Prinzipiell besteht eine Wurzelkanalfüllung aus einem volumenstabilen Kernmaterial und einer erhärtenden Paste, dem sogenannten Sealer.

Überblick über Kernmaterialien

Die Kernmaterialien, sogenannte Wurzelkanalstifte, werden in Verbindung mit dem Sealer in den Wurzelkanal eingebracht, kondensieren den umliegenden Sealer und bilden den stabilen Kern einer Wurzelkanalfüllung. Generell kann zwischen halb-festen und festen Stiften unterschieden werden.

Als Vertreter der festen Stifte sind sowohl Silber,- Titan, und Kunststoffstifte zu nennen. Aufgrund der fehlenden Komprimierbarkeit können feste Stifte im Wurzelkanal nicht kondensiert werden, um so die Abbindeschrumpfung des Sealers zu kompensieren. Randundichtigkeiten sind die Folge [51]. Auch ist die Entfernbarkeit eines festen Stiftes im Falle einer Revision erschwert oder sogar unmöglich. Silberstifte weisen im Vergleich zu Wurzelfüllpasten eine erhöhte Röntgenopazität auf, was die radiologische Überprüfung der Wurzelkanalfüllung nachteilig beeinflusst. Zudem setzen Silberstifte Korrosionsprodukte in Kontakt mit Gewebsflüssigkeiten (auch im Wurzelkanal) in Form von Silbersulfat, Silberchlorid, Silbersulfit, Silbercarbonat frei und können eine akute Entzündung am Periapex hervorrufen [89, 111]. Folglich ist deren Verwendung obsolet [51]. Titanstifte können zur dauerhaften Wurzelkanalfüllung begrenzt eingesetzt werden. Sie können beschränkt für enge, gekrümmte Wurzelkanäle eingesetzt werden, wenn eine weitere Aufbereitung und eine Obturation mit Guttaperchastiften nicht möglich ist. Trotz ihrer hohen Biokompatibilität und Korrosionsbeständigkeit führen sie nur zu einer ungenügenden Abdichtung infolge ihres runden Querschnitts und der mangelnden Komprimierbarkeit. Reine Kunststoffstifte finden im klinischen Gebrauch als Wurzelfüllmaterial keine Anwendung mehr, während die Kombination mit Kunststoffträger und Guttapercha heutzutage eine gängige Wurzelfülltechnik darstellt.

Guttapercha

Guttapercha zählt zu den halbfesten Stiften, da es ist durch Erwärmung und organische Lösungsmittel verformt werden kann. Neben einer hohen Gewebsverträglichkeit weist Guttapercha ein gutes Abdichtungsvermögen, eine einfache Entfernbarkeit und Handhabung auf [51]. Handelsübliche Guttaperchastifte sind in verschiedenen Konizitäten erhältlich, entsprechend der Normierung der Wurzelkanalinstrumente. Sie bestehen aus einer Guttaperchamatrix (20-45 %), aus Füllstoffen (33 - 61 % Zinkoxid), aus Wachsen, Harzen und Kunststoffen zur Erhöhung der Plastizität (1,0 - 4,1 %) Metallsulfaten als Röntgenkontrastmittel und Farbstoffen.

Chemisch ist Guttapercha ein hochmolekulares Polymer und gleicht in seinem Aufbau dem Naturkautschuk.

Guttapercha ist bei niedrigen Temperaturen dimensionsstabil und ab Temperaturen von 60 °C plastisch verformbar. Es kann sowohl in einer kristallinen Phase, der sogenannten Alpha- oder Beta-Phase, oder aber in einer amorphen Phase vorliegen. Während Guttapercha in seiner natürlich vorkommenden Kristallform, als Alpha-Guttapercha vorliegt, kann diese nach Erwärmung auf eine Temperatur von 42-49 °C in eine Beta-Form überführt werden. Konventionelle Guttaperchastifte liegen in der Beta-Form vor, während bei thermoplastischen Fülltechniken Alpha-Guttapercha verwendet wird. Eine anhaltende Erwärmung auf 53-59 °C und höher führt zur Umwandlung in eine amorphe Phase [175]. Bei gleichmäßiger Abkühlung findet eine Rückführung in die Beta-Form statt. Die Phasenumwandlung ist mit einer Volumenänderung assoziiert, was bei bestimmten Fülltechniken berücksichtigt werden muss. Je höher die Erwärmungstemperatur ist, desto höher fällt die Schrumpfung der Guttapercha bei der Abkühlung aus.

Obwohl Guttapercha vielen Anforderungen an ein Wurzelfüllmaterial entspricht, führt Guttapercha allein, nur zu einer ungenügenden Abdichtung des Wurzelkanals [195, 227]. Daher wird eine Kombination von Guttapercha mit einer erhärtenden Paste (Sealer) empfohlen.

Überblick über die verschiedenen Sealertypen

Durch den Sealer sollen die Spalträume zwischen der Guttapercha und der Kanalwand oder auch je nach Technik zwischen den einzelnen Guttapercha-Stiften gefüllt werden. Neben dem Verschluss offen liegender Dentintubuli und lateraler und akzessorischer Kanäle, sollen Unebenheiten entlang der Kanalwand ausgeglichen werden und die Adaptation der Guttapercha gesteigert werden [227].

Mit der alleinigen Verwendung eines Sealers kann ein Wurzelkanal bislang nicht bakteriendicht verschlossen werden. Entscheidend dafür ist die mangelnde Dimensionsstabilität, die zum einen auf das Löslichkeitsverhalten gegenüber Flüssigkeiten und zum anderen auf eine abbindungsbedingte Schrumpfung zahlreicher Sealer zurückzuführen ist [86, 107, 112, 139, 148, 173]. Infolge der Auflösung und der Schrumpfung entstehen Hohlräume, wodurch eine potentielle Mikroleakage gefördert wird. Basierend auf diesen Erkenntnissen wird empfohlen,

den Kernanteil an Guttapercha so groß wie möglich und den Sealeranteil so groß wie nötig zu halten [41, 77, 112].

Die bisher gebräuchlichsten Sealer können anhand ihrer Basisprodukte eingeteilt werden. Die ersten klassischen Wurzelkanalsealer basieren auf einer Zinkoxid-Eugenolbasis (z.B. *Grossmann's Cement*, *Tubli-Seal*, *Pulp Canal Sealer*). Es handelt sich um Zweikomponenten-Präparate, die nach dem Anmischen von Pulver und Flüssigkeit ein instabiles Zinkoxideugenolat bilden [217]. Die Pasten sind gegenüber Gewebsflüssigkeiten löslich und können durch das freigesetzte Eugenol eine allergische Reaktion hervorrufen. Es folgten Calciumsalicylat-basierte Sealer mit Calciumhydroxid (z.B. *Apexit*, *Sealapex*), die sich durch eine sehr gute Biokompatibilität auszeichneten [51]. Während die Wasserlöslichkeit von *Apexit* als gering bewertet wurde, zeigte *Sealapex* eine Löslichkeit von 10 % nach 28-tägiger Wasserlagerung [173]. Auch Sealer auf Glasionomer-Basis (z.B. *Ketac-Endo*) zeigten sich hinsichtlich ihrer Biokompatibilität Zinkoxid-Eugenol-basierten Sealern überlegen. Trotz einer erhöhten initialen Wasserlöslichkeit zeigten diese Sealer jedoch insgesamt ein akzeptables Abdichtungsvermögen [173]. Als nachteilig erweist sich ihre erschwerte Entfernbarkeit im Fall einer Revisionsbehandlung. Sealer auf Polyketon-Basis (*Diaket*) sind in erhärtetem Zustand als biokompatibel zu bewerten und zeigten eine geringe Löslichkeit sowohl gegenüber Wasser, als auch Speichel [173]. Lange Zeit wurden die Sealer als retrogrades Verschlussmaterial bei der Wurzelspitzenresektion verwendet. Heute wird *Diaket* jedoch nicht mehr produziert. Pasten auf Methacrylatbasis (*Hydron*) sind teilweise resorbierbar und unterliegen starken Volumenschwankungen in An- und Abwesenheit von Feuchtigkeit. Neben den schlechten werkstoffkundlichen Eigenschaften, erwies sich *Hydron* kurz nach dem Anmischen als zytotoxisch und kann als Wurzelfüllmaterial nicht mehr empfohlen werden [51].

Aktuell werden auch Sealer auf einer Polydimethylsiloxan-Basis (*RoekoSeal Automix*, *GuttaFlow*) angeboten. Erstmals wurde mit *RoekoSeal* ein additionsvernetzender, silikonbasierter Sealer eingeführt, der neben einer guten Biokompatibilität auch eine sehr gute Haftung an das Dentin zeigt [76]. Mit *RoekoSeal* werden mit unterschiedlichen Fülltechniken dichte Wurzelkanalfüllungen erzielt, begünstigt durch eine Expansion des Materials [140]. Als Weiterentwicklung des *RoekoSeal* folgte das *GuttaFlow*, dem mikrofeine, kugelförmige Guttaperchapartikel und weiterhin Nanosilber als antibakterieller Zusatz beigefügt wurden. Neben seinen guten Fließ-eigenschaften weist *GuttaFlow* auch ein gutes Abdichtungsvermögen auf [211, 226]. Zudem gibt es mittlerweile auch adhäsive Sealer (*Resilon*, *RealSeal*), bei denen

durch die Verwendung eines zusätzlichen Primers ein Monoblock mit den angrenzenden Verbundflächen erzielt werden soll [69].

Trotz der Bandbreite und Weiterentwicklungen innerhalb der Wurzelfüllmaterialien, haben sich insbesondere Sealer auf einer Epoxidharzbasis (*AH Plus*, *AH 26*) bewährt. Neben einer ausgezeichneten Volumenbeständigkeit zeigen die Präparate auch ein gutes Abdichtungsvermögen [40, 42, 51, 142]. *AH Plus* ist eine Weiterentwicklung des *AH 26* und wurde durch den Verzicht auf den Inhaltstoff Hexamethylentetraamin in seiner Zusammensetzung modifiziert. Bei *AH 26* wurden kurz nach dem Anmischen geringe Mengen von Formaldehyd frei infolge des Hexamethylentetraamins [198]. *AH Plus* erweist sich hinsichtlich seiner Biokompatibilität gegenüber seinem Vorgänger *AH 26* als vorteilhaft, bei gleichwertigen physikalischen und werkstoffkundlichen Eigenschaften [116]. *AH Plus* zeigt sich hinsichtlich der Löslichkeit anderen Sealern deutlich überlegen und erzeugt eine geringe Filmdicke [128, 173]. Es zeigt gute Haftwerte zum Dentin der Wurzelkanalwand und expandiert leicht [62, 69, 140]. Generell werden Sealer auf Epoxidharzbasis zur definitiven Wurzelkanalfüllung als sehr empfehlenswert eingestuft [51].

AH Plus ist sowohl in Tuben zum manuellen Anmischen wie auch in modernen Doppelkammerspritzen, als *AH Plus Jet*, erhältlich. Beim Mischen der beiden Pasten kommt es zu einer Additionspolymerisation, bei der Diepoxide und Mono-/Diamine zu einem Epoxidamin reagieren [48]. Die Abbindezeit unter Mundbedingungen beträgt mehrere Stunden, so dass sich für den Behandler eine ausreichende Verarbeitungszeit ergibt.

Neben den erhärtenden Pasten (Sealer) können auch weichbleibende Pasten als temporäre, medikamentöse Einlage zum Einsatz kommen. Die heute gebräuchlichen Einlagen basieren auf einer Calciumhydroxidbasis. Durch den stark alkalischen Charakter wirkt Calciumhydroxid stark antibakteriell [194]. Von einem dauerhaften Verschluss mit weichbleibenden Pasten ist jedoch abzuraten, da sie löslich sind und vom umliegenden Gewebe resorbiert werden [139].

Überblick über Obturationstechniken

Bisher sind über 100 Fülltechniken bekannt, von denen sich jedoch nur einige im klinischen Gebrauch durchsetzen konnten. Grundsätzlich kann man je nach Verarbeitung der Guttapercha zwischen Kalt- und Warmfülltechniken unterscheiden.

- *Kaltfülltechniken:* Einstifttechnik, laterale Kompaktionstechnik, Non-Compaction-Technik, trägerbasierte- und Injektionstechniken
- *Warmfülltechniken:* vertikale Kompaktionstechnik, warme laterale Kompaktion, thermoplastische Injektionstechniken, trägerbasierte Techniken (*Thermafil*), thermomechanische Kompaktion

Bei den Kaltfülltechniken werden Guttaperchastifte auf Basis der viskösen, steifen Beta-Guttapercha verwendet. Darunter hat sich insbesondere die laterale Kondensationstechnik als universelle Methode zur Wurzelkanalfüllung etabliert und wird heutzutage als Standardtechnik an deutschen Universitäten gelehrt.

Laterale Kompaktionstechnik

Das Prinzip der lateralen Kompaktion beruht auf der Füllung des Wurzelkanals mit einem Hauptstift (Masterpoint) und zusätzlichen Nebensäften, die durch lateralen Druck mit einem Spreizinstrument (Spreader) nach lateral kompaktiert werden und durch diese Verdichtung Platz für weitere Nebensäfte zu schaffen. Die Auswahl eines geeigneten Spreaders ist dabei unerlässlich, da Form und Eindringtiefe das Abdichtungsvermögen der Wurzelkanalfüllung beeinflussen. Um eine dosierte Kraftanwendung zu erzeugen, zeigen sich Fingerspreader den Handspreadern überlegen [117]. Insbesondere die NiTi-Spreader üben nur einen geringen Stress auf die Kanalwände aus und können bei gleichem Druck in gekrümmten Wurzelkanälen signifikant tiefer in das Kanalsystem eindringen [15, 100].

Zum Vorgehen: entsprechend der größten, auf voller Arbeitslänge eingesetzten Aufbereitungsfeile (Masterfeile-MAF) wird ein ISO-genormter Guttaperchastift ausgewählt (Masterpoint) und bis auf die volle Arbeitslänge mit einer Klemmpassung (so genannter tug back) in den Wurzelkanal eingepasst. In einem ersten Kompaktionsschritt wird der Masterpoint mit Hilfe eines ISO-genormten Spreaders gegen die Kanalwand adaptiert und teilweise plastisch verformt. Um die Verdichtung möglichst nach apikal auszudehnen, sollte der zuerst verwendete Spreader mindestens 2 mm bis an die volle Arbeitslänge heranreichen. Anschließend wird der

Spreader vorsichtig aus dem Kanal entfernt und der neu geschaffene Raum mit einem Nebenstift gefüllt. Die Nebenstifte werden in der gleichen ISO-Größe (oder eine Größe kleiner) als der verwendete Spreader gewählt und auf die Länge des zuvor verwendeten Spreaders eingebracht. Dieser Vorgang wird so lange wiederholt, bis sich der Spreader nur noch bis zum oberen Kanaldrittel einbringen lässt. Durch dieses Vorgehen wird der Hauptkanal sukzessiv nahezu homogen mit Guttapercha gefüllt, der Sealer teilweise in kleine Seitenkanäle gepresst und eine gute wandständige Wurzelkanalfüllung erzielt [111]. Durch den Spreadereinsatz wird der Sealeranteil wesentlich reduziert. Im Vergleich zur Einstifttechnik können mit der lateralen Kompaktion auch in ovalen und nierenförmigen Kanalformen dichte Wurzelkanalfüllungen erzielt werden [91].

Die laterale Kompaktionstechnik ist sowohl zeit- als auch techniksensitiv. So kann durch ein zu forciertes Kompaktieren eine vertikale Wurzelfraktur als Komplikation provoziert werden [129]. Des Weiteren kann durch den Druck des Spreaders, Wurzelfüllmaterial über den Apex gepresst werden, was wiederum zu potentiellen Fehlstellen innerhalb der Wurzelkanalfüllung führen kann [66]. Um klinisch gute Ergebnisse zu erzielen, ist eine längere Übungsphase erforderlich.

Non-compaction-Technik

Die Non-compaction-Technik stellt eine modifizierte Form der lateralen Kompaktion dar. Bei dieser Obturationstechnik wird ebenfalls mit einem Masterpoint und akzessorischen Nebenstiften das Kanalsystem verschlossen. Jedoch wird auf die Verwendung eines Spreaders und damit auf die Kompaktion der Guttapercha verzichtet. Nach dem Einführen des Masterpoints auf Klemmpassung werden die Nebenstifte entlang des Masterpoints in den bislang noch nicht mit Guttapercha gefüllten Bereich in den Kanal eingeführt, bis das Kanallumen möglichst vollständig mit Guttapercha ausgefüllt ist. Die Non-compaction-Technik ist weniger techniksensitiv als die laterale Kompaktion, verdichtet jedoch die Guttaperchastifte kaum.

Single-cone-Technik (Einstifttechnik)

Weist ein gerader Kanal einen runden Querschnitt auf und wurde nach konventioneller Aufbereitungstechnik aufbereitet, kann die Einstifttechnik (Single-cone-Technik) empfohlen werden [92,149]. Voraussetzung ist eine optimale Formkongruenz zwischen Guttaperchastift und der Präparationsform des Wurzelkanals: ein schon normierter Guttaperchastift ohne Sealer sollte den Kanal

nahezu passgenau verschließen. Der Masterpoint entspricht in Konizität und Größe dem zuletzt verwendeten Aufbereitungsinstrument (Masterfeile) und wird, mit etwas Sealer beschickt, bis auf volle Arbeitslänge in den Kanal eingebracht. Durch eine gute Passgenauigkeit wird nur eine geringe Filmdicke des Sealers sowohl an der Kanalwand wie auch am Masterpoint benötigt.

Da Wurzelkanäle nur in seltenen Fällen in allen Kanalabschnitten der Form des genormten Guttaperchastiftes entsprechen, kann die Einstifttechnik nur begrenzt eingesetzt werden. Anderenfalls kommt es in bestimmten Kanalabschnitten zu einem erhöhten Sealeranteil, eine ungenügende Wandständigkeit der Wurzelkanalfüllung kann die Folge sein [221]. Ein weiterer Nachteil an dieser Technik ist, dass durch eine fehlende Kondensation sowohl Seitenkanäle wie auch Unebenheiten im Wurzelkanal nur unzureichend gefüllt werden [92].

Thermafil-Warmfülltechnik

Die trägergestützte Guttapercha in ihrer ursprünglichen Form wurde erstmals 1978 von Johnson erwähnt [99]. Die Grundidee dieser Technik war, durch den Objektträger den Guttaperchaanteil und die damit verbundene nachteilige Abbindeschrumpfung der Guttapercha während der Abkühlung zu reduzieren. Als Weiterentwicklung dieser Methode gilt das *Thermafil*-System. Seit 1984 basiert das System auf einem flexiblen Kunststoffträger (Carrier), der mit einer Schicht Alpha-Guttapercha ummantelt ist.

Die *Thermafil*-Stifte (Obturatoren) sind in unterschiedlichen Konizitäten (4-10 %) verfügbar und auf die heutigen Nickel-Titan-Wurzelkanalinstrumente abgestimmt. Bei der Wahl der korrekten Obturatorgröße wird der Durchmesser des Kanals mit einem *Verifier* (einem Instrument zur Verifizierung des Wurzelkanals nach der Aufbereitung, identisch mit *ProFile* .04-NiTi-Instrumenten) überprüft. Die Obturatoren liegen vor der Erwärmung leicht überdimensioniert vor und können dadurch nicht direkt in den Kanal einprobiert werden (Cone Fit). Die Arbeitslänge wird mit einem Gummistopper markiert, bevor der Thermafilstift in einen speziellen Vorwärmofen (*Thermaprep Plus Oven*, Dentsply Maillefer) erwärmt wird. Der Kunststoffträger dient als Applikationshilfe und stellt sicher, dass die erwärmte Guttapercha bis auf die volle Arbeitslänge in den Kanal eingebracht wird. Anschließend wird der Träger (Carrier) rotierend oder mit einem heißen Instrument auf Höhe des Kanaleinganges abgetrennt. Entscheidend ist ein definierter apikaler Stopp bei dieser Technik, da sonst eine gegenüber der lateralen Kompaktionstechnik erhöhte Gefahr besteht, Wurzelfüllmaterial in den Periapex zu überpressen [58, 80, 174]. Fehlt die apikale

Konstriktion, sollte die *Thermafil*-Technik nicht verwendet werden, ebenso wenn der Wurzelkanal nicht bis zu einer Konizität von 4 % erweitert werden kann [49]. Während der Aufbereitung sollte ein fließender Übergang zwischen apikalem und mittlerem Kanaldrittel geschaffen werden, um einen kontinuierlichen Vorschub der erwärmten Guttapercha zu gewährleisten.

Mit *Thermafil* wird ein homogenes Maß an Guttapercha im Kanal erzeugt und laterale und akzessorische Kanäle werden mit abgefüllt [33,35]. Neben einem guten Fließvermögen zeigt *Thermafil* auch eine sehr gute Haftfestigkeit an der Kanalwand. [99] Im Gegensatz zur lateralen Kompaktion sollen bei *Thermafil* dünnere Sealerschichten erzeugt werden [74, 98]. Die Kombination von *Thermafil* mit kunstharzbasierten Sealern kann empfohlen werden, da die Sealereigenschaften durch die Hitze nur unwesentlich beeinflusst werden [132].

4 Material und Methoden

4.1 Übersicht und Arbeitsschritte

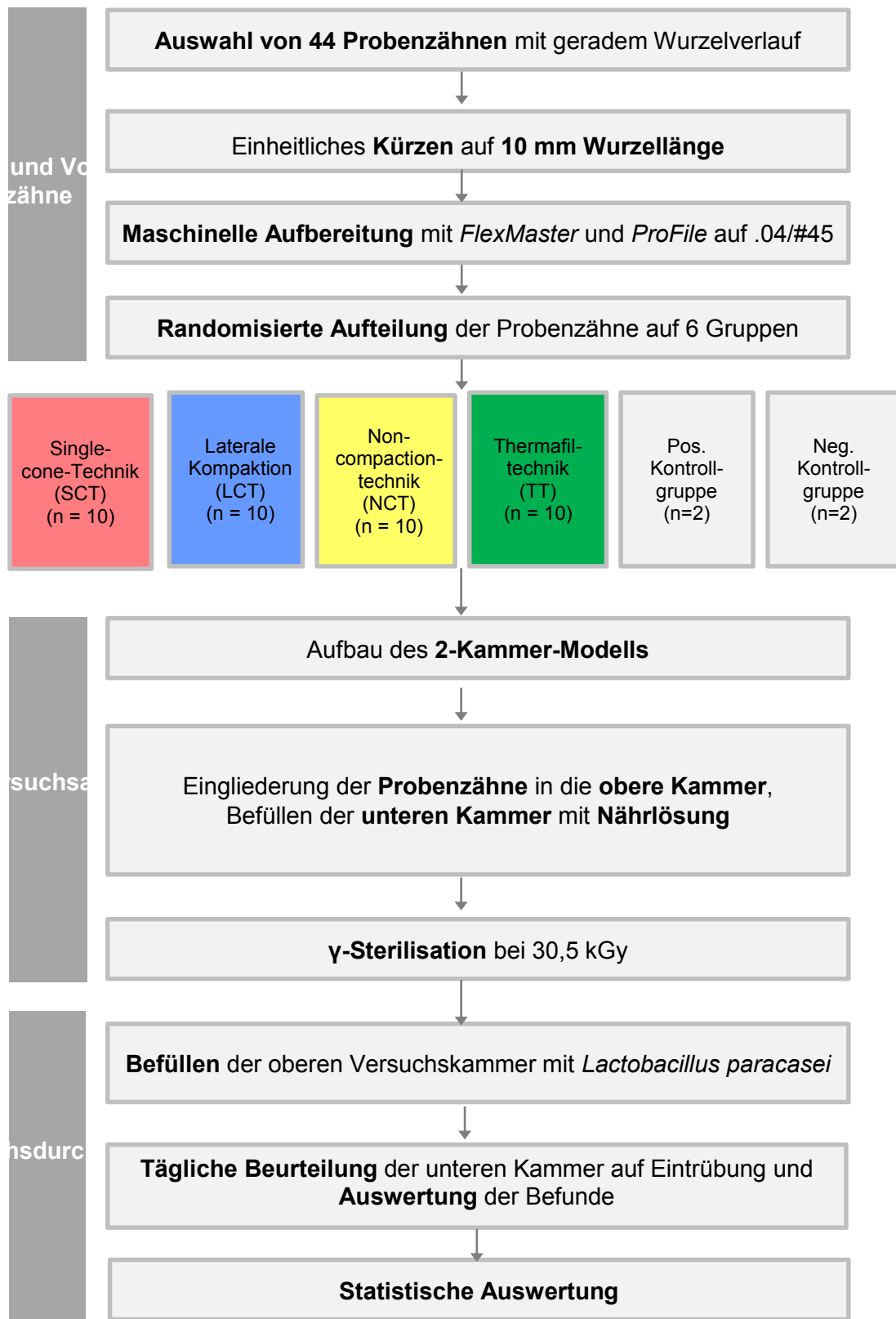


Abb. 1: Fließdiagramm zur Übersicht des Versuchsablaufs

Auswahl der Probenzähne

Für den vorliegenden Versuch wurden 44 humane Front- und Seitenzähne der 2. Dentition ausgewählt. Die Lagerung der extrahierten Zähne erfolgte in einer 0,5 %-Chloramin-T-Lösung. Die Auswahl wurde nach den folgenden Kriterien getroffen:

- abgeschlossenes Wurzelwachstum
- eine Wurzel und ein Wurzelkanal
- gerader Wurzelkanalverlauf
- runder Wurzelkanalquerschnitt
- keine Wurzelkaries
- keine Wurzelfüllung

Nach der röntgenologischen Untersuchung aus oro-vestibulärer und mesio-distaler Projektionsrichtung (digitales Röntgen, 60 kV, 0,08s, 7mA) und der mikroskopischen Betrachtung (Zeiss AG, Jena, Deutschland) wurden Probenzähne mit einem stark ovalen Wurzelquerschnitt aus dem Probenpool entfernt. Zugleich wurden Zähne mit apikalem Delta, akzessorischen Kanälen, Rissbildungen, Wurzelkaries und obliterierten Kanälen identifiziert und aussortiert.

Vorbereitung der Probenzähne

Die Probenzähne wurden im Anschluss mit destilliertem Wasser gespült, damit Rückstände der Chloramin-T-Lösung entfernt werden konnten. Auch die Lagerung der Probenzähne erfolgte während der Vorbereitungsmaßnahmen in destilliertem Wasser, um sie vor Versprödung und Austrocknung zu schützen.

Zu Beginn wurden die Probenzähne mit Scalern und Küretten (Hu-Friedy, München, Deutschland) Gewebsresten befreit. Alle Probenzähne wurden unter Wasserkühlung mit einem Korundtrimmer auf 10 mm gekürzt, um für die Auswertung eine vergleichbare Länge der Wurzelfüllung zu erhalten. Nach der Exstirpation der Pulpa wurden die Kanäle mit C-Feilen der ISO-Größe 08 und 010 (VDW GmbH, München, Deutschland) auf Gängigkeit überprüft und die Arbeitslänge festgelegt (AL = Messlänge -1 mm).

Alle Probenzähne wurden manuell mit Kerr-Räumern (VDW GmbH, München, Deutschland) bis zur ISO-Größe 20 aufbereitet. Die weitere Aufbereitung erfolgte

maschinell mit dem rotierenden Nickel-Titan-System *FlexMaster* (VDW GmbH, München, Deutschland) entsprechend der vom Hersteller empfohlenen *Crown-down-pressureless*-Technik [212]. Um eine gleichmäßige Arbeitsweise der Instrumente im Kanal zu ermöglichen, wurden alle Feilen in das Winkelstück des *Endo IT professional* (VDW GmbH, München, Deutschland) eingespannt. Je nach Aufbereitungssystem können Drehmoment und Drehzahl mit Hilfe des *Endo IT professional* individuell angepasst werden. Zunächst wurde der Kanaleingang sowie das obere Drittel der Probenzähne mit der *Intro*-Feile von *ProFile* (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Schweiz) erweitert. Anschließend erfolgte die weitere Aufbereitung mit dem *FlexMaster* System (Abb.2) bis Größe .04/#40. Mit dem *ProFile*-Instrument der Größe .04/#45 erfolgte die endgültige Formgebung des Wurzelkanals. Nach jedem Feilenwechsel erfolgte eine Überprüfung der Kanaldurchgängigkeit mittels einer Rekapitulationsfeile (K-Feile ISO Größe 10).

Zusätzlich zur mechanischen Aufbereitung wurde intermittierend mit 2 ml Natriumhypochlorit (5%) gespült. Die endgültige Aufbereitungsgröße wurde abschließend mit einem *Verifier* (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Schweiz) überprüft, um ein einheitliches Kanallumen aller Probenzähne zu gewährleisten.



Abb. 2: *FlexMaster* Systembox in der Aufsicht (Basisset ohne Feilen)

Nach Erreichen der endgültigen Aufbereitungsgröße wurde bei allen Probenzähnen eine einheitliche Abschlusspülung zur Entfernung der präparationsbedingten Schmierschicht durchgeführt (Spülprotokoll). In einem ersten Schritt wurde der Kanal mit 2 ml Natriumhypochlorit (5 %) gespült. Anschließend erfolgte die Spülung mit 2 ml Zitronensäure (40 %) in einem zweiten Schritt, die für 2 x 20 sec mit Ultraschall im Kanallumen aktiviert wurde. Es folgte eine erneute Spülung mit 2 ml NaOCl. Abschließend wurde der Kanal mit 2 ml Ethanol (70 %) gespült. Die endgültige Trocknung der Wurzelkanäle erfolgte mit Papierspitzen der Größe .04#40 und .04/#45 (Omnident GmbH, Rodgau, Deutschland).

Die Einteilung der standardisierten Probenzähne erfolgte randomisiert auf vier Gruppen entsprechend der 4 gewählten Obturationstechniken: Single-cone-Technik (SCT), Laterale Kompaktionstechnik (LCT), Non-compaction-Technik (NCT) und *Thermafil*-Technik (TT) Zudem wurde jeweils für die positive und negative Kontrollgruppe 2 Probenzähne herangezogen, die unter gleichen Bedingungen den Bakterienpenetrationstest durchlaufen sollten.

Verwendete Obturationsmaterialien

In dieser Arbeit kamen die Obturationsmaterialien Guttapercha und der Sealer *AH Plus* zur Anwendung.

AH Plus

Bei dem Sealer *AH Plus* handelt es sich um einen Wurzelkanalfüllzement auf Epoxidharzbasis. Es basiert auf einem Paste-Paste-System, welches nach dem Mischen beider Pasten über eine Epoxid-Amin-Additionspolymerisation erhärtet. Laut Herstellerangaben zeichnet sich *AH Plus* durch eine hohe Dimensionstabilität, eine geringe Löslichkeit und eine gute Gewebsverträglichkeit aus [48]. In dem vorliegenden Versuch kam *AH Plus Jet* (Dentsply DeTrey, Konstanz, Deutschland) zur Anwendung, welches mit Hilfe einer Doppelmischkartusche die beiden Pasten automatisch miteinander vermischt (Abb.3).

Tab. 1: Zusammensetzung von *AH Plus*

Epoxidpaste	Aminpaste
Diepoxid	1- Adamantamin
Calciumwolframat	N,N'-Dibenzyl-5-oxa-nonandiamine-1,9
Zirkoniumoxid	TCD-Diamin
Aerosil	Calciumwolframat
Pigmente	Zirkoniumoxid
	Aerosil
	Silikonöl



Abb. 3: *AH Plus Jet*

Guttapercha

Als Kernmaterial wurden normierte Guttaperchastifte (Roeko, Langenau, Deutschland) verwendet bei den Gruppen SCT, NCT und LCT sowie bei der Negativ und Positivkontrollgruppe. Für die Gruppe TT kam ein *Thermafil*-Obturator (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Schweiz) zur Anwendung. Im dentalen Bereich besteht Guttapercha im Wesentlichen aus:

- Zinkoxid
- Guttapercha
- Bariumsulfat
- Wachsen
- Kunst- und Farbstoffen

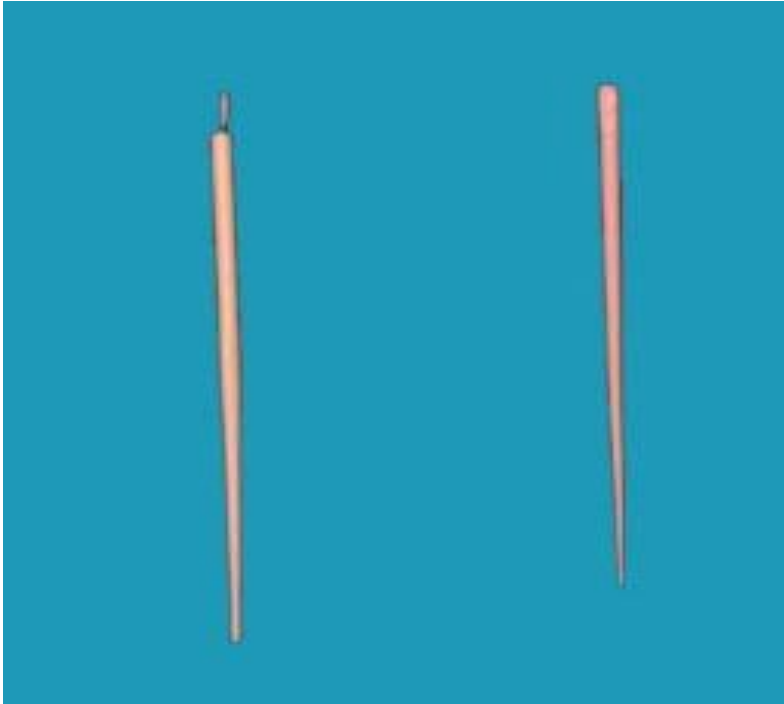


Abb. 4: Handelsübliche Guttaperchastifte (exemplarisch)



Abb. 5: *Thermafil*-Obturator der Größe .04/#45

Obturation der Probenzähne

Einbringen des Sealers

Bei allen Probenzähnen mit Ausnahme der Gruppe TT (*Thermafil*-Technik) wurde der Sealer *AH Plus Jet* mit der *EZ-Fill-Spirale* (EDS, New Jersey, USA) eingebracht. Laut Herstellerangaben wird durch das spezielle Windungsdesign der Spirale der Wurzelfüllzement nicht nach apikal sondern nach lateral transportiert, wodurch auch ein Verschluss möglicher Seitenkanäle gewährleistet werden soll [60]. Die Spirale wird in einem Winkelstück bei einer Umdrehungszahl von 1000 UpM verwendet. Gemäß Herstellerempfehlung wurde die Spirale bis 3 mm vor der jeweiligen Arbeitslänge eingesetzt.

Unter optischer Kontrolle wurde gewährleistet, dass kein Material über den Apex gepresst wird. Durch gleichmäßige Auf- und Abbewegung soll die Bildung von Luftblasen vermieden werden. Überschüssiger Sealer wurde nach koronal transportiert und mit einem Schaumstoffpellet (Demedis, München, Deutschland) entfernt. Die Unterschiede der einzelnen Gruppen stellen sich hinsichtlich der Obturationstechnik wie folgt dar:

Single-cone-Technik (SCT)

Der Guttaperchastift wurde entsprechend der endgültigen Aufbereitungsgröße .04/#45 ausgewählt und auf die festgelegte Arbeitslänge markiert. Der markierte Masterpoint wurde bis auf volle Länge in den Kanal einprobiert und auf eine apikale Klemmpassung überprüft. Das Sealmaterial *AH Plus Jet* wurde über eine Doppelkartusche auf einem Anmischblock appliziert und mit einem Zementspatel erneut durchmengt, um eine homogene Durchmischung zu erhalten. Das Füllungs-material *AH Plus Jet* wurde mit gleichbleibenden Bewegungen und unter Wandkontakt mit der *EZ-Fill-Spirale* in das erweiterte Kanallumen eingebracht. Der Masterpoint wurde mit Sealer benetzt und zentral in den Kanal eingebracht. Abschließend wurde überstehende Guttapercha mit einem heißen Heidemannspatel (Hu-Friedy, Leimen, Deutschland) am Kanaleingang abgetrennt und der Probenzahn koronal versäubert.

Laterale Kompaktion (LCT)

Ein Guttaperchastift der Größe .02/#45 wurde auf die Arbeitslänge markiert, in den Kanal eingepasst und auf eine apikale Klemmpassung überprüft. Das Sealmaterial *AH Plus Jet* wurde über eine Doppelkartusche auf einem Anmischblock appliziert und mit einem Zementspatel nochmal durchmengt, um eine homogene Durchmischung zu erhalten. Das Füllungsmaterial *AH Plus Jet* wurde mit gleichbleibenden Bewegungen und unter Wandkontakt mit der *EZ-Fill-Spirale* in das erweiterte Kanallumen eingebracht. Der sogenannte Masterpoint wurde mit Sealer benetzt und zentral in den Kanal eingebracht. Im nächsten Schritt wurde mit Hilfe eines Spreaders (VDW, München, Deutschland) ISO 25 Platz für weitere Satelittenstifte der Größe ISO 25 geschaffen. Die Satelittenstifte wurden im Vergleich zum Masterpoint nicht mit dem Sealer *AH Plus* beschickt und nicht bis auf die volle Arbeitslänge in den Kanal eingebracht. Das laterale Kompaktieren erfolgte so lange, bis das Spreizinstrument nur noch bis zum oberen Kanaldrittel vorgebracht werden konnte. Abschließend wurden alle überstehenden Guttaperchastifte mit einem heißen Heidemannspatel am Kanaleingang abgetrennt und koronal versäubert.

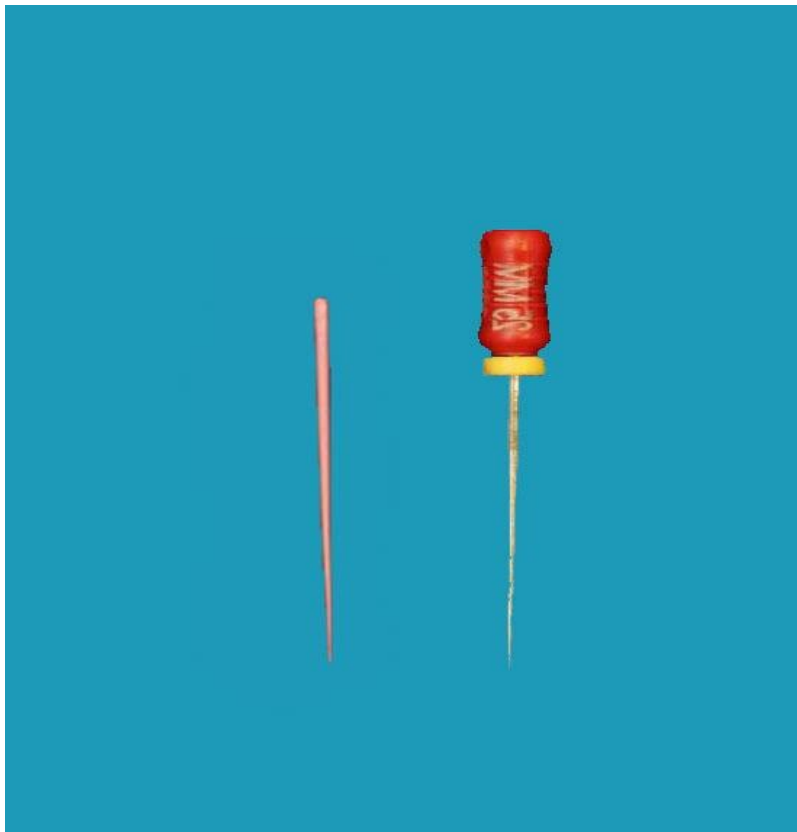


Abb. 6: Spreader ISO 25 und Guttaperchastift

Non-compaction-Technik (NCT)

Ein Guttaperchastift der Größe .02/#45 wurde auf die Arbeitslänge markiert in den Kanal einprobiert und auf eine apikale Klemmpassung überprüft. Das Sealmaterial *AH Plus Jet* wurde über eine Doppelkartusche auf einem Anmischblock appliziert und mit einem Zementspatel nochmal durchmengt, um eine homogene Durchmischung zu erhalten. Das Füllungsmaterial *AH Plus Jet* wurde mit gleichbleibenden Bewegungen und unter Wandkontakt mit der *EZ-Fill-Spirale* in das erweiterte Kanallumen eingebracht. Der sogenannte Masterpoint wurde mit Sealer benetzt und zentral in den Kanal eingebracht. Im Gegensatz zur Lateralkompaktion wurden die Nebenstifte mit Sealer benetzt und ohne den Einsatz eines Spreaders in den Kanal eingebracht. Die Satellitenstifte der Größe ISO 25 wurden unter leichtem Druck nach und nach in den Kanal eingebracht, bis auch der obere Kanalabschnitt gefüllt war. Abschließend wurden alle überstehenden Guttaperchastifte mit einem heißen Heidemannspatel am Kanaleingang abgetrennt und koronal versäubert.

Thermafil-Technik (TT)

Ein *Thermafil*-Obturator der Größe .04/#45 wurde mittels Silikonstopper auf Arbeitslänge markiert. Das Sealmaterial *AH Plus Jet* wurde über ein Doppelkartusche auf einem Anmischblock appliziert und per Hand nochmal durchmengt, um eine homogene Durchmischung zu erhalten. Das Füllungsmaterial *AH Plus Jet* wurde laut Herstellerempfehlung mit einer Papierspitze der Größe .04/#40 in der Wurzelkanal eingebracht. Der *Thermafil*-Obturator wurde im *ThermaPrep Plus Oven* (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Schweiz) in zwei Erwärmungszyklen erhitzt und apikalwärts bis auf volle Arbeitslänge in den Kanal eingebracht. Unter leichtem Druck wurde der Kunststoffträger für 30 sec im Kanal fixiert und anschließend mit einem heißen Heidemannspatel abgetrennt.

Negative Kontrollgruppe (NK)

Die Probenzähne wurden wie in Gruppe 1 mittels der Single-cone-Technik obturiert.

Positive Kontrollgruppe (PK)

Die Probenzähne der positiven Kontrollgruppe wurde mit einem Masterpoint der Größe .04/#40 gefüllt. Auf das Einbringen eines Sealers wurde verzichtet.

Alle Probenzähne wurden nach der Obturation für 28 Tage feucht bei 37 °C im Brutschrank (Heraeus GmbH, Hanau, Deutschland) gelagert. Parallel wurden die 2-Kammer-Modelle für den Bakterienpenetrationsversuch vorbereitet.

4.2 Der Versuchsaufbau

In Vorversuchen wurden 3 unterschiedliche Versiegelungstechniken für das 2-Kammer-Modell anhand eines Farbstoff- und Bakterienpenetrationstests getestet. Sowohl die Kombination aus Nagellack/Abdichtharz/Klebewachs als auch die Kombination aus Abdichtharz/Klebewachs erwiesen sich nicht als dicht. Die Kombination aus Cyanoacrylat (Sekundenkleber)/Abdichtharz/Klebewachs hingegen konnte bei beiden Dichtigkeitsprüfungen als dicht bewertet werden und für den Versuchsaufbau angewendet werden. Damit ergab sich folgender Versuchsaufbau:

Die Probenzähne wurden nach einer Liegedauer von 4 Wochen im feuchten Milieu im Brutschrank bei 37 °C entsprechend getrocknet. Im Anschluss wurde die gesamte Wurzeloberfläche mit einer Schicht Cyanoacrylat (UHU GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland) versiegelt, nach einer Stunde Trocknung mit einer zweiten Schicht. Dabei wurden die koronale Schnittstelle wie auch die apikalen 1-2 mm der Probenzähne ausgespart. Lediglich die Probenzähne der negativen Kontrollgruppe wurden komplett, d.h. auch an der koronalen Schnittstelle und am Apex, mit Cyanoacrylat versiegelt.

Für den vorliegenden Versuch wurden die versiegelten Probenzähne in ein 2-Kammer-Modell eingebaut. Als obere Kammer wurden verschließbare Zentrifugenröhrchen aus Polyethylen (15 ml, Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) verwendet. Nachdem die kleinen Zentrifugenröhrchen mit Hilfe einer Trennscheibe um 5 mm gekürzt wurden, konnten die Probenzähne auf Klemmpassung in die obere Kammer eingebracht werden. Mit *Abdichtharz* (Fa. Metaflux Techno Service GmbH, Bielefeld, Deutschland) wurde der Probenzahn in der neu geschaffenen Öffnung nochmals fixiert und abgedichtet. Innerhalb des *Sarstedt*-Röhrchens wurde das Abdichtharz mit einem Kugelstopfer an den Probenzahn adaptiert. Bei allen Probenzähnen wurden die koronalen Schnittstellen und die apikalen 1-2 mm am Apex ausgespart.

Für die untere Kammer wurde in den Deckel eines größeren *Zentrifugenröhrchens* (50 ml *Falcon*-Tube, Becton Dickinson and Co., Franklin Lakes, New Jersey, USA) ein Loch mit dem Durchmesser der oberen Kammer gebohrt. Beide Zentrifugen-

röhrchen wurden passgenau ineinander geschoben, bis der apikale Anteil der Probenzähne die 10 ml Markierung der unteren Kammer erreichte. Alle Übergangszonen zwischen den beiden Kammern wurden mit *Abdichtharz* verstärkt und alle Klebefugen mit Klebewachs (*Supradent Wachs*, Oppermann-Schwedler, Bonn, Deutschland) versiegelt (Abb.7).

Die obere Kammer war über einen Schraubverschluss die gesamte Versuchsdauer über zugänglich, um sie mit frischer Bakteriensuspension befüllen zu können. Zunächst wurde in die obere Kammer eine feuchte Kompresse eingelegt, um die Probenzähne vor Austrocknung zu schützen. Die untere Kammer hingegen wurde einmalig mit 12,5 ml Nährlösung befüllt und für die gesamte Versuchsdauer bis zum Tag der Trübung nicht mehr geöffnet. In diesem Zustand wurden alle Versuchsmodelle samt der Nährlösung der unteren Kammer einer Gammasterilisation bei 30,5 kGy unterzogen, um einheitlich sterile Voraussetzungen zu schaffen (Coltène/Whaledent GmbH & CO, Langenau, Deutschland).

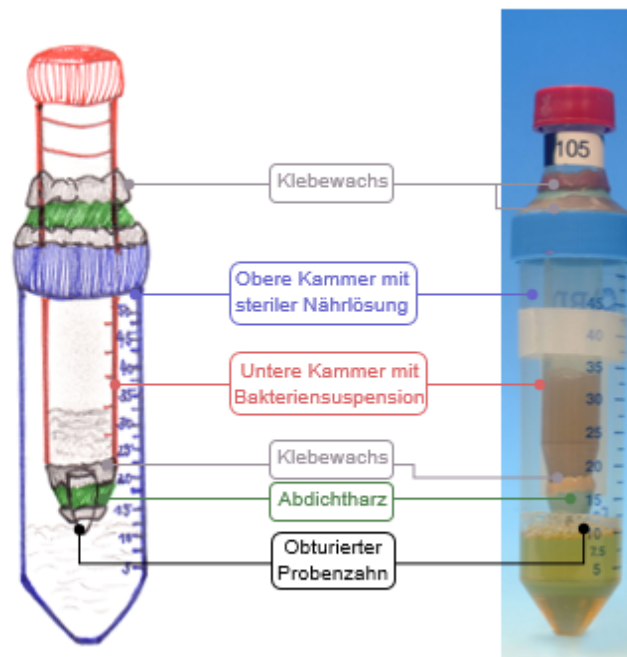


Abb. 7: Links Schemazeichnung, rechts Foto tatsächlichen Versuchsaufbaus

Auswahl der Bakterienkultur

Für den *In-vitro*-Versuch wurde ein grampositives Stäbchenbakterium ausgewählt, der *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* (ATCC 11578/DSM 4905). Der *Lactobacillus paracasei* ist zeitweilig in der menschlichen Darmflora vorzufinden, aber auch in bestimmten Mengen in der Mundhöhle. Er ist unbeweglich, fakultativ anaerob und zeigt keine Sporenbildung. Der Lactobazillus zählt zu den katalase- und oxidativ-negativ lebenden Bakterien, wodurch er über bestimmte Enzymtests wie auch mikroskopisch gut nachgewiesen werden kann [87]. Der Bakterienstamm wurde als Reinkultur von der DSMZ bezogen und unterliegt der Gefahrenstufe 1. Dadurch war es möglich mit dem Keim im Labor der Zahnklinik Erlangen-Nürnberg ohne erhöhte Sicherheitsvorkehrungen zu arbeiten. Der *Lactobacillus*-Stamm ist einfach anzüchtbar und konnte nach entsprechenden Voruntersuchungen über die gesamte Versuchsdauer angewendet werden. Um sicher zu stellen, dass es sich über die gesamte Versuchsdauer um eine konstante Anzahl lebender Lactobazillen handelte, mussten dem Bakterienpenetrationstest einige Voruntersuchungen vorangestellt werden.

Voruntersuchungen mit dem *Lactobacillus paracasei*

Zunächst wurde eine Übernachtkultur (ÜNK) angelegt, indem *Lactobacillus paracasei* als Reinkultur einem sterilen Flüssigmedium zugeführt wurde. Am nächsten Tag wurde eine größere Menge steriler Nährlösung mit der ÜNK angimpft und für weitere 15 h im Brutschrank belassen. Es erfolgte eine Probenentnahme im Intervall von 30 und 60 min, deren optische Dichte mit Hilfe eines Fotometers (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) bestimmt wurde. Die Bestimmung der optischen Dichte beruht auf der Tatsache, dass es in einem klaren flüssigen Medium in Anwesenheit von Bakterien zu einer Streuung des einfallenden Lichtes kommt, was wiederum in einer Trübung der Lösung resultiert. Die Trübung steht für eine bestimmte Konzentration an Bakterien in der Lösung, die bei einer Wellenlänge von 590 nm als optische Dichte bestimmt werden kann. Weiterhin wurden Verdünnungsreihen hergestellt und davon jeweils eine Probe auf Nähragar ausplattiert. Nach der Inkubation konnte durch Auszählung der angewachsenen Bakterienkolonien die Bakterienanzahl (Titer) der zuvor entnommenen Probe errechnet werden. Alle Werte wie Zeitpunkt der Probenentnahme, Verdünnungsstufe, optische Dichte, ausgezählte Koloniezahl und der errechnete Titer der jeweiligen Proben wurden tabellarisch erfasst und daraus eine Wuchskurve für *Lactobacillus paracasei* über 24 h erstellt.

Anhand dieser Voruntersuchung konnten Rückschlüsse auf die Wachstumsmenge, die Wachstumsgeschwindigkeit und die Lebensdauer von *Lactobacillus paracasei* getroffen werden. Daraus resultierte ein 5-tägiges Arbeitsprotokoll, das innerhalb der Versuchsdauer von 180 Tagen strikt eingehalten wurde.

Mikrobiologisches Arbeiten mit dem *Lactobacillus paracasei*

Über die gesamte Versuchsdauer wurde als Kulturmedium ein *MRS Bouillon* (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) verwendet, welches generell für die Anzucht von *Lactobacillus*-Stämmen geeignet ist. *MRS Bouillon* wurde innerhalb des Versuchs sowohl als Flüssigmedium als auch fest in Form von Nähragarplatten verwendet. Zur quantitativen Anreicherung von *Lactobacillus paracasei* diente flüssige Nährbouillon. Durch Zugabe von *Agar-Agar Kobe 1* (Carl Roth GmbH & Co. KG) wurde fester Nähragar erzeugt zur Gewinnung auszählbarer Bakterienkolonien. Alle hergestellten Kulturmedien wurden autoklaviert bevor *Lactobacillus* zugeführt wurde, um einer Verunreinigung durch Fremdkeime entgegen zu wirken. Auch alle weiteren Arbeitsmaterialien (Reagenzgläser, Pipetten, Küvetten, etc.) wurden vor wie auch nach dem Kontakt mit dem Versuchskeim unter Wasserdampf-atmosphäre für 20 Minuten sterilisiert. Der Sterilisationsvorgang wurde im Autoklaven (MM, München, Deutschland) bei 121 °C und 1 bar durchgeführt im mikrobiologischen Labor der Zahnklinik Erlangen-Nürnberg. Alle Arbeitsschritte mit dem Versuchskeim wurden in unmittelbarer Nähe des Bunsenbrenners durchgeführt, um dem sterilen Arbeiten Rechnung zu tragen.

4.3 Durchführung

Am 1. Tag wurde mit einer sterilen Impföse eine kleine Menge von *Lactobacillus*-Kolonien als Reinkultur von einer Masterplatte entnommen und in ein Reagenz mit 5 ml sterilem Flüssigmedium gegeben. Das beimpfte Flüssigmedium wurde für 12 h, über Nacht im Brutschrank bei 37 °C inkubiert (ÜNK). Am 2. Tag konnte visuell anhand einer Trübung überprüft werden, ob der *Lactobacillus paracasei* angewachsen ist. Von der angewachsenen ÜNK wurde 1 ml in 500 ml steriles Flüssigmedium übertragen und erneut für mindestens 10 h, bei 37 °C im Brutschrank belassen. Noch am gleichen Tag, 10 h später, wurde von der neu gewonnenen Bakteriensuspension eine Probe entnommen und diese im Verhältnis 1:10 verdünnt. Die verdünnte Suspension wurde in eine Küvette übertragen, um wie schon im

Vorversuch die optische Dichte im Fotometer zu messen. Der Messwert entspricht dem Lichtanteil, der gerade durch die Küvette geht und wird als scheinbare Extinktion oder optische Dichte bezeichnet. Um mögliche Messfehler zu vermeiden, musste die dichte Bakterienkultur vor der Messung verdünnt werden. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 590 nm, da bei diesem Wert die Absorption des Lichtes durch die Bakterien im Vergleich zur Streuung gering gehalten wird. Eine Küvette mit sterilem Flüssigmedium diente als Leerwert. Der Extinktionswert wurde auf 0,7-1,0 festgelegt, der rechnerisch mit dem Zelltiter in Beziehung gesetzt wurde. Damit konnte sichergestellt werden, dass immer eine konstante Anzahl an vitalen Lactobazillen in die obere Probenkammer überführt wurde. Die obere Probenkammer wurde mit 5 ml der Laktobazillensuspension befüllt. Diese wurde in einem Intervall von 5 Tagen durch eine frische Bakteriensuspension ersetzt. Die neu gefüllten Penetrationsmodelle wurden anschließend im Brutschrank bei 37 °C gelagert.

Es folgte täglich eine visuelle Beurteilung der unteren Probenkammer, die einer reinen ja/nein Entscheidung folgte. Die Eintrübung der Nährlösung wurde als Indikator für bakterielles Wachstum gewertet – der Versuchskeim hatte das Penetrationsmodell folglich durchlaufen. In einem tagesgenauen Ableseprotokoll wurden die Beobachtungen mit Datum und Probennummer dokumentiert. Im Fall einer Eintrübung wurde aus der unteren Kammer eine Probe entnommen, eine ÜNK angelegt und davon ausgehend Verdünnungsreihen hergestellt. Nach Bebrütung der ausplattierten Probenvolumina auf sterilen Nähragar konnten entsprechende erste Hinweise auf die Vitalität des Versuchkeimes getroffen werden (Abb. 15).

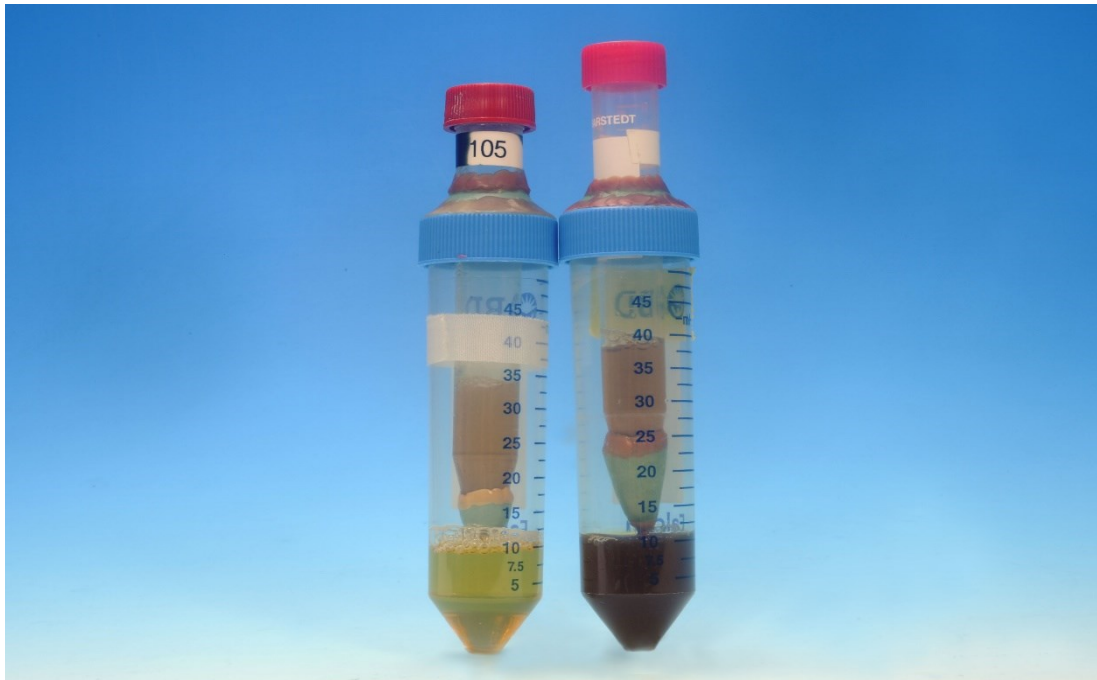


Abb. 8: zeigt das 2-Kammer-Modell mit klarem (links) und eingetrübten (rechts) Nährmedium der unteren Kammer

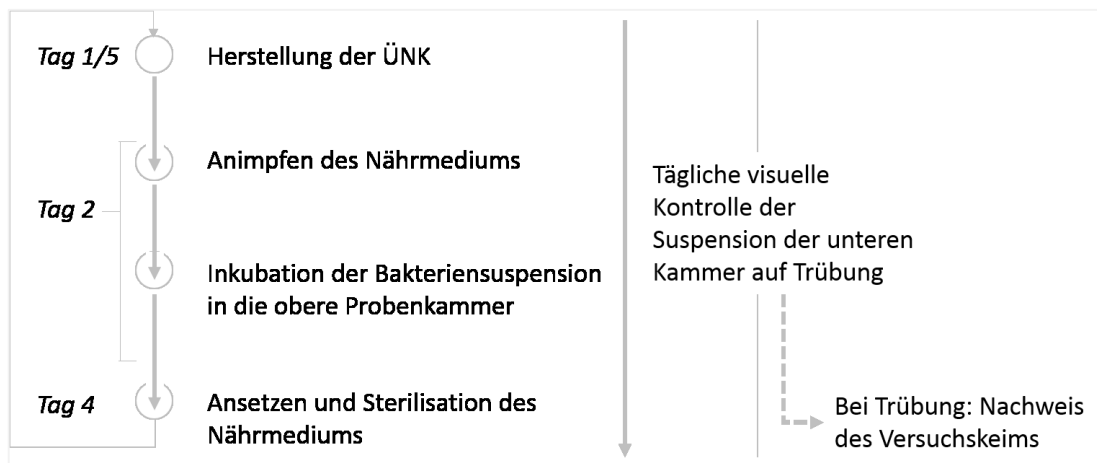


Abb. 9: Zeitlicher Ablauf der Arbeitsschritte im 5-tägigen Rhythmus im Beobachtungszeitraum von 180 Tagen

4.4 Nachweis und Identifizierung von *L. paracasei*

Mikroskopischer Nachweis

Jede kontaminierte Lösung der unteren Kammer wurde nach ihrer Eintrübung mikroskopisch untersucht. Um die Bakterien mikroskopisch sichtbar zu machen, wurde die Färbetechnik nach Gram gewählt. Zuvor wurde ein Abstrichpräparat des zu untersuchenden Materials hergestellt und hitzefixiert.

Bei der Gramfärbung beruht das färberische Verhalten auf dem besonderen Aufbau der formgebenden Zellwand bzw. dem Grundgerüst, dem Murein. Besitzt das Bakterium ein einschichtiges Mureingerüst kann der Farbstoff Karbolgentianviolett mit Alkohol wieder ausgewaschen werden [138]. Diese entfärbbaren Bakterien werden als gramnegativ bezeichnet. Um die Bakterien mikroskopisch sichtbar zu machen, werden sie erneut mit Fuchsinrot gegengefärbt, was sie unter mikroskopischer Vergrößerung rot erscheinen lässt. Bakterien mit einem mehrschichtigen Muringerüst lagern den Farbstoff-Jod-Komplex ein, erscheinen blauviolett und werden als grampositive Bakterien bezeichnet.

Die Bakterien wurden im Lichtmikroskop zunächst in der Einstellung „Phasenkontrast“ gesucht. Anschließend wurde durch Umschalten auf „Hellfeld“ die Farbe bestimmt.

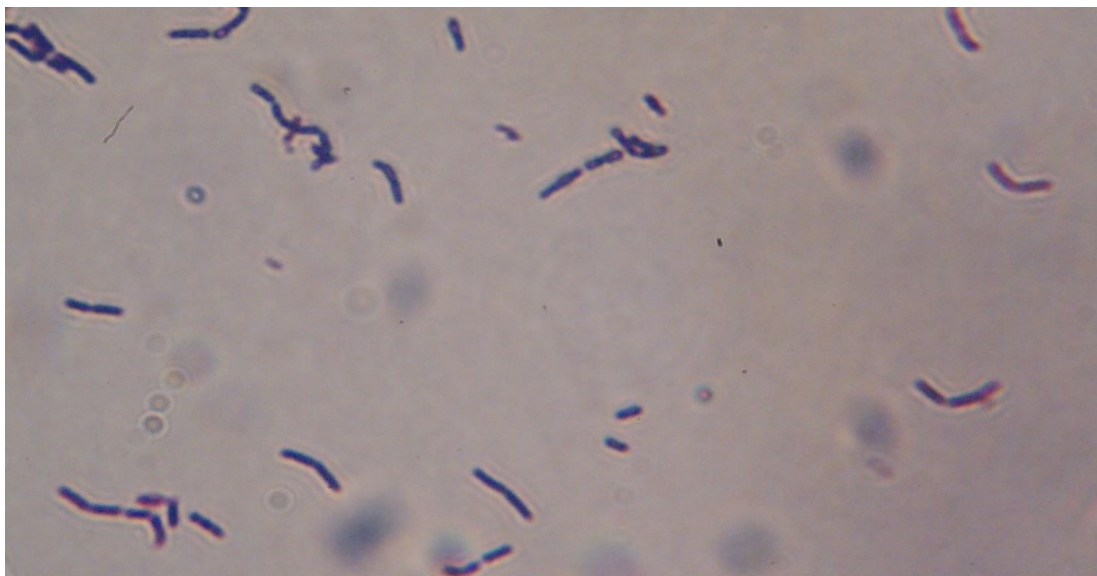


Abb. 10: In der lichtmikroskopischen Einstellung „Hellfeld“ erscheinen blauviolette (grampositive) Stäbchen

Identifizierung mit dem API 50 CH-Test

Als zweite Nachweismethode erfolgte die biochemische Identifizierung des *Lactobacillus*-Stammes mit Hilfe des *API 50 CH* Test (BioMerieux SA Marcy, Etoile, Frankreich). Das Test-Kit besteht aus dem *API CH 50* Medium und dem *API 50 CH* Streifen (Abb. 13) Das gebrauchsfertige Medium ermöglicht den Nachweis der Fermentation der 49 Kohlenhydrate im *API CHL 50* Teststreifen.

Um einen repräsentativen Nachweis zu liefern, wurde von der eingetrübten Suspension der unteren Probenkammer durch Zentrifugation Bakterienkolonien aus der Flüssigkultur gewonnen. Die Bakteriensuspension sollte dem MC Farland 2-Trübungsstandard entsprechen. Diese Trübung entspricht laut Herstellerangaben einer Bakterienzahl von 6×10^8 Keimen pro ml [17].

In die vorgefertigten API-Streifen wurden anschließend einige Tropfen der neu hergestellten Suspension mit entsprechendem Trübungsgrad pipettiert. Jede der Kammern wurde mit Parafinöl überschichtet. Daraufhin wurden die beimpften Kammern für 48 h bei 37 °C und 100 % Luftfeuchtigkeit im Brutschrank gelagert. Während der Inkubation entstehen durch Fermentation der Kohlenhydrate organisch Säuren, die zu einem Farbumschlag des pH-Indikators in den Teststreifenkammern führen. Nach 12 h und 48 h wurden die Teststreifen auf einen Farbumschlag hin überprüft und dieser notiert (Abb. 14). Aus der speziellen Farbverteilung der *API-CHL*-Streifen ergeben sich ein spezifisches biochemisches Profil und damit ein spezieller Code. In der klinischen Mikrobiologie der Universität Erlangen-Nürnberg erfolgte die Auswertung des Testergebnisses mit Hilfe einer speziellen Identifizierungssoftware.

Der Nachweis mittels des *API 50 CH*-Test wurde anhand von Stichproben bei zufällig ausgewählten Probenzähnen durchgeführt. Parallel dazu wurde von einer Reinkultur des *Lactobacillus paracasei* in gleicher Weise der *API CH 50*-Test durchgeführt.

4.5 Statistische Auswertung

Während der Versuchsdurchführung wurden die Bakterienpenetration der einzelnen Versuchsproben in einem tagesgenauen Ableseprotokoll mit Datum und Probennummer dokumentiert.

Die statistische Auswertung dieser Rohdaten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, USA). Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse wurde ein Boxplot-Diagramm erstellt, welches die Verteilung der beobachteten Bakterienpenetrationsdauern je Versuchsgruppe darstellt. In der Folge wurden folgende statistische Auswertungstests durchgeführt:

- Kolmogorov-Smirnov-Test
- Kruskal-Wallis-Test
- Mann-Whitney-Test

Die verschiedenen Nullhypothesen wurden jeweils gegen den allgemeinen Signifikanzwert $p < 0,05$ getestet.

5 Ergebnisse

Die in den täglichen Ableseprotokollen festgehaltenen Rohdaten zur Bakterienpenetration der einzelnen Proben wurden zunächst in einem Boxplot-Diagramm je Versuchsgruppe graphisch aufbereitet. Die einzelnen Versuchsgruppen, d.h. die 4 Obturationstechniken sowie die positive und negative Kontrollgruppe, wurden auf der X-Achse der Diagramms aufgetragen, die Y-Achse zeigt die Penetrationszeit der einzelnen Proben. Das Boxplot-Diagramm gibt die Tendenz und die Streuung der Testergebnisse wider. Die Box beinhaltet 50 % der Datenpunkte und ist durch die Quartile begrenzt. Die Unterteilung innerhalb der Box markiert den Median. Die Whiskers geben die Minimal- und Maximalwerte an, vorausgesetzt, diese weichen nicht mehr als das 1,5-fache des Interquartilsabstands vom Median ab. Extremere Datenpunkte werden als Ausreißer separat in Form einzelner Datenpunkte ausgewiesen.

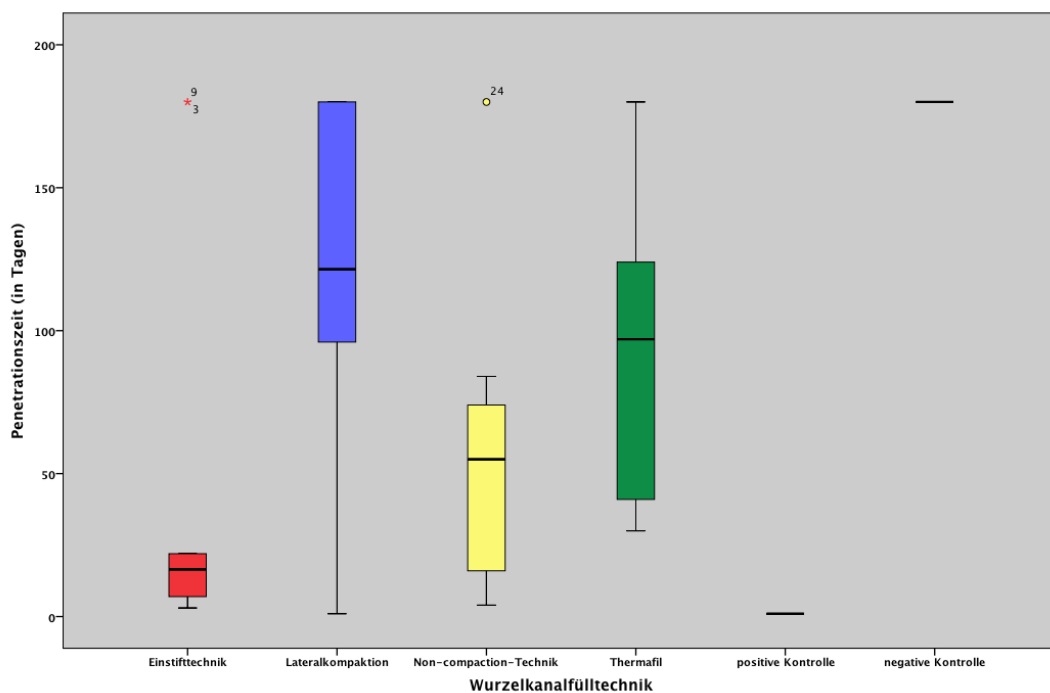


Abb. 11: Boxplot-Diagramm zur Darstellung der beobachteten Bakterienpenetrationszeit für die eingesetzten Obturationstechniken

Zur weiteren statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde zunächst die Anwendbarkeit parametrischer statistischer Testmethoden geprüft. Mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde untersucht, inwieweit für jede Versuchsgruppe die vorausgesetzte statistische Normalverteilung der Testergebnisse erwartet werden

kann. Für die Einstifttechnik sowie die Non-compaction-Technik wurde die Nullhypothese einer Normalverteilung mit einem Signifikanzlevel von $p < 0,05$ widerlegt. Alle weiteren Auswertungen wurden entsprechend mithilfe nicht-parametrischer statistischer Testmethoden durchgeführt. Diese können immer eingesetzt werden, auch wenn keine Normalverteilung der Ergebnisse, keine Mittelwertgleichheit und auch keine Varianzhomogenität vorliegt.

Tab. 2: Prüfung der Normalverteilung der Bakterienpenetrationszeit je Obturationstechnik mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests (signifikante Ergebnisse für $p < 0,05$ mit * markiert)

Einstifttechnik	$p = 0,000^*$
Laterale Kompaktion	$p = 0,082$
Non-compaction-Technik	$p = 0,038^*$
<i>Thermafil</i> -Technik	$p = 0,044^*$

Mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests wurde anschließend geprüft, ob zwischen den Versuchsgruppen ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Bakterienpenetrationsdauer vorliegt. Es konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,005$) nachgewiesen werden. Die gewählte Obturationstechnik hat also in der Tat einen signifikanten Einfluss auf die Bakteriendichtigkeit der jeweiligen Wurzelkanalfüllung.

Anschließend wurde die graphisch anhand des Boxplot-Diagramms beobachtete Differenz der Versuchsgruppen untereinander, also insbesondere die verbesserte Dichtigkeit der mit lateraler Kompaktionstechnik oder *Thermafil*-Technik gefüllten Proben gegenüber den anderen Gruppen, mithilfe des Mann-Whitney-Tests statistisch untersucht.

Es zeigt sich, dass die verbesserte Dichtigkeitsleistung der Lateralen Kompaktion und der *Thermafil*-Technik gegenüber der Einstifttechnik statistisch signifikant sind ($p < 0,05$), ebenso wie die verbesserte Dichtigkeit der lateralen Kompaktion gegenüber der Non-compaction-Technik. Alle weiteren Paar-Vergleiche zweier Versuchsgruppen zeigen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

5 Ergebnisse

Tab. 3: Prüfung der Unterschiedlichkeit der Bakterienpenetrationsdauer zwischen den verschiedenen Obturationstechniken mithilfe des Mann-Whitney-Tests (signifikante Unterschiede für $p < 0,05$ mit * markiert)

	Einstift-Technik	Laterale Kompaktion	Non-compaction-Technik	Thermafil-Technik
Einstift-Technik		$p=0,046^*$	$p=0,190$	$p=0,015^*$
Laterale Kompaktion	$p=0,046^*$		$p=0,027^*$	$p=0,283$
Non-compaction-Technik	$p=0,190$	$p=0,027^*$		$p=0,112$
Thermafil-Technik	$p=0,015^*$	$p=0,283$	$p=0,112$	

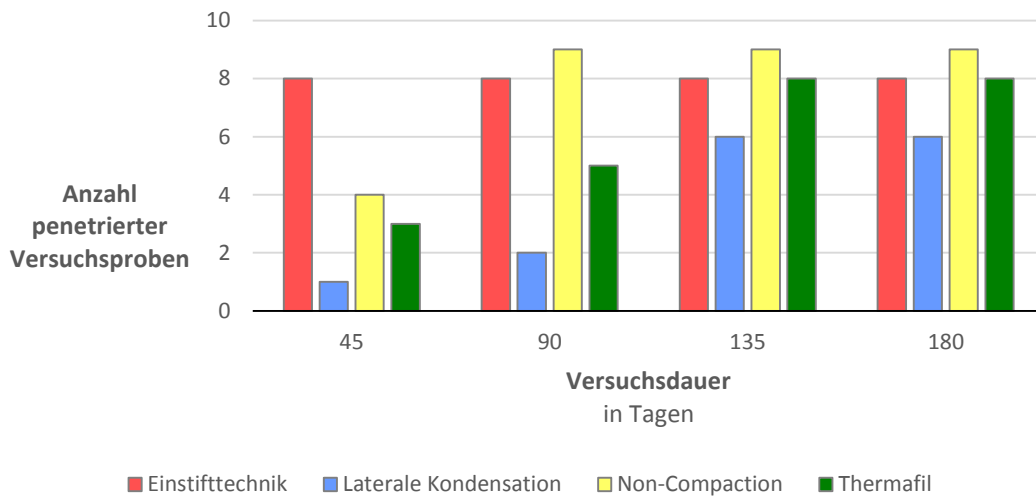


Abb. 12: Anzahl penetrierter Versuchsproben je Obturationstechnik (aus $n = 10$) an ausgewählten Ablesezeitpunkten ab Versuchsbeginn (in Tagen)

Innerhalb der 180 Tage zeigten insgesamt 31 Proben eine bakterielle Leakage, während 9 Proben bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes keine Trübung der unteren Kammer aufwiesen. Die früheste Penetration zeigte eine Probe der Gruppe 2 (LCT) schon nach einem Tag.

5 Ergebnisse

Es wird ersichtlich, dass 8 Proben der ersten Gruppe (SCT) innerhalb der ersten 45 Tage undicht geworden sind. Bis auf den Ausreißer, zeigte eine der Proben in Gruppe 2 (LCT), 4 Proben der Gruppe 3 (NCT) und in der Gruppe 4 (TT) 3 Proben eine bakterielle Leakage.

Innerhalb von 90 Tagen wurde eine Trübung in der Gruppe 3 (NCT) bei 9 der Proben, in der Gruppe 2 (LCT) für 2 und in der Gruppe 4 (TT) für 5 Proben festgestellt. Die Gruppe 1 (SCT) zeigte in diesem Zeitraum keine weitere Eintrübung

Innerhalb von 135 Tagen erwiesen sich in der Gruppe 3 (NCT) bereits 9 der 10 Proben als undicht, während in der Gruppe 2 (LCT) zu diesem Zeitpunkt noch 4 und in der Gruppe 4 (TT) noch 2 Proben dicht blieben.

Tab. 4: Statistische Parameter je Versuchsgruppe auf Basis explorativer Datenanalyse (Bakterienpenetrationszeit in Tagen)

Obturations- technik	Mittelwert	Standard- abweichung	Median (in Tagen)	Minimum (in Tagen)	Maximum (in Tagen)	Interquartil- bereich
Einstift- technik	45,80	71,01	16,50	3	180	55
Laterale Kompaktion	122,10	61,16	121,50	1	180	95
Non- compaction- Technik	57,50	51,02	55,00	4	180	61
Thermafil- Technik	95,60	57,20	97,00	30	180	99

5 Ergebnisse

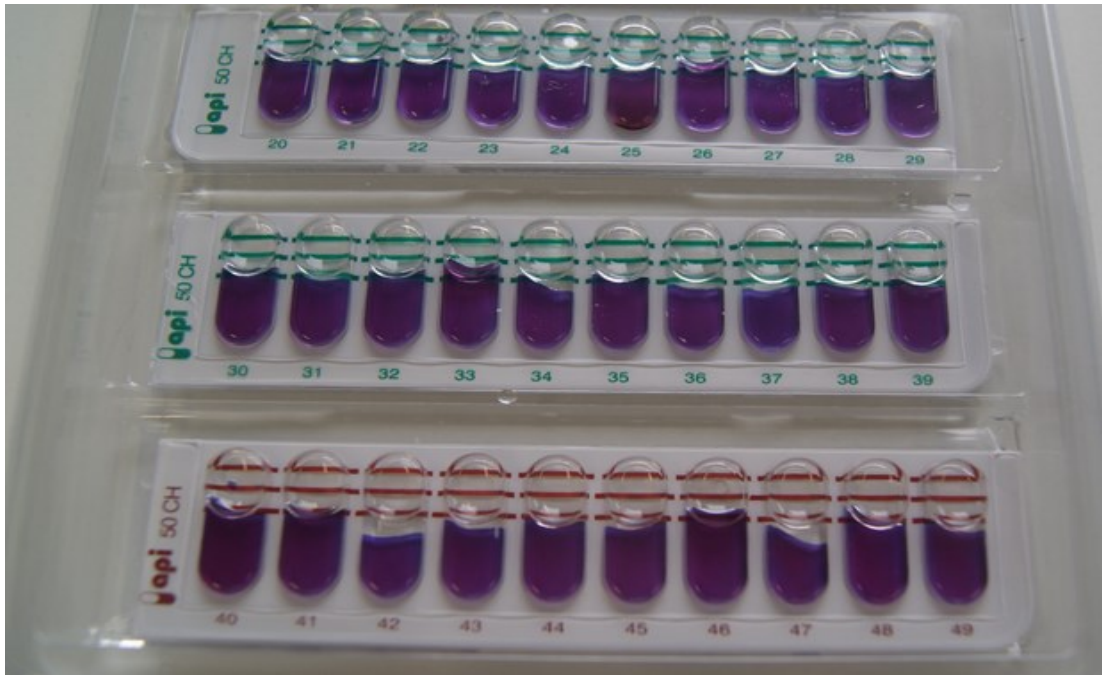


Abb. 13: API 50 CH Test-Kit, API CH 50 Streifen mit dem API 50 CH Medium



Abb. 14: API 50 CH Test Streifen mit Farbumschlag des API CH 50 Mediums

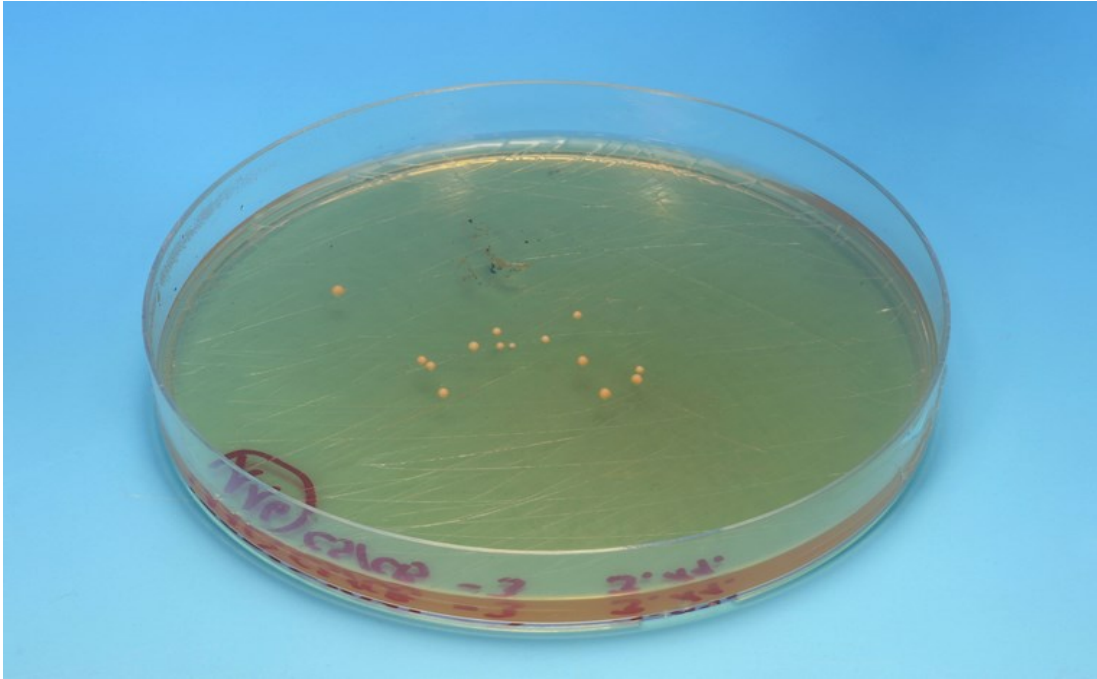


Abb. 15: Nähragarplatte mit angewachsenen Bakterienkolonien des Versuchskeims *Lactobacillus paracasei*

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methode

Standardisierung der Probenzähne

Im Rahmen dieser Studie wurden 44 humane Zähne verwendet. Extrahierte menschliche Zähne wurden in zahlreichen Studien eingesetzt, um Dichtigkeitsanalysen *in vitro* durchzuführen [50, 141, 183, 205, 227, 228]. Alternative Untersuchungen künstlicher Zähne aus Methylacrylat oder anderen Kunststoffen eignen sich zwar für eine standardisierte Aufbereitung, da die Kanalgeometrie, der Krümmungsradius und der Wurzelkanalquerschnitt reproduzierbar hergestellt werden können [156, 196]. Jedoch können wichtige Einflussfaktoren auf die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung wie beispielsweise die Dentin- und Kanalbeschaffenheit sowie die Schmierschicht mit künstlichen Zähnen nicht simuliert werden.

Um im durchgeführten Bakterienpenetrationstest die unterschiedlichen Versuchsgruppen miteinander vergleichbar machen zu können, wurden schon bei der Auswahl und Vorbereitung der Probenzähne möglichst viele Parameter standardisiert.

Für die Auswahl der Probenzähne war die Homogenität der Wurzelkanalform zentrales Kriterium (keine Krümmungswinkel etc.). Es wurden ausschließlich Front- und Seitenzähne als Versuchsproben verwendet mit einem weitgehend einheitlichen runden Wurzelkanalquerschnitt und einem geraden Wurzelverlauf. Zähne mit einem nicht abgeschlossenen Wurzelwachstum wurden aussortiert, ebenso wie Zähne mit kariösen oder resorptiven Läsionen im Wurzelbereich. Auch Zähne mit einem stark ovalen Kanalquerschnitt, Seitenkanälen und apikalem Delta wurden anhand radiologischer Überprüfung (digitales Röntgen) ausgeschlossen.

Zur Vorbereitung der Probenzähne wurden alle Probenzähne zunächst auf 10 mm gekürzt. Wie Brosco et al. gezeigt haben, spielt die Länge der Wurzel für die bakterielle Penetrationsdauer eine Rolle [22]. Die Aufbereitungslänge wurde bei allen Probenzähnen auf 1 mm vor dem Foramen apicale festgelegt. Die Messmethode erfolgte visuell mit einer Kerr-Feile, führte bei allen Probenzähnen zu reproduzierbaren Ergebnissen und wurde in zahlreichen Dichtigkeitsuntersuchungen beschrieben [11, 44, 50, 188, 197, 200].

Durch die Verwendung rotierender Nickel-Titan-Instrumente konnten die geraden Wurzelkanäle einheitlich ausgeformt werden, so dass eine sehr gute Zentrierung des

Wurzelkanalquerschnitts möglich war. Um die Aufbereitung mit den beiden Aufbereitungssystemen *FlexMaster* und *ProFile* einheitlich durchzuführen, wurde im Vorfeld an 12 Probezähnen die Vorgehensweise wiederholt geübt. Dadurch sollten zum einen Aufbereitungsfehler als auch anwenderbedingte Fehler mit den Aufbereitungssystemen vermieden werden. Der Aufbereitungskonus aller präparierten Probezähne wurde nach der letzten Aufbereitungsfeile (Masterfile) mit einem sogenannten Verifier nivelliert, um ein einheitliches Kanallumen zu gewährleisten. Bei allen Probezähnen wurde ein einheitliches Spülkonzept durchgeführt.

Untersuchte Obturationstechniken

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte der Einfluss der Obturationstechnik auf die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung untersucht werden. Dazu wurden 4 unterschiedliche Obturationstechniken, davon drei Kaltfülltechniken und eine Warmfülltechnik, ausgewählt. Die ausgewählten Techniken sind klinisch relevant, sind nachhaltiger Gegenstand der aktuellen Forschung und weisen differenzierende Merkmale gegeneinander auf.

Die untersuchte laterale Kompaktion ist die bekannteste Kaltfülltechnik. Sie dient hier zu Lande als auch international als Referenztechnik für neu vorgestellte Fülltechniken und Sealermaterialien [24, 44, 58, 171, 213, 232]. Die laterale Kompaktion gilt als weit akzeptierte Standardtechnik und ist daher auch für diesen Versuch von großem Interesse [154,170]. Bei der lateralen Kompaktion werden ein Hauptstift und zusätzliche Nebenstifte in den Kanal eingebracht, die mit Hilfe eines Spreaders kompaktiert werden. Die Methode ist sehr technik- und zeitintensiv.

Im Gegensatz dazu ist die Non-compaction-Technik, die besonders von der ACTA maßgeblich analysiert wurde, weniger techniksensitiv, da auf eine Kompaktion zusätzlicher Nebenstifte verzichtet wird. Der Sealeranteil ist höher als bei der lateralen Kompaktion von Guttapercha, allerdings wird als Vorteil insbesondere die gegenüber der Lateralkompaktion schonendere Obturation des Wurzelkanals angesehen [181]. Die Frage inwieweit die Kompaktion des Wurzelfüllmaterials eine bakteriendichte Wurzelkanalfüllung erzeugt, sollte daher evaluiert werden.

Als dritte Kaltfülltechnik wurde die Einstifttechnik (Single-cone-Technik) untersucht, die für die hier untersuchten Kanäle mit einem runden Querschnitt ebenfalls als allgemein anwendbar gilt. Diese Methodik zeichnet sich wiederum durch ihre relativ einfache und schnelle Durchführbarkeit aus. Andererseits wird diese Fülltechnik

kontrovers diskutiert [132]. Im klinischen Alltag ist die Einstifttechnik nur eingeschränkt indiziert, da eine extreme Formkongruenz zwischen dem Hauptstift und der Kanalform voraussetzt wird, was in der täglichen Praxis eher selten vorkommt. Die Kombination der Einstifttechnik mit einem nicht schrumpfenden Sealer konnte in einer Reihe von Studien ähnlich dichte Wurzelkanalfüllungen erzielen wie diejenige mit der lateralen Kompaktion [7, 219].

Als Warmfülltechnik wurde das trägerbasierte *Thermafil*-System untersucht. In zahlreichen Vergleichsstudien konnte gezeigt werden, dass mit *Thermafil* vergleichbar dichte Wurzelkanalfüllungen erzielt werden können wie mit der lateralen Kompaktion [58, 167, 174, 188]. Einige Studien belegten sogar bessere Ergebnisse [73, 97].

Die Techniken sind in ihrer Durchführung in unterschiedlicher Weise anspruchsvoll. Jedoch setzen alle Fülltechniken sowohl Erfahrung als auch Geschick des Behandlers voraus, um bestmögliche Ergebnisse in Form dichter Wurzelkanalfüllungen zu erzielen. Um den qualitativen Anforderungen einer Wurzelkanalfüllung bei der Durchführung der unterschiedlichen Fülltechniken gerecht zu werden, wurden alle Obturationstechniken vor dem Versuchsbeginn an je 8 Probenzähnen wiederholt geübt.

Auswahl des Wurzelkanalsealers

Alle Probenzähne wurden mit demselben Sealer gefüllt. In der vorliegenden Studie wurde *AH Plus* verwendet, ein Epoxidharz-basierter Sealer, der eine Weiterentwicklung seines Vorgängerprodukts *AH 26* darstellt. *AH Plus* zeigt gute Fließeigenschaften und führt auch bei dickeren Filmschichtstärken zu guten Ergebnissen [45]. *AH Plus* scheint daher für unterschiedliche Fülltechniken geeignet. Im Vergleich zu anderen Sealern scheint *AH Plus* nahezu unlöslich und zeigt wie das Vorgängerprodukt *AH 26* eine initiale Abbindeexpansion (0,4 %) [140, 173]. Diese beiden Eigenschaften sind entscheidend für eine gute Volumenstabilität und damit für eine dauerhafte dichte Wurzelkanalfüllung. In zahlreichen Leakage-Studien zeigten sich die Epoxidharz-basierten Sealer einer Reihe von gegenwärtigen und neuen Sealern überlegen [3, 72, 105, 118, 164, 184, 205].

AH Plus besitzt direkt nach dem Anmischen zytotoxische Eigenschaften durch den Inhaltsstoff Bisphenoldiglycidylether und durch die Freisetzung sehr geringer Mengen von Formaldehyd während des Polymerisationsvorganges [115, 145]. Formaldehyd

wirkt ebenso wie Eugenol antibakteriell [103]. In Zellkulturstudien konnte allerdings gezeigt werden, dass diese zytoxischen Eigenschaften nur innerhalb der ersten Stunden nach Anmischen auftreten [28]. Nach 14 Tagen zeigt *AH Plus* keine nachweisbare Zytotoxizität im Fibroblastentest und nach bereits 7 Tagen keine antibakterielle Wirkung mehr [185, 235].

Bevor die Probenzähne in das 2-Kammer-Modell eingegliedert wurden, erfolgte eine 4-wöchige Lagerung der Probenzähne wie unter Mundbedingungen, bei 37 °C und 100% Luftfeuchtigkeit. Damit wurde eine ausreichende Aushärtungszeit sichergestellt. Eine mögliche antibakterielle Wirkung des Sealers kann somit vernachlässigt werden und dürfte eine mögliche bakterielle Penetration nicht nennenswert beeinflussen.

Die Sealerapplikation erfolgte bei allen Kaltfülltechniken mit der *EZ-Fill Bi-directional spiral*. Unter Verwendung der *EZ-Fill*-Füllspirale konnten mit der Single-cone-Technik ähnlich gute Dichtigkeitswerte bei Wurzelkanalfüllungen im Flüssigkeitspenetrationsmodell festgestellt werden wie mit der lateralen Kompaktion [219]. Bei der *Thermafil*-Technik wurde der Sealer gemäß Herstellerangaben mit einer Papierspitze eingebracht.

Gamma-Sterilisation der Probenkammern

Nach der Obturation der Probenzähne wurden diese mit dem Versuchsaufbau (fertiggestelltes 2-Kammer-Modell) durch Gamma-Strahlung bei 30,5 kGy sterilisiert [143, 179]. Damit sollte eine vollständige Keimfreiheit sichergestellt werden. Dieses Verfahren erwies sich in vergangenen Versuchen als sehr effektiv, um nach der Aufbereitung verbliebene Bakterien abzutöten [5]. Folglich konnten keine im Kanal verbliebenen Bakterien persistieren und damit auch nicht zu einer Trübung der unteren Kammer beitragen.

Untersuchungsmethode

In der klinischen Praxis wird die Qualität einer Wurzelkanalfüllung anhand von Röntgenbildern überprüft. Radiologisch kann eine Aussage über die Homogenität und die apikale Ausdehnung der Wurzelkanalfüllung getroffen werden. Allerdings werden kleinste Hohlräume nicht sichtbar, die eine mikrobielle Leakage begünstigen können. Diese Erkenntnis konnte von Brosco et al. bestätigt werden. Die zuvor radiologisch als homogen bewerteten Wurzelfüllungen zeigten keine Korrelation zu dem Ergebnis

im Bakterienpenetrationstest [22, 188]. Anhand von Serienschnitten kann eine mikroskopische Beurteilung der Wurzelkanalfüllung im Raster- oder Transemissionsmikroskop *in vitro* erfolgen, mit der aber nur eine unzureichende Vorhersage über die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung getroffen werden kann [46].

Während *In-vivo*-Untersuchungen am Menschen aus ethischen Gründen nicht realisierbar sind, stellt die Verwendung verschiedener Tracer *in vitro* eine geeignete Alternative dar, wobei deren Penetrationsvermögen als Maß für eine vorhandene Undichtigkeit (Mikroleakage) gesehen wird. Am häufigsten werden Nachweismethoden mithilfe von Farbstoffen, Glukose, Flüssigkeiten und Bakterien verwendet [3, 13, 14, 22, 34, 40, 43, 50, 58, 61, 73, 77, 79, 80, 132, 195, 200, 211, 227].

Farbstoffpenetrationstest

Ein risikoarmes und einfach durchzuführendes Verfahren ist der Farbstoffpenetrationstest, der sehr häufig zur Bestimmung einer Mikroleakage herangezogen wird. Dieses Testverfahren weist jedoch verschiedene Limitationen auf.

Mit der starken Verbreitung der Methode hat sich eine Vielfalt von Parametern innerhalb der Methodik entwickelt, die den Vergleich unterschiedlicher farbstoffbasierter Untersuchungen untereinander erschwert [222].

Schon das Ausmaß der Farbstoffpenetration kann entweder durch spezielle Entkalkungsverfahren (Clearing-Technik) oder durch serielle Längs- und Querschnitte des Zahnes (Cross-Section-Technik) sichtbar gemacht werden. Während das erste Verfahren eine dreidimensionale Beurteilung zulässt, können hierbei verbleibende Farbstoffreste zu fehlerhaften Ergebnissen bei der Messung mit dem Spektrometer führen. Bei der Cross-Section-Technik wiederum kommt es zur Aufspaltung und somit zu einem Substanzverlust der Probenzähne, der keine vollständige Beurteilung aller Wurzelkanalbereiche erlaubt.

Neben einer Reihe anderer Farbstoffe (India Ink, Fuchsinlösung) ist die Nutzung von Methylenblau weit verbreitet, die jedoch auch nicht mit allen Sealern kompatibel ist. So wurde bereits die Wechselwirkung mit basischen Sealern beschrieben, die zu einer Entfärbung des Farbstoffs führen kann [220]. Auch im Kanal verbliebene Luft oder Flüssigkeit kann die Penetration des Farbstoffs verhindern oder durch vorherrschende Diffusionskräfte fördern [222]. Aus diesem Grund kann diese Methode nur unter zusätzlich appliziertem Druck durchgeführt werden, entweder durch Vakuum oder Zentrifugation.

Zusätzlich gibt es Zweifel an der klinischen Relevanz dieses Verfahrens. Susini et al. konnten keinen Zusammenhang feststellen zwischen periapikaler Radiolusenz in vivo und den anschließend ermittelten Ergebnissen im Farbstoffpenetrationstest [202].

Im Rahmen des Farbstoffpenetrationstests werden die Probenzähne zerstört, so dass sie nur einmalig beurteilt werden können. In diesem Punkt zeigen sich die Penetrationstestverfahren mit Bakterien, Glukose und Flüssigkeiten überlegen, die eine Beobachtung über einen längeren Zeitraum erlauben.

Glukosepenetrationstest

Beim Glukosepenetrationstest wird die penetrierte Glukose in einem Behältnis aufgefangen, anhand enzymatischer Tests nachgewiesen und spektrophotometrisch bestimmt. [142, 228] Glukose besitzt ein Molekulargewicht von 180 Da und ist laut Xu et al. als Tracer geeignet, weil Glukose ein bedeutendes Substrat für Bakterien darstellt [228]. Shemesh et al. konnten allerdings eine Interaktion von Glukose mit verschiedenen Sealern feststellen. Es konnte gezeigt werden, dass Glukose mit Mineraltrioxidaggregate (MTA), *Sealer 26* und Sealern auf Calciumhydroxidbasis reagiert und niedrigere Glukosekonzentrationen zu falschen Ergebnissen führen [182].

Flüssigkeitspenetrationstest

Die Penetrationstestung mit Flüssigkeiten ist weit akzeptiert und gut reproduzierbar, und gilt im Vergleich zu Farbstoffen als die sensitivere Methode um Hohlräume entlang der gesamten Wurzellänge aufzuzeigen [222, 225]. Durch das Bewegungsausmaß einer Luftblase in einer angeschlossenen Glaskapillare kann ein Rückschluss auf das Abdichtungsvermögen der Wurzelkanalfüllung gezogen werden. Jedoch ist die Methodik anfällig für Messfehler [183]. Laut Pommel fehlt eine Standardisierung verschiedener Untersuchungsparameter wie der Messzeit, dem applizierten Druck, der Größe des Röhrchens und der Länge der Luftblase, welche die Ergebnisse beeinflussen könnten [151].

Bakterienpenetrationstest

Der Anspruch einer *In-vitro*-Studie ist in erster Linie den *In-vivo*-Verhältnissen möglichst nahe zu kommen. Bakterien sind aus klinischer Sicht relevant, um die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung über die Zeit zu untersuchen. Bakterien und deren Endotoxine können durch eine undichte Wurzelkanalfüllung penetrieren und am Periapex eine Entzündungsreaktion hervorrufen oder diese aufrechterhalten. Diese Problematik konnte in einem *In-vivo*-Versuch an Beagle-Hunden bestätigt werden [70]. Die Penetrationstestung mit Bakterien als Tracer ist in experimentellen Studien eine bewährte Methode [10, 11, 14, 21, 130, 132, 164, 188, 205, 206, 234].

Für den Bakterienpenetrationstest wurde ein 2-Kammermodell hergestellt, bei dem die obere Kammer über den obturierten Probenzahn mit der unteren Kammer verbunden ist. Dieser von Torabinejad beschriebene Versuchsaufbau wurde bisher in verschiedenen Studien erfolgreich genutzt [14, 164, 206]. Durch eine dichte Versiegelung aller Übergangszonen wird sichergestellt, dass die Bakterien ausschließlich entlang der Wurzelkanalfüllung von koronal nach apikal in die untere Kammer penetrieren können. Dafür muss auch die Wurzeloberfläche des Probenzahns isoliert werden. Verschiedene Materialkombinationen zur Versiegelung des Versuchsaufbaus wurden bisher beschrieben [22, 130, 205]. In den Voruntersuchungen im Rahmen der vorliegenden Studie wurden verschiedene Materialkombinationen anhand eines Farbstoff- und Bakterienpenetrationstest überprüft. Auch Malone et al. überprüften die Abdichtung ihres verwendeten Versuchsaufbaus mit 1 %-igem Methylenblau [124]. Basierend auf den zuvor gewonnenen Ergebnissen wurde für die Versiegelung eine Kombination aus Cyanoacrylat/Knetharz/Klebewachs für die Versuchsmodelle herangezogen.

Auswahl des Versuchskeims

Um die Übersichtlichkeit des Experiments zu wahren und den gezielten Nachweis des Versuchskeims zu erbringen, wurde mit einer repräsentativen Monokultur gearbeitet. Mögliche Synergismen zwischen unterschiedlichen Bakterienarten, die Komplexität und Dynamik der oralen Bakterienvielfalt wurde zugunsten der präziseren Nachweisbarkeit einer Monokultur nicht berücksichtigt. Der *Lactobacillus paracasei* wurde dabei aufgrund seiner Prävalenz, sowie der guten Nachweisbarkeit und allgemeinen Handhabbarkeit ausgewählt.

Laktobazillen sind ubiquitär in der Mundhöhle vorzufinden und wurden sowohl aus infizierten Wurzelkanälen wie auch bei persistierenden Infektion isoliert [177, 201]. Diese Tatsache zeigt, dass der *Lactobacillus* über ein gutes Anpassungsvermögen an ungünstige Lebensbedingungen verfügt. Laktobazillen sind fakultativ anaerob und einfach zu kultivieren. Dadurch sind sie für einen *In-vitro*-Versuch sehr gut geeignet [125]. Im Rahmen von Voruntersuchungen war die Anzucht und Kultivierung des *Lactobacillus paracasei* praktikabel zu erlernen. Der Versuchskiem ist nicht motil und zeigte sich während der Untersuchung als penetrationsfähiger Keim. Es konnte gezeigt werden, dass sich motile und nicht motile Bakterien in der Penetrationsdauer nicht signifikant unterscheiden [206]. Das Bakterium *Lactobacillus paracasei* ist ein gram-positives Stäbchen und lässt sich als solches nach entsprechender Färbetechnik gut mikroskopisch nachweisen [88].

Um sicherzustellen, dass die Penetrationszeit des Versuchskiem ausschließlich durch die Qualität der Wurzelkanalfüllung bestimmt wird, wurde darauf geachtet, dass sich über die Versuchszeit eine gleichbleibende Anzahl vitaler Laktobazillen in der oberen Kammer befand. Um die Vitalität des *Lactobacillus paracasei* sicher zu stellen, wurde in Voruntersuchungen anhand einer Wuchskurve die durchschnittliche Generationszeit (d.h. das Zeitintervall bis sich ein Bakterium erneut teilt) ermittelt.

Nachweis von *Lactobacillus paracasei*

Bei einer bakteriellen Penetration in die untere Kammer kommt es in dem sterilen Nährmedium zu bakteriellem Wachstum, was zu einer Trübung des Nährmediums führt. Daher konnte eine Penetration des Versuchskiem in die untere Versuchskammer bereits visuell deutlich festgestellt werden. Nach der Eintrübung wurde das kontaminierte Medium einer mikrobiologischen Diagnostik unterzogen. Zuerst wurden Kulturen angelegt und ausplattiert. Damit konnten erste Hinweise auf das kulturelle Spektrum getroffen werden. Im Anschluss an eine Gramfärbung, wurde eine mikroskopische Untersuchung jeder einzelnen Probe durchgeführt. In allen Proben, die im Verlauf der Studie eine Eintrübung zeigten, konnten blau-violette Stäbchenbakterien (siehe Abb. 10) im Lichtmikroskop festgestellt werden. Laktobazillen besitzen ein mehrschichtiges Mureingerüst, das bei der Färbetechnik nach Gram eine Farbstoffeinlagerung von Kobaltviolett zulässt. Stichprobenartig konnte der Versuchskiem auch mit Hilfe des *API*-Tests genau identifiziert werden.

Vergleichbarkeit mit anderen Studien

In der nachfolgenden Diskussion der Ergebnisse soll die vorliegende Studie in den Kontext bestehender wissenschaftlicher Erkenntnisse vergleichend eingeordnet werden. Für die Auswahl geeigneter Vergleichsstudien wurden 2 Aspekte berücksichtigt: die Auswahl des Sealers und das in der jeweiligen Studie genutzte Dichtigkeitsprüfungs- bzw. Nachweisverfahren.

Vergleichbarkeit unterschiedlicher Sealer

In dieser Studie wurde mit dem Epoxidharz-basierten Sealer *AH Plus* gearbeitet. Neben der Art der Fülltechnik hängt das Abdichtungsvermögen einer Wurzelkanalfüllung von den werkstoffkundlichen Eigenschaften eines Sealers ab. Materialabhängig zeigen Sealer eine unterschiedliche Volumenstabilität (Expansion/Schrumpfung) und Wasserlöslichkeit über Zeit. Auch wirken sich die Fließfähigkeit und Filmschichtstärke des Sealers, die bei den unterschiedlichen Fülltechniken variieren können, unterschiedlich auf die Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung aus. Zugleich werden die Eigenschaften des Sealers maßgeblich durch die jeweilige Fülltechnik beeinflusst. Die vorliegende Untersuchung soll verschiedene Obturationstechniken vergleichen. Durch den genannten Interaktionseffekt muss im Sinne einer Ceteris-Paribus-Betrachtung der analysierte Sealer konstant gehalten werden. Deswegen wird im Rahmen der vorliegenden Studie der Vergleich mit Sealern auf Epoxidharzbasis (*AH Plus/AH 26*), nicht jedoch mit anderen Sealern angestrebt, um ausschließlich den Einfluss der Fülltechnik analysieren zu können.

Vergleichbarkeit unterschiedlicher Nachweismethoden

Die vorliegende Studie prüft die Dichtigkeitseigenschaften verschiedener Obturationstechniken mithilfe eines Bakterienpenetrationstests. Es wird angenommen, dass die Wahl des Tracers, mit dem eine Mikroleakage detektiert wird, einen entscheidenden Einfluss auf das Ergebnis hat. Eine Reihe von Studien hat das Dichtigkeitsverhalten von Sealern und Fülltechniken anhand unterschiedlicher Nachweismethoden verglichen. Wiederholt konnte keine Korrelation der Ergebnisse zwischen den unterschiedlichen Testverfahren festgestellt werden. In einer Untersuchung von Pommel wurde im Flüssigkeitspenetrationstest die vertikale Kompaktion als dichteste Fülltechnik evaluiert und zeigte deutlich bessere Werte als *Thermafil*- und die Single-cone-Technik, während im Farbstoffpenetrationstest die

Thermafil-Technik die geringste Farbstoffpenetration erlaubte. Im elektro-chemischen Verfahren führten alle Fülltechniken zu ähnlichen Ergebnissen [152]. Zumal auch andere Autoren, die sich mit dieser Problematik beschäftigen, zu demselben Ergebnis kamen, soll von einem Vergleich der in dieser Studie evaluierten Ergebnisse mit den Ergebnissen anderer Nachweismethoden abgesehen werden [10, 79, 104].

6.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Kontrollgruppen bestätigen die Validität des vorliegenden Bakterienpenetrationsversuchs. Die positive Kontrollgruppe zeigte gemäß Nullhypothese #1 schon am ersten Tag eine bakterielle Durchdringung durch den Versuchskeim. Das zeigt, dass die Verwendung eines Sealers für eine dichte Wurzelkanalfüllung unerlässlich ist. Die Probenzähne der negativen Kontrollgruppe zeigten keine Eintrübung des Nährmediums der unteren Kammer über den gesamten Versuchszeitraum von 180 Tagen. Durch die Versiegelung der Probenzähne mit Cyanoacrylat und die Abdichtung der Versuchsmodelle aus einer Kombination von Knetharz und Klebewachs war eine bakterielle Penetration entlang von Grenzflächen nicht möglich. Auch eine Auflösung der Materialien konnte nicht beobachtet werden, die eine bakterielle Durchdringung begünstigt hätte. Ein Penetrationspfad für den Versuchskeim war demnach nur entlang der Wurzelkanalfüllung möglich.

Verhalten der Obturationstechniken

Keine Gruppe der untersuchten Fülltechniken blieb über den gesamten Versuchszeitraum geschlossen dicht. In allen eingetrübten Nährmedien der unteren Kammer konnte *Lactobacillus paracasei* als Penetrationsmarker nachgewiesen werden. Die verschiedenen untersuchten Obturationstechniken zeigten hinsichtlich ihres Abdichtungsvermögens signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test; $p < 0,05$). Nullhypothese # 2 ist somit widerlegt.

Das beste Abdichtungsvermögen zeigte die laterale Kompaktion mit einer durchschnittlichen Dichtigkeit der Wurzelkanalfüllungen in dieser Versuchsgruppe von 121,5 Tagen (Median), gefolgt von der *Thermafil*-Technik (Median = 97,0 Tage). Die Non-compaction-Technik (Median = 55,0 Tage) und die Einstifttechnik (Median = 16,5 Tage) zeigten gegenüber der lateralen Kompaktion signifikant schlechtere Ergebnisse. (Mann-Whitney-Test; $p < 0,05$)

Laterale Kompaktion

Die laterale Kompaktion wies die längste Resistenz gegenüber bakterieller Penetration auf. Gegenüber der Einstift-Technik (Mann-Whitney-Test; $p = 0,046^*$) und der Non-compaction-Technik (Mann-Whitney-Test; $p = 0,027^*$) war die laterale Kompaktion dabei signifikant überlegen. Gegenüber der Warmfülltechnik *Thermafil* wies die laterale Kompaktion jedoch keine signifikante (Mann-Whitney-Test; $p = 0,0283$), sondern nur ein in der Tendenz bessere Abdichtungseffizienz über die gesamte Zeitdauer auf.

Die durchschnittliche Penetrationsdauer für die laterale Kompaktionstechnik betrug 122 Tage, während 4 der 10 Proben über den Beobachtungszeitraum hinaus dicht blieben. Die laterale Kompaktion gilt als Goldstandard unter den Fülltechniken, und dies kann hinsichtlich der Dichtigkeit im Rahmen des bakteriellen Penetrationsversuchs anhand der ermittelten Werte auch unterstrichen werden. Bei dieser Methode werden neben dem Masterpoint zusätzliche Nebenstifte eingebracht. Durch den Einsatz eines Fingerspreaders werden die Guttaperchastifte verformt und an die Kanalwand gedrückt. Dadurch wird Platz für weitere Nebenstifte geschaffen und das Wurzelfüllmaterial verdichtet. Zur besseren Standardisierung wurden neben einen genormten Masterpoint auch ISO-normierte Guttaperchatifte verwendet. Zur optimalen Obturierung werden die Nebenstifte in der gleichen ISO-Größe wie der benutzte Fingerspreader oder eine ISO-Größe kleiner gewählt. Durch das wiederholte Einführen des Spreaders in den Wurzelkanal wird der Guttaperchanteil im Kanal nach und nach erhöht und der Sealeranteil reduziert [221]. Der Vorgang wird solange wiederholt, bis sich die Guttaperchastifte nur noch bis in das koronale Kanaldrittel einbringen lassen. Durch das Abtrennen der Guttaperchastifte mit einem heißen Instrument und das kalte Nachkondensieren mit dem Kugelstopfer wird höchstwahrscheinlich schon im koronalen Wurzelkanalabschnitt ein homogenes Maß an Guttapercha erzielt. Das könnte den relativ späten Eintritt einer bakteriellen Penetration in der Gruppe der lateralen Kompaktionstechnik erklären.

Zusätzlich scheint sich die gezielte Kompaktion des Wurzelfüllmaterials, bedingt durch die inkrementelle Obturation des Wurzelkanalsystems, positiv auf das langfristige Abdichtungsvermögen auszuwirken.

Non-compaction-Technik

Diesen Schluss lässt der direkte Vergleich mit der signifikant schlechter abdichtenden Non-compaction-Technik zu. Die Non-compaction-Technik stellt eine modifizierte Form der lateralen Kompaktion dar. Bei dieser Technik werden die Nebenstifte nacheinander ohne zusätzliche Kompaktion durch einen Spreader eingebracht. Dadurch bildet der Sealer womöglich nur eine instabile Schicht, in die die Guttaperchastifte nur locker eingebettet sind. Wie in mikroskopischen Untersuchungen gezeigt wurde, werden idealerweise sogenannte Retentionstags ausgebildet. Der Sealer wird dabei in Abhängigkeit von der jeweiligen Fülltechnik unterschiedlich tief in die Dentintubuli gepresst [47].

Durch den fehlenden Spreader müssen die Nebenstifte gewissermaßen blind in den Kanal eingeführt werden, wobei optische Vergrößerungshilfen wie Lupenbrille oder idealer Weise ein Operationsmikroskop diese Prozedur deutlich vereinfachen. Anders als bei der lateralen Kompaktion wird so kein Gleitpfad für die Nebenstifte geschaffen. Dadurch können diese womöglich nicht ausreichend tief in den Kanal inseriert werden. Allerdings entsteht auch keine Spannung innerhalb der Wurzel, wie sie bei der Lateralkompaktion systemimmanent ist.

Einstifttechnik

Die Einstifttechnik zeigte in der Tendenz noch schlechtere Ergebnisse als die Non-compaction-Technik und eine signifikant schlechtere Dichtigkeit als die laterale Kompaktionstechnik (Mann-Whitney-Test; $p = 0,0469^*$). Gründe hierfür liegen in den hohen Anforderungen an die Formkongruenz von Guttaperchastift und präpariertem Wurzelkanal, sowie an das Sealerplacement. Bei dieser Technik wird die Guttapercha überhaupt nicht kompaktiert und der Sealer nur bei einer sehr guten Formkongruenz zwischen Guttaperchastift und Sealer an die Kanalwand gepresst. Deswegen können Abweichungen von der Kanalform in diesen Bereichen zu einem erhöhten Sealeranteil führen, der durch den Masterpoint unzureichend an die Kanalwand gepresst wird. Entsprechend kann das Auftreten von luftgefüllten Hohlräumen begünstigt werden, sowohl im Sealer selbst, als auch an den Schnittstellen Sealer/Wurzeldentin und Sealer/Guttapercha. Folglich wird ein Penetrationspfad für Bakterien geschaffen. Ein ungenügendes Sealerplacement sollte auch nicht ausgeschlossen werden, zumal vor dem Hintergrund der tendenziell besseren Dichtigkeitswerte in der Non-compaction-Gruppe (Mann-Whitney-Test; $p = 0,19$) bei der die Nebenstifte zusätzlich mit Sealer beschickt in den Kanal

eingebraucht werden, so dass zuvor unbenetzte Kanalwandabschnitte durch den zusätzlich eingebrachten Sealer miterfasst werden. Ein ungenügendes Sealerplacement kann auch durch einen nicht exakt passenden Masterpoint zu einem primären Hohlraum führen. Ungefüllte Räume können ebenso die Folge sein wie ein direkt an der Kanalwand liegender Guttaperchastift, der keinen Verbund mit dem Dentin der Wurzelkanalwand eingehen kann [193]. Auch Yücel et al. ermittelten in ihrer Studie deutlich schlechtere Ergebnisse für die Einstifttechnik. Bereits nach 9 Tagen zeigten alle Proben eine bakterielle Leakage [233]. Ein möglicher Grund für die teils besseren Penetrationswerte in der vorliegenden Studie kann die unterschiedliche Art der Sealerapplikation sein. Mithilfe der *EZ-Fill Bi-directional Spiral* wird voraussichtlich ein besseres Sealerplacement erzielt, als durch ein reines Beschicken des Masterpoints. Trotzdem führt die Single-cone-Technik nur zu einer unzureichenden Abdichtung des Wurzelkanals.

Thermafil-Technik

Die *Thermafil*-Technik als Warmfülltechnik zeigte keinen signifikanten Unterschied zur lateralen Kompaktion hinsichtlich der bakteriellen Dichtigkeit. (Mann-Whitney-Test; $p = 0,283$) Damit stellt sie auf Basis der vorliegenden Untersuchung hinsichtlich ihres Abdichtungsvermögens die einzige empfehlenswerte Alternative zur lateralen Kompaktion dar. Im Paarvergleich zeigt die *Thermafil*-Technik gegenüber der Einstifttechnik einen signifikanten Unterschied (Mann-Whitney-Test; $p = 0,015^*$), der Nullhypothese #3 zumindest teilweise widerlegt. Die ähnlich guten Ergebnisse für *Thermafil* können durch die Fließeigenschaften der plastifizierten Guttapercha erklärt werden. Der *Thermafil*-Obturator liegt vor der Erwärmung leicht überdimensioniert vor und kann nicht in den Kanal einprobiert werden. Für diesen Zweck sieht das System einen sogenannten *Verifier* vor, der in Konizität und Größe dem letzten *ProFile*-Aufbereitungsinstrument und dem Kunststoffträger entspricht. Damit wird um den Kunststoffträger eine gleichmäßige Schicht Guttapercha erzeugt. Der zuvor überdimensionierte Obturator wird in einem speziellen Ofen plastifiziert und kann hierdurch vorsichtig in den Kanal vorgeschoben werden. Dementsprechend wird ein Druck aufgebaut, der nach apikal und nach lateral wirkt. Gencoglu konnte anhand von Schnittbildern unter dem Elektronenmikroskop zeigen, dass die plastifizierte Guttapercha zum Teil in die freigelegten Dentintubli gepresst wird und durch das thermoplastische Verfahren eine gute Adaptation der Guttapercha an die Kanalwand erzeugt wird [75]. Des Weiteren werden laterale Kanäle zum Teil sogar besser mit abgefüllt als mit der lateralen Kompaktionstechnik [33].

In einer Studie von Özcan et al. konnten in der Gruppe *AH Plus/Thermafil* wie in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede zur lateralen Kondensation festgestellt werden. In der Gruppe *AH Plus/lateralen Kompaktion* wurden nach 100 Tagen 13 Proben ($n = 15$) durch *Enterococcus faecalis* penetriert, während 2 der Proben über die Versuchsdauer hinaus dicht blieben [141]. Als ein weiterer Grund für diese konsistent guten Ergebnisse ist die Wahl des Sealers *AH Plus* anzunehmen. Beispielsweise zeigte *Thermafil* in Kombination mit dem *Grossman Sealer* (Zinkoxid-Eugenol-basiert) eine weitaus schlechtere Abdichtungsleistung. Schon nach 30 Tagen waren 15 der 20 Versuchsproben kontaminiert, nach 60 Tagen sogar 18 Proben [188]. Der Volumenreduktion der sich abkühlenden Guttapercha wirkt die Expansion des *AH Plus* entgegen. Der in dieser Studie verwendete Sealer *AH Plus* unterliegt einer Abbindeexpansion von initial 0,4 bzw. 0,9 % nach 4 Wochen, wodurch das Risiko einer frühzeitigen bakteriellen Leakage anscheinend minimiert werden kann [140]. Da die Volumenänderung der Guttapercha bis zu 10 Stunden andauern kann, ist die Verwendung eines Sealers mit einer entsprechend langen Aushärtungszeit anzustreben. Die Aushärtungszeit von *AH Plus* beträgt ungefähr 8 Stunden, wodurch eine volumenstabile und gewebeverträgliche Wurzelkanalfüllung erzielt werden kann [116].

Trotz der insgesamt guten festgestellten Abdichtungsleistung von *Thermafil* können technische Aspekte das Abdichtungsvermögen im Einzelfall negativ beeinflussen. Zu bedenken ist beispielsweise, dass durch die Überdimensionierung des *Thermafil*-Obturator ein Pressdruck entstehen kann, der potenziell zu einem Abtrag der zuvor dünn eingebrachten Sealerschicht führt. Dies war in der Vorübung zu dieser Studie ebenso wie in vorherigen Studien zu beobachten. Die Extrusion von Sealer wie auch Guttapercha ist bei dem *Thermafil*-System eine bekannte Problematik [38, 58, 174]. Des Weiteren kann es bei nicht exakter Zentrierung des *Thermafil*-Stiftes zu einem ungewollten Abstreifen der Guttapercha von dem Kunststoffträger kommen. Insbesondere im apikalen Bereich können hieraus Undichtigkeiten infolge einer mangelnden Adaptation des Kunststoffträgers an die Kanalwand resultieren [114]. Ferner sollte die Art der Stiftinsertation vor der Anwendung wie in dieser Studie ausreichend geübt werden, damit durch den im Kanal erzeugten Druck Guttapercha und Sealer adäquat an die Kanalwand gepresst werden können. Entscheidend ist, dass während der Stiftinsertation der *Thermafil*-Obturator für 30 Sekunden in seiner endgültigen Position gehalten wird, wodurch die abkühlungsbedingte Schrumpfung der Guttapercha weiterhin kompensiert werden kann [160].

Limitationen der lateralen Kompaktion

Während die *Thermafil*-Technik hinsichtlich ihres Abdichtungsvermögens eine valide Alternative zur lateralen Kompaktion darstellt, ist ihre Anwendung sehr techniksensitiv. Gleiches gilt jedoch auch für die laterale Kompaktionstechnik. So konnte eine Bakterienpenetration innerhalb des Versuchszeitraums auch an den Probezähnen dieser Versuchsgruppe nur teilweise verhindert werden. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass infolge des Spreaders die Guttaperchastifte so gegeneinander verschoben werden, dass die Nebenstifte einander berühren. Durch den fehlenden Sealer am Interface der Guttaperchastifte könnte in diesem Bereich eine bakterielle Leakage auftreten. Ein weiterer möglicher Grund ist die höchst techniksensitive Durchführung. Die richtige Kraftdosierung beim Einsatz der Spreader erfordert eine hohe Anwendungsroutine. Diese Variable ist schlecht zu standardisieren und sollte vor dem praktischen Einsatz ausreichend geübt werden. Durch die Kompaktion mit Hilfe des Spreaders können ungewollt Defekte im Dentin, Craze Lines oder eine partielle oder vollständige Vertikalfraktur der Wurzelformation erzeugt werden [181]. Diese Mikrorisse können das Eindringen von Flüssigkeiten begünstigen und bakterielle Leakage fördern. Die früheste Penetration zeigte eine Probe der Gruppe schon nach einem Tag – ein solcher Mikroriss infolge der lateralen Kompaktion mit dem Spreader wird als ursächlich angenommen.

In einer Studie von Clark-Holke blieb in der Gruppe *AH Plus*/laterale Kompaktion nach Entfernung des Smear Layers eine bakterielle Penetration in allen Probenzähnen aus. Innerhalb von 60 Tagen zeigte keine der Proben dieser Gruppe durch *Fusobacterium nucleatum*, *Camphylobacter rectus* und *Peptostreptococcus micros* eine Eintrübung. In der Gruppe mit Smear Layer zeigten 60 % der Proben bakterielle Leakage [34]. Die Unterschiede zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie können auf eine bakterio-statische und bakterizide Wirkung durch *AH 26* zurückgeführt werden, die so bei *AH Plus* nicht vorliegt. Die antibakteriellen Eigenschaften sind zwar in vivo wünschenswert, können aber das bakterielle Penetrationsvermögen beeinflussen bzw. verzögern. Zu anderen Ergebnissen kamen Timpawat et al. in ihrem Bakterienpenetrationsversuch, der die Dichtigkeit unterschiedlicher Sealer unter Verwendung der lateralen Kompaktionstechnik evaluierte. In der Gruppe von *AH Plus* zeigten schon nach 30 Tagen vier, nach 60 Tagen 5 von 16 Proben eine Trübung durch *Enterrococcus faecalis* [205].

In einer weiteren Studie, die eine polymikrobielle Bakteriensuspension einsetzte, zeigten bereits nach 90 Tagen 10 Proben, die mit *AH Plus* und der lateralen

Kompaktion obturiert wurden, eine Eintrübung der unteren Kammer. Interessanterweise konnten insbesondere Streptokokken in der unteren Kammer nachgewiesen werden. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Penetrationsdauer konnte bei Zugabe von *Candida albicans* nicht beobachtet werden [130].

Diese Variabilität trotz des gleichen Sealers und Fülltechnik lassen den Rückschluss zu, dass unterschiedliche Parameter die Ergebnisse beeinflussen. Es wird angenommen, dass die verschiedenen zu bestimmenden Parameter – wie die Wahl des Versuchskeimes, die Wurzellänge, die Aufbereitungsart, der Konus und Taper bei der Aufbereitung, die Wahl der Sealerapplikation und des Spülkonzepts – einen synergistischen Effekt aufweisen.

Klinischer Ausblick

Die Penetration eines einzelnen Bakteriums *in vitro* führt durch bakterielles Wachstum zu einer Eintrübung der unteren Kammer. *In vivo* kann ein einzelnes Bakterium durch die körpereigene Immunabwehr recht effektiv bekämpft werden. Andererseits sollte nicht ignoriert werden, dass durch die Penetration eines einzelnen Keimes ein potentieller Penetrationsweg besteht. Das könnte die nachfolgende Penetration weiterer Bakterien auch *in vivo* begünstigen, da der Penetrationsweg präformiert ist. Die kritische Anzahl an Bakterien, die den Wurzelkanal penetrieren müssen um eine akute Entzündungsreaktion hervorzurufen, ist bisher nicht bekannt und ist abhängig von der Wirtsabwehr sehr variabel.

Der Bakterienpenetrationsversuch besitzt Modellcharakter. Die vorliegende Studie wurde extraoral unter optimierten, festgelegten Parametern durchgeführt und kann daher nur eingeschränkt auf klinische Behandlungsmaßnahmen übertragen werden. Faktoren innerhalb der Mundhöhle wie Temperaturwechsel, Speichelfließrate, Substratverfügbarkeit und Kaubelastung, die auch einen mögliche Einfluss auf den dauerhaft dichten Verschluss des Wurzelkanals besitzen, können nicht gesondert berücksichtigt werden. Andererseits ist eine Standardisierung diverser Parameter wünschenswert um die Ergebnisse bakterieller Leakage-Studien besser miteinander vergleichen zu können.

Die in *In-vivo*-Studien erlangten Ergebnisse zeigen sich in ihrer Aussagekraft, den *In-vitro*-Ergebnissen überlegen. Jedoch können mit Hilfe von *In-vitro*-Untersuchungen relative Erkenntnisse gewonnen werden, die eine Entscheidungsgrundlage für die Planung weiterer *In-vivo*-Untersuchungen darstellen können. Bei der Vielzahl neuer

Wurzelfüllmaterialien und Fülltechniken scheint diese Vorgehensweise durchaus sinnvoll. Des Weiteren besitzen insbesondere Langzeitstudien wie die vorliegende einen gewissen Vorhersagewert.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Fülltechniken unter Verwendung des gleichen Sealers gegenüber einer bakteriellen Penetration zwar unterschiedlich lange, jedoch allgemein nur begrenzt standhalten können. So ist eine dauerhafte Abdichtung nicht möglich. Die Forderung der DGZMK nach Revision einer zur Mundhöhle hin frei liegenden Wurzelkanalfüllung besitzt also weiterhin Gültigkeit. Bisher konnte noch keine Kombination aus Obturationsmaterial und Wurzelkanalfülltechnik in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben werden, die absolut dicht und zugleich biokompatibel ist. Aus diesem Grund werden weiterhin neue Sealmaterialien und neue Fülltechniken vorgestellt. Diese Entwicklung wird komplementiert durch die aktuelle Überlegung in die Richtung eines sekundären Verschlusses über der Wurzelkanalfüllung, sogenannten *Orifice Plugs*. Damit soll unabhängig vom Zeitpunkt, der Wahl und der Qualität der koronalen Deckfüllung eine zusätzliche Barriere gegenüber dem bakteriellen Milieu der Mundhöhle geschaffen werden. *In vitro* konnte bereits gezeigt werden, dass mit einer sekundären Abdeckung mit einer Schichtstärke von 2 mm aus *Ketac molar*, einem Glasionomermaterial, eine bakterielle Reinfektion hinausgezögert werden kann [29]. Jedoch unterschieden sich die Ergebnisse zu der hier vorliegenden Studie nicht wesentlich.

Die innovative Ädhäsivtechnik nimmt derzeit auch zur dieser Fragestellung einen hohen Stellenwert ein. Idealerweise würde die Wurzelkanalfüllung den adhäsiven Verschluss nach apikal hin konsequent fortsetzen, so dass die Penetration von Bakterien und anderen Mikroorganismen und folglich eine Reinfektion des Periapex möglichst langfristig verhindert werden kann. Derzeit ist noch kein adhäsives Wurzelkanalfüllmaterial oder sekundäres Verschlussmaterial verfügbar, welches diese Forderungen erfüllt.

7 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden *In-vitro*-Studie zeigen, dass die Wahl der Fülltechnik einen entscheidenden Einfluss auf die apikale Dichtigkeit besitzt. Anhand der ermittelten bakteriellen Penetrationszeiten konnte gezeigt werden, dass insbesondere innerhalb der Kaltfülltechniken durch die Kompaktion des Wurzelkanalfüllmaterials eine bakterielle Penetration hinausgezögert werden kann. Das lässt den Rückschluss zu, dass die Kompaktion mittels eines Spreaders eine dichtere Wurzelkanalfüllung erzeugt, die zumindest über eine gewisse Zeit einer bakteriellen Neubesiedlung des Wurzelkanals vorbeugen kann. Wurde bei der Obturation des Wurzelkanals auf die Kompaktion akzessorischer Nebenstifte verzichtet oder nur ein Hauptstift in den Kanal eingebracht, konnte schon frühzeitig eine bakterielle Mikroleakage beobachtet werden. Die Warmfülltechnik *Thermafil*, bei der überdimensionierte Obturatorstifte nach Erwärmung plastifiziert in den Kanal eingebracht werden, stellte sich angesichts nicht signifikant abweichender Penetrationszeiten als gute Alternative zur kalten lateralen Kompaktion heraus.

In dem Versuchszeitraum von 180 Tagen zeigten einige der Probenzähne keine bakterielle Penetration durch den Versuchskeim. Jedoch trat diese Beobachtung nur vereinzelt auf. Damit belegt die vorliegende Studie schlussfolgernd auch, dass keine der untersuchten Fülltechniken und der Kombination mit *AH Plus*/Guttapercha in einer einzigen Formulierung im Stande ist dauerhaft einer bakteriellen Reinfektion des Wurzelkanals vorzubeugen.

8 Zusammenfassung

8.1 Hintergrund und Ziele

Bei der Pathogenese endodontischer Beschwerdebilder stellen Bakterien und ihre Toxine die häufigste Ursache dar. Ein langfristig endodontischer Behandlungserfolg ist daher nur gewährleistet, wenn dauerhaft eine bakteriendichte Obturation des endodontisch behandelten Wurzelkanals erfolgt. Ziel dieser *In-vitro*-Studie war es, die apikale Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung aus *AH Plus* und Guttapercha unter Verwendung verschiedener Obturationstechniken anhand eines Bakterienpenetrationstests zu überprüfen.

8.2 Methoden

Es wurden 44 humane Front- und Seitenzähne mit einem Wurzelkanal und einem runden Wurzelkanalquerschnitt ausgewählt. Die Einteilung der Probenzähne erfolgte randomisiert in 4 Gruppen zu je 10 Zähnen, sowie in eine positive und negative Kontrollgruppe mit jeweils 2 Zähnen. Die Gruppeneinteilung beruhte auf den 4 gewählten Obturationstechniken: Single-cone-Technik (SCT), Lateral-compaction-Technik (LCT), Non-compaction-Technik (NCT) und *Thermafil*-Technik (TT). Die Probenzähne wurden auf eine einheitliche Länge von 10 mm gekürzt und mit Hilfe von *FlexMaster* und *ProFile*-Instrumenten bis .04/#45 maschinell aufbereitet. Neben einer intermittierenden Spülung mit Natriumhypochlorit (5 %) wurde eine abschließende Spülsequenz bestehend aus Natriumhypochlorit (5 %), Zitronensäure (40 %) und Ethanol (70 %) gewählt. Nach Trocknung der Wurzelkanäle, wurde der Sealer *AH Plus* in den Gruppen der Kaltfülltechniken mit der *EZ-Fill Bi-directional Spiral*, in der *Thermafil*-Gruppe mittels Papierspitzen, eingebracht. Je nach Obturationstechnik wurden die Probenzähne weiterhin mit einem Masterpoint, einem Masterpoint und mehreren Satellitenstiften oder mit Hilfe eines *Thermafil*-Stiftes gefüllt. Nach einer Aushärtungszeit von 28 Tagen erfolgte die Versiegelung der Wurzeloberfläche aller Probenzähne mit Cyanoacrylat, mit Ausnahme der apikalen 1-2 mm und der koronalen Schnittstelle. Anschließend wurden die versiegelten Probenzähne in ein Doppelkammersystem eingebaut. Nachdem die untere Kammer mit einer klaren Nährlösung befüllt war, konnte der komplette Versuchsaufbau sterilisiert werden. Der Versuchsaufbau wurde komplettiert durch die Inkubation der oberen Kammer mit einer geeigneten konstanten *Lactobacillus*-Kultur. Ab diesem Zeitpunkt wurde ein tägliches Ableseprotokoll über die Bakteriendurchlässigkeit der einzelnen Proben

geführt. Zeigte eine der unteren Kammern eine Trübung des Nährmediums, konnte auf ein Bakterienwachstum und folglich auf eine bakterielle Penetration geschlossen werden. Der Beobachtungszeitraum wurde auf 180 Tage festgelegt. Die statistische Datenanalyse der Penetrationszeiten erfolgte mit dem Auswertungsprogramm SPSS Statistics 22.0.

8.3 Ergebnisse

In dem Beobachtungszeitraum der vorliegenden *In-vitro*-Studie konnte gezeigt werden, dass ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der jeweiligen Obturationstechnik und der Dichtigkeit einer Wurzelkanalfüllung besteht. Zum Ende des Beobachtungszeitraums waren 31 der 40 Proben bakteriell penetriert. Die ersten Eintrübungen konnten bei den Proben Single-cone-Technik festgestellt werden. Ähnlich schlechte Werte zeigte die Non-compaction-Technik. Deutlich und zum Großteil statistisch signifikant besser war die Dichtigkeit der Proben, die mit der lateralen Kompaktionstechnik und der *Thermafil*-Technik gefüllt worden waren.

8.4 Praktische Schlussfolgerungen

Wird der Verlust der Dichtigkeit zwischen den Gruppen betrachtet, konnte gezeigt werden, dass die Kombination von *AH Plus* und Guttapercha unter Verwendung der lateralen Kompaktion die geringste bakterielle Durchlässigkeit besitzt und somit für die klinische Anwendung empfohlen werden kann. *Thermafil* als moderne Warmfülltechnik zeigt sich in den Testergebnissen als potenzielle Alternative. Weder die Non-compaction-Technik noch die Einstifttechnik können auf Grundlage der vorliegenden Untersuchungsergebnisse zum praktischen Einsatz empfohlen werden.

9 Summary

9.1 Background and objectives

Bacteria and their byproducts are the most common cause in the pathogenesis of endodontic diseases. A long-term success of endodontic treatment is therefore only attainable if a permanent sealing against bacteria of the endodontically treated root canal can be achieved. The objective of this in-vitro study was to examine the quality influence of different obturation techniques on the apical seal of root canal fillings of *AH Plus* and guttapercha, based on a bacterial penetration test.

9.2 Materials and methods

44 human anterior and posterior teeth with a single straight root canal and a round root canal cross-section were selected. The sample was divided into 4 randomized groups of 10 teeth, and positive and negative control groups of 2 teeth each. The grouping was based on the four selected obturation techniques: single cone technique (SCT), lateral compaction technique (LCT), non-compaction technique (NCT) and *Thermafil* (TT). The sample teeth were cut to a uniform length of 10 mm before the root canals were enlarged to .04/ #45, using the *FlexMaster* and *ProFile* instruments. An intermittent flushing with sodium hypochlorite (5 %) was followed by a final rinsing sequence that consisted of sodium hypochlorite (5 %), citric acid (40 %) and ethanol (70 %). The root canals were dried before the *AH Plus* sealer was placed with the *EZ-Fill Bi-directional spiral* for the cold-filling techniques, and by means of paper points, respectively, for the *Thermafil* group. Depending on the filling-technique, teeth were still filled with a masterpoint, a masterpoint and accessory points or using a *Thermafil* obturator. After a 28-day curing period, the root surfaces of all sample teeth were sealed with cyanoacrylate, with the exception of 1-2 mm apical and coronal interface. Subsequently, the sealed sample teeth were mounted in a dual chamber system. After the lower chamber was filled with a clear broth, the entire experimental setup was sterilized. The experimental setup was completed by incubation of the upper chamber with a suitable lactobacillus culture. From this point, the bacterial permeability of each sample was monitored and recorded daily. If any of the lower chambers showed turbidity of the culture medium, bacterial penetration had taken place. The observation period was set to 180 days. The statistical data analysis of the penetration times was performed using SPSS 22.0.

9.3 Results

In the observation period of the present *in vitro* study, a statistically significant correlation between the filling-techniques and sealing ability of a root canal filling was shown. At the end of the observation period, 31 out of 40 samples were penetrated by bacteria. The first turbidities were observed in the single cone group. The non-compaction group showed similar penetration times. A better performance was recognized in the lateral compaction and *Thermafil* groups.

9.4 Practical conclusions

It was shown that the combination of guttapercha and *AH Plus* using the lateral compaction has the lowest bacterial permeability and can therefore be recommended for clinical application. *Thermafil* as a modern warm-filling technique shows up in the test results as a potential alternative. Neither the non-compaction technique nor the single cone technique can be recommended on the basis of the present findings for practical use.

10 Literaturverzeichnis

1. Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA: Ultrasonic debridement of root canals: Acoustic streaming and its possible role. *J Endod* 1987; 13: 490-499
2. Akpata ES, Blechman H: Bacterial Invasion of Pulpal Dentin Wall in vitro. *J Dent Res* 1982; 61: 435-438
3. Almeida JFA, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho, FJ, Zaia AA: Filling of artificial lateral canals and microleakage and flow of five endodontic sealers. *Int Endod J* 2007; 40: 692-699
4. Al-Omari M, Dummer P: Canal Blockage and Debris Extrusion with Eight Preparation Techniques. *J Endod* 1995; 21: 154-158
5. Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM: Effect of sterilisation methods on the Structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. *J Dent* 1999; 27: 313-316
6. Andreasen GF, Marrow RE: Laboratory and clinical analyses of nitinol wire. *Am J Orthod* 1978; 73: 142-151
7. Antonopoulos KG, Attin T, Hellwig E: Evaluation of the apical seal of root canal fillings with different methods. *J Endod* 1998; 24: 655-658
8. Archer R, Reader A, Nist R, Beck M, Meyers WJ: An in vivo evaluation of the efficacy of ultrasound after step-back preparation in mandibular molars. *J Endod* 1992; 18: 549-552
9. Azabal M, Garcia-Otero D, de la Macorra, JC: Accuracy of the Justy II Apex locator in determining working length in simulated horizontal and vertical fractures. *Int Endod J* 2004; 37: 174-177
10. Barthel CR, Moshonov J, Shuping G, Orstavik D: Bacterial leakage versus dye leakage in obturated root canals. *Int Endod J* 1999; 32: 370-375

11. Baumgartner G, Zehnder M, Paqué F: Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with gutta-percha/AH plus or Resilon/Epiphany. J Endod 2007; 33: 45-47
12. Baumgartner JC, Cuenin PR: Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. J Endod 1992; 18: 605-612
13. Beatty RG, Vertucci FJ, Zarkariassen KL: Apical sealing efficacy of endodontic obturation techniques. Int Endod J 1986; 19: 237-241
14. Behrend GD, Cutler CW, Gutmann JL: An in-vitro study of smear layer removal and microbial leakage along root-canal fillings. Int Endod J 1996; 29: 99-107
15. Berry KA, Loushine RJ, Primack PD, Runyan DA: Nickel-titanium versus stainless-steel finger spreaders in curved canals. J Endod 1998; 24: 752-754
16. Berutti E, Negro AR, Lendini M, Pasqualini D.: Influence of manual preflaring and torque on the failure rate of ProTaper rotary instruments. J Endod 2004; 30: 228-230
17. BioMerieux ®SA Marcy, Etoile, Frankreich: api ®50 CHL Medium. Lactobacillus and related genera 2007 (Instruction)
18. Blank-Gonçalves LM, Nabeshima CK, Martins GH, de Lima Machado M: Qualitative Analysis of the Removal of the Smear Layer in the Apical Third of Curved Roots: Conventional Irrigation versus Activation Systems. J Endod 2011; 37: 1268-1271
19. Blome B, Braun A, Sobarzo V, Jepsen S: Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 2008; 23: 384-390
20. Braun A, Schüttlöffel EM, Frentzen M: Wurzelkanalbegradigung durch die Aufbereitung mit rotierenden NiTi-Systemen. Dtsch Zahnärztl Z 2003; 58: 42-45

21. Brosco VH, Bernardineli N, Torres SA et al.: Bacterial leakage in obturated root canals—part 2: a comparative histologic and microbiologic analyses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 788-794
22. Brosco VH, Bernadineli N, Torres SA, Consolaro A, Bramante CM, de Moraes IG, Garcia RB: Bacterial leakage in root canals obturated by different techniques. Part 1: microbiologic evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105: 48-53
23. Bryant, Thompson, Al-Omari, Dummer: Shaping ability of Profile rotary nickel-titanium instruments with ISO sized tips in simulated root canals: Part 1. *Int Endod J* 1998; 31: 275-281
24. Budd CS, Weller RN, Kulild JC: A comparison of thermoplasticized injectable gutta-percha obturation techniques. *J Endod* 1991; 17: 260-264
25. Buttler T, Crawford JJ: The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite on endotoxins. *Int Endod J* 1982; 8: 59-66
26. 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
27. Byström A, Sundqvist G: Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Eur J Oral Sci* 1981; 89: 321-328
28. Camargo, Carlos Henrique R., Oliveira TR, Silva GO, Rabelo SB, Valera MC, Cavalcanti BN: Setting time affects in vitro biological properties of root canal sealers. *J Endod* 2014; 40: 530-533
29. Celik EU, Yapar AGD, Ateş M, Sen BH: Bacterial microleakage of barrier materials in obturated root canals. *J Endod* 2006; 32: 1074-1076
30. Chailertvanitkul P, Saunders WP, MacKenzie D: Coronal leakage of obturated root canals after long-term storage using a polymicrobial marker. *J Endod* 1997; 23: 610-613

31. Chavez de Paz, Luis E, Chávez de Paz, Luis: Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod* 2007;33: 652-662
32. Chugal NM, Clive JM, Spångberg LS: Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 81-90
33. Clark DS, ElDeeb ME: Apical sealing ability of metal versus plastic carrier thermafil obturators. *J Endod* 1993; 19: 4-9
34. Clark-Holke D, Drake D, Walton R, Rivera E, Guthmiller JM: Bacterial penetration through canals of endodontically treated teeth in the presence or absence of the smear layer. *J Dent* 2003; 31: 275-281
35. Clinton K, Himel V: Comparison of a Warm Gutta-Percha Obturation Technique and Lateral Condensation. *J Endod* 2001; 27: 692-695
36. Cunningham WT, Martin H, Forrest WR: Evaluation of root canal débridement by the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53: 401-404
37. Czonstkowsky M, Wilson E, Holstein F: The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am* 1990; 34: 13-25
38. Da Silva D, Endal U, Reynaund A, Portenier I, Ostarvik D, Haaspasalp M: A comparative study of lateral condensation, heat-softened gutta-percha, and a modified master cone heat-softened backfilling technique. *Int Endod J* 2002; 35: 1005-1011
39. Dalton BC, Ørstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M: Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod* 1998; 24: 763-767
40. De Almeida WA, Leonardo MR, Tanomaru Filho, Silva LAB: Evaluation of apical sealing of three endodontic sealers. *Int Endod J* 2000; 33: 25-27

41. De-Deus GA, Martins F, Lima AC, Gurgel-Filho ED, Maniglia CF, Coutinho-Filho T: Analysis of the film thickness of a root canal sealer following three obturation techniques. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17: 119-125
42. De Moor RJ, De Bruyne MA: The long-term sealing ability of AH 26 and AH plus used with three gutta-percha obturation techniques. *Quintessenz* 2004; 35: 326-331
43. De Moor, R. J., De Boever JG: The sealing ability of an epoxy resin root canal sealer used with five gutta-percha obturation techniques. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 291-297
44. De-Deus G, Brandão MC, Fidel RAS, Fidel SR: The sealing ability of GuttaFlow™ in oval-shaped canals: an ex vivo study using a polymicrobial leakage model. *Int Endod J* 2007; 40: 794-799
45. De-Deus G, Coutinho-Filho T, Reis C, Murad C, Paciornik S: Polymicrobial Leakage of Four Root Canal Sealers at Two Different Thicknesses. *J Endod* 2006; 32: 998-1001
46. De-Deus G, Murad C, Paciornik S, Reis CM, Coutinho-Filho T: The effect of the canal-filled area on the bacterial leakage of oval-shaped canals. *Int Endod J* 2008; 41: 183-190
47. De-Deus G, Diogo Gurgel-Filho E, Maniglia-Ferreira C, Coutinho-Filho T: Influence of the filling technique on depth of tubular penetration of root canal sealer: a scanning electron microscopy study. *Braz J Oral Sci* 2004; 3: 433-439
48. Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz Deutschland: AH Plus® Root canal sealer. *Scientific Compendium* 2005
49. Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz Deutschland: Thermafil®. Eine verlässliche Wurzelfüllungstechnik. *Gebrauchsanweisung* 2008

50. De-Deus Murad CF, Reis CM, Gurgel-Filho E, Coutinho-Filho T: Analysis of the sealing ability of different obturation techniques in oval-shaped canals: a study using a bacterial leakage model. *Braz Oral Res* 2006; 20: 64-69
51. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Wurzelkanalfüllpasten und-stifte. *Dtsch Zahnärztl Z* 2000; 55
52. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Zur Prognose von Wurzelkanalbehandlungen. *Dtsch Zahnärztl Z* 2001; 56
53. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Revision einer Wurzelkanalbehandlung. *Dtsch Zahnärztl Z* 2004; 59
54. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Die maschinelle Wurzelkanalaufbereitung. *Dtsch Zahnärztl Z* 2005; 60
55. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Die Wurzelkanalspülung. *Dtsch Zahnärztl Z* 2006; 10
56. DGZMK, DGZ Wissenschaftliche Stellungnahme: Good clinical practice: Die Wurzelkanalbehandlung. *Dtsch Zahnärztl Z* 2008; 60
57. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE: Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. *J Endod* 1994; 20: 78-82
58. Dummer PMH, Kelly T, Meghji A, Sheikh L, Vantichai JT: An in vitro study of the quality of root fillings in teeth obturated by lateral condensation of gutta-percha or Thermafil obturators. *Int Endod J* 1993; 26: 99-105
59. Economides N, Liolios E, Kolokuris I, Beltes P: Long-term evaluation of the influence of smear layer removal on the sealing ability of different sealers. *J Endod* 1999;25: 123-125
60. EDS, Hackensack, USA: EZ-FILL® bi-directional spiral & epoxy root canal cement. Instruction Sheet

61. Eldeniz AU, Ørstavik D: A laboratory assessment of coronal bacterial leakage in root canals filled with new and conventional sealers. *Int Endod J* 2009; 42: 303-312
62. Eldeniz A, Erdemir A, Belli S: Shear bond strength of three resin based sealers to dentin with and without the smear layer. *J Endod* 2005; 31: 293-296
63. Esposito PT, Cunningham CJ.: A comparison of canal preparation with nickel-titanium and stainless steel instruments. *J Endod* 1995; 21: 173-176
64. European Society of Endodontology: Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J* 2006; 39: 921-930
65. Fabricius L, Dahlen G, Öhman AE, Möller AJR.: Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Eur J Oral Sci* 1982; 90: 134-144
66. Facer SR, Walton RE: Intracanal distribution patterns of sealers after lateral condensation. *J Endod* 2003; 29: 832-834
67. Facer S, Walton R: Intracanal Distribution Patterns of Sealers After Lateral Condensation. *J Endod* 2003; 29: 832-834
68. Fife D, Gambarini G, Britto LR: Cyclic fatigue testing of ProTaper NiTi rotary instruments after clinical use. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 251-256
69. Fisher MA, Berzins DW, Bahcall JK: An in vitro comparison of bond strength of various obturation materials to root canal dentin using a push-out test design. *J Endod* 2007; 33: 856-858
70. Friedman S, Torneck CD, Komorowski R, Ouzounian Z, Syrtash P, Kaufman A: In vivo model for assessing the functional efficacy of endodontic filling materials and techniques. *J Endod* 1997; 23: 557-561

71. Gambarini G: Rationale for the use of low-torque endodontic motors in root canal instrumentation. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 95-100
72. Gee AJ, Wu MK, Wesselink PR: Sealing properties of Ketac-Endo glass ionomer cement and AH26 root canal sealers. *Int Endod J* 1994; 27: 239-244
73. Gençoğlu N, Garip Y, Baş M, Samani S: Comparison of different gutta-percha root filling techniques: Thermafil, Quick-fill, System B, and lateral condensation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 333-336
74. Gençoğlu N: Comparison of 6 different gutta-percha techniques (part II): Thermafil, JS Quick-Fill, Soft Core, Microseal, System B, and lateral condensation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 91-95
75. Gençoğlu N, Samani S, Günday M: Dentinal wall adaptation of thermoplasticized gutta-percha in the absence or presence of smear layer: A scanning electron microscopic study. *J Endod* 1993; 19: 558-562
76. Gençoğlu N, Türkmen C, Ahiskali R: An new silicon- based root canal sealer (Roeko Seal- Automix). *J Oral Rehabil* 2003; 30: 753-755
77. Georgopoulou MK, Wu M, Nikolaou A, Wesselink PR: Effect of thickness on the sealing ability of some root canal sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80: 338-344
78. Gettleman BH, Messer HH, ElDeeb ME: Adhesion of sealer cements to dentin with and without the smear layer. *J Endod* 1991; 17: 15-20
79. Gilbert SD, Witherspoon DE, Berry CW: Coronal leakage following three obturation techniques. *Int Endod J* 2001; 34: 293-299

80. Gilhooly RM, Hayes SJ, Bryant ST, Dummer PM: Comparison of lateral condensation and thermomechanically compacted warm α -phase gutta-percha with a single cone for obturating curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 89-94
81. Glossen CR, Haller RH, Dove SB, Del Rio CE: A comparison of root canal preparations using Ni-Ti hand, Ni-Ti engine-driven, and K-Flex endodontic instruments. *J Endod* 1995; 21: 146-151
82. Gluskin AH, Brown DC, Buchanan LS.: A reconstructed computerized tomographic comparison of Ni-Ti rotary GT files versus traditional instruments in canals shaped by novice operators. *Int Endod J* 2001; 34: 476-484
83. Gressmann G, Hülsmann M: Die maschinelle Wurzelkanalaufbereitung mit dem FlexMaster-NiTi-System. *Endodontie* 2001; 10, 227-241
84. Gutarts R, Nusstein J, Reader A, Beck M: In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod* 2005; 31: 166-170
85. Haapasalo M: Bacteroides species in dental root canal infections. *Dent Traumatol* 1989; 5: 1-10
86. Hammad M, Qualtrough A, Silikas N: Extended setting shrinkage behavior of endodontic sealers. *J Endod* 2008; 34: 90-93
87. Hammes WP, Hertel C: The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K, Stackebrandt E (Hrsg): *The Prokaryotes*. Springer US, New York, NY 2006, 320-403
88. Hammes WP, Vogel RF: The genus *Lactobacillus*. In: Wood BJB, Holzappel WH (Hrsg): *The genera of lactic acid bacteria*. Springer US, Boston, MA 1995, 19-54
89. Handtma S, Lindemann W, Hüttemann H, Schulte W: Korrosionserscheinungen an Silberstiften im Wurzelkanal (I). *Dtsch Zahnärztl Z* 1987; 42: 362-367

90. Haznedaroglu F: Efficacy of various concentrations of citric acid at different ph-values for "smear layer" removal. Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radio Endod. 2003; 96: 340-344
91. Heidemann D: Die Wurzelfüllung-manuell- maschinell. Dtsch Zahnärztl Z 1989; 44: 414
92. Hellwig E, Klimek J, Attin T: (Hrsg): Einführung in die Zahnerhaltung. Deutscher Zahnärzte-Verlag, Köln 2010
93. Hübscher W, Barbakow F, Peters OA: Root canal preparation with FlexMaster: assessment of torque and force in relation to canal anatomy. Int Endod J 2003; 36: 883-890
94. Hülsmann M, Gressmann G, Schäfers F: A comparative study of root canal preparation using FlexMaster and HERO 642 rotary Ni-Ti instruments. Int Endod J 2003; 36: 358-366
95. Hülsmann M: Entwicklung einer Methodik zur standardisierten Überprüfung verschiedener Aufbereitungsparameter und vergleichende In-vitro-Untersuchung unterschiedlicher Systeme zur maschinellen Wurzelkanaläubereitung. Quintessenz, Berlin 2000
96. Hülsmann M, Peters O, Dummer P: Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. Endod Topics 2005; 10: 30-76
97. Inan U, Aydemir H, Taşdemir T: Leakage evaluation of three different root canal obturation techniques using electrochemical evaluation and dye penetration evaluation methods. Aust Endod J 2007; 33: 18-22
98. Jarrett IS, Marx D, Covey D, Karmazin M, Lavin M, Gound T: Percentage of canals filled in apical cross sections - an in vitro study of seven obturation techniques. Int Endod J 2004; 37: 392-398
99. Johnson WB: A new gutta-percha technique. J Endod 1978; 4: 184-188

100. Joyce A, Loushine R, West L, Runyan D, Cameron S: Photoelastic comparison of stress induced by using stainless-steel versus nickel-titanium spreaders in vitro. *J Endod* 1998; 24: 714-715
101. Jungermann GB, Burns K, Nandakumar R, Tolba M, Venezia RA, Fouad AF: Antibiotic resistance in primary and persistent endodontic infections. *J Endod* 2011; 37: 1337-1344
102. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ.: The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 340-349
103. Kaplan AE, Picca M, Gonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL: Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Dent Traumatol* 1999; 15: 42-45
104. Karagenç B, Gençoğlu N, Ersoy M, Cansever G, Külekçi G: A comparison of four different microleakage tests for assessment of leakage of root canal fillings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 110-113
105. Kardon BP, Kuttler S, Hardigan P, Dorn SO: An in vitro evaluation of the sealing ability of a new root-canal-obturation system. *J Endod* 2003; 29: 658-661
106. Kaufman AY, Fuss Z, Keila S, Waxenberg S: Reliability of different electronic apex locators to detect root perforations in vitro. *Int Endod J* 1997; 30: 403-407
107. Kazemi RB, Safavi KE, Spångberg LS: Dimensional changes of endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 766-771
108. Kerekes K, Tronstad L: Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod* 1979; 5: 83-90

109. Khademi A, Yazdizadeh M, Feizianfard M: Determination of the minimum instrumentation size for penetration of irrigants to the apical third of root canal systems. *J Endod* 2006; 32: 417-420
110. Khayat A, Lee S, Torabinejad M: Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *J Endod* 1993; 19: 458-461
111. Koçkapan C (Hrsg): *Curriculum Endodontie*. Quintessenz, Berlin 2003
112. Kontakiotis EG, Wu MK, Wesselink PR: Effect of sealer thickness on long-term sealing ability: a 2-year follow-up study. *Int Endod J* 1997; 30: 307-312
113. Langeland K: Tissue response to dental caries. *Endod Dent Traumatol* 1987; 3: 149-171
114. Lee CQ, Cobb CM, Robinson SJ, LaMartina T, Vo T: In vitro evaluation of the Thermafil technique with and without gutta percha coating. *Gen Dent* 1988; 46: 378-381
115. Leonardo MR, da Silva, Léa Assed Bezerra, Filho MT, da Silva, Roberto Santana: Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 221-225
116. Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS: Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. *Endod Dent Traumatol* 1999; 15: 28-32
117. Lertchirakarn V, Palmara J, Messer H: Load and strain during lateral condensation and vertical root fracture. *J Endod* 1999; 25: 99-104
118. Limkangwalmongkol S, Burtscher P, Abbott PV, Sandler AB, Bishop BM: A comparative study of the apical leakage of four root canal sealers and laterally condensed gutta-percha. *J Endod* 1991; 17: 495-499
119. Loel DA: Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc*. 1975; 90: 148-151

120. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD: Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 1984; 10: 477-483
121. Madison S, Swanson K, Chiles SA: An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part II. Sealer types. *J Endod* 1987; 13: 109-112
122. Madison S, Wilcox LR: An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part III. In vivo study. *J Endod* 1988; 14: 455-458
123. Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE, Newton CW: Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: An in vitro study. *J Endod* 1991; 17: 324-331
124. Malone KH, Donnelly JC: An in vitro evaluation of coronal microleakage in obturated root canals without coronal restorations. *J Endod* 1997; 23: 35-38
125. Mavec JC, McClanahan SB, Minah GE, Johnson JD, Blundell RE: Effects of an intracanal glass ionomer barrier on coronal microleakage in teeth with post space. *J Endod* 2006; 32: 120-122
126. Mayer BE, Peters OA, Barbakow F: Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J* 2002; 35: 582-589
127. McComb D, Smith DC: A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1: 238-242
128. McMichen F, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K: A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J* 2003; 36: 629-635

129. Meister F, Lommel T, Gerstein H: Diagnosis and possible causes of vertical root fractures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1980; 49: 243-253
130. Miletic I, Prpic-Mehicic G, Marsan T et al.: Bacterial and fungal microleakage of AH26 and AH Plus root canal sealers. *Int Endod J* 2002; 35: 428-432
131. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T: Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31: 1-7
132. Monticelli F, Sadek FT, Schuster GS et al.: Efficacy of two contemporary single-cone filling techniques in preventing bacterial leakage. *J Endod* 2007; 33: 310-313
133. Moodnik RM, Dorn SO, Feldman MJ, Levey M, Borden BG: Efficacy of biomechanical instrumentation: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 1976; 2: 261-266
134. Nair P, Henry S, Cano V, Vera J: Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 231-252
135. Nair PNR: On the causes of persistent apical periodontitis. *Int Endod J* 2006; 39: 249-281
136. Nair, P. N. Ramachandran: Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol* 2000 1997; 13: 121-148
137. Narayanan LL, Vaishnavi C: Endodontic microbiology. *J Conserv Dent* 2010; 13: 233-239
138. Oethinger M, Hengel H, Wand-Württenberger A (Hrsg): *Mikrobiologie und Immunologie. Kurzlehrbuch zum GK 2 ; mit 76 Tabellen.* Elsevier, Urban & Fischer, München [u.a.] 2004

139. Ørstavik D: Weight loss of endodontic sealers, cements and pastes in water. Scand J Dent Res 1983; 91: 316-319
140. Ørstavik D, Nordahl I, Tibballs J: Dimensional change following setting of root canal sealer materials. Dent Mater 2001; 17: 512-519
141. Özcan E, Eldeniz AÜ, Aydınbelge HA: Assessment of the sealing abilities of several root canal sealers and filling methods. Acta Odontol Scand 2013; 71: 1362-1369
142. Özok AR, Van der Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR: Sealing ability of a new polydimethylsiloxane-based root canal filling material. J Endod 2008; 34: 204-207
143. Padachey N, Patel V, Santerre P, Cvitkovitch D, Lawrence HP, Friedman S: Resistance of a novel root canal sealer to bacterial ingress in vitro. J Endod 2000; 26: 656-659
144. Pallarés A, Faus V, Glickman GN: The adaption of mechanically softened guttapercha to the canal walls in the presence or absence of smear layer: a scanning electron microscopic study. Int Endod J 1995; 28: 266-269
145. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M: Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001 ;34: 429-434
146. Peciuliene V, Balciuniene I, Ericksen HM, Haapasalo M: Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. J Endod 2000; 26: 593-595
147. Perez F, Rochd T, Lodter JP, Calas P, Michel G: In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 76: 97-103
148. Peters DD: Two-year in vitro solubility evaluation of four gutta-percha sealer obturation techniques. J Endod 1986; 12: 139-145
149. Petschelt A, Oberschachtsiek H: Wandständigkeit verschiedener

- Wurzelfüllmaterialien bei Zentralstifttechnik (REM-Untersuchung). Dtsch Zahnärztl Z 1985; 40: 308
150. Plotino G, Grande NM, Brigante L, Lesti B, Somma F: Ex vivo accuracy of three electronic apex locators: Root ZX, Elements Diagnostic Unit and Apex Locator and ProPex. Int Endod J 2006; 39: 408-414
151. Pommel L, Camps J: Effects of pressure and measurement time on the fluid filtration method in endodontics. J Endod 2001; 27: 256-258
152. Pommel L, Jacquot B, Camps J: Lack of correlation among three methods for evaluation of apical leakage. J Endod 2001; 27: 347-350
153. Pruett JP, Clement DJ, Carnes DL: Cyclic fatigue testing of nickel-titanium endodontic instruments. J Endod 1997; 23: 77-85
154. Qualtrough, A. J. E., Whitworth JM, Dummer, P. M. H.: Preclinical endodontology: an international comparison. Int Endod J 1999; 32: 406-414
155. Ram Z: Effectiveness of root canal irrigation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1977; 44: 306-312
156. Rangel S, Cremonse R, Bryant S, Dummer P: Shaping Ability of RaCe Rotary Nickel-Titanium Instruments in Simulated Root Canals. J Endod 2005; 31: 460-463
157. Ray HA, Trope M: Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. Int Endod J 1995; 28: 12-18
158. Ricucci D, Langeland K: Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. Int Endod J 1998; 31: 394-409

159. Roggendorf MJ, Ebert J, Petschelt A, Frankenberger R: Influence of moisture on the apical seal of root canal fillings with five different types of sealer. *J Endod* 2007; 33: 31-33
160. Roggendorf MJ, Ebert J, Baumann MA: Einfluss von Sealer und Haltezeit von Thermafil-Obturatoren auf die apiakle Dichtigkeit von Wurzelkanalfüllungen. 3. Jahrestagung der DGEEndo. *Endod J* 2004; 3
161. Roy RA, Ahmad M, Crum LA.: Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *Int Endod J* 1994; 27: 197-207
162. Ruiz-Hubard EE, Gutmann JL, Wagner MJ: A quantitative assessment of canal debris forced periapically during root canal instrumentation using two different techniques. *J Endod* 1987; 13: 554-558
163. Sakamoto M, Siqueira JF, Rôças IN, Benno Y: Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 19-23
164. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Ørstavik D: Bacterial penetration along different root canal filling materials in the presence or absence of smear layer. *Int Endod J* 2008; 41: 32-40
165. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo MP, Ørstavik D: Adhesion of endodontic sealers: scanning electron mikroskopy and energy dispersive spectros-copy. *J Endod* 2003; 29: 595-611
166. Sattapan B, Nervo GJ, Palamara JE, Messer HH: Defects in rotary nickel-titanium files after clinical use. *J Endod* 2000; 26: 161-165
167. Saunders WP, Saunders EM: Influence of smear layer on the coronal leakage of thermafil and laterally condensed gutta-percha root fillings with a glass ionomer sealer. *J Endod* 1994; 20: 155-158

168. Saunders WP, Saunders EM: The effect of smear layer upon the coronal leakage of gutta-percha fillings and a glass ionomer sealer. *Int Endod J* 1992; 25: 245-249
169. Saunders WP, Saunders EM: Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10: 105-108
170. Schäfer E: Wurzelkanalfüllmaterialien. *Dtsch Zahnärztl Z* 2000; 55: 15-25
171. Schäfer E, Olthoff G: Effect of three different sealers on the sealing ability of both thermafil obturators and cold laterally compacted gutta-percha. *J Endod* 2002; 28: 638-642
172. Schäfer E, Schulz-Bongert U, Tulus G: Comparison of hand stainless steel and nickel titanium rotary instrumentation: a clinical study. *J Endod* 2004; 30: 432-435
173. Schäfer E, Zandbiglari T: Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J* 2003; 36: 660-669
174. Schäfer E, Olthoff G: Effect of three different sealers on the sealing ability of both thermafil obturators and cold laterally compacted gutta-percha. *J Endod* 2002; 28: 638-642
175. Schilder H, Goodman A, Aldrich W: The thermo-mechanical properties of guttapercha. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 38: 109-114
176. Schilder H: Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974; 18: 269-296
177. Schirrmeister JF, Liebenow AL, Pelz K, Wittmer A, Hellwig E, Almahd A: New bacterial compositions in root-filled teeth with periradicular lesions. *J Endod* 2009; 35: 169-174
178. Schroeder HE (Hrsg): Pathobiologie oraler Strukturen. Zähne. Pulpa. Parodont. 3. Aufl. Karger, Basel 1997

179. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK: Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J* 2005; 38: 735-742
180. Shahravan A, Haghdoost A, Adl A, Rahimi H, Shadifar F: Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod* 2007; 33: 96-105
181. Shemesh H, Bier, C A S, Wu MK, Tanomaru-Filho M, Wesselink PR: The effects of canal preparation and filling on the incidence of dentinal defects. *Int Endod J* 2009; 42: 208-213
182. Shemesh H, Souza EM, Wu MK, Wesselink PR: Glucose reactivity with filling materials as a limitation for using the glucose leakage model. *Int Endod J* 2008; 41: 869-872
183. Shemesh H, Van den Bos M, Wu MK, Wesselink PR: Glucose penetration and fluid transport through coronal root structure and filled root canals. *Int Endod J* 2007; 40: 866-872
184. Shemesh H, Wu MK, Wesselink PR: Leakage along apical root fillings with and without smear layer using two different leakage models: a two-month longitudinal ex vivo study. *Int Endod J* 2006; 39: 968-976
185. Silva EJM, Santos CC, Zaia AA: Long-term cytotoxic effects of contemporary root canal sealers. *J Appl Oral Sci* 2013;21: 43-47
186. Siqueira JF: Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10
187. Siqueira JF: Reaction of periradicular tissues to root canal treatment: benefits and drawbacks. *Endod Topics* 2005; 10: 123-147
188. Siqueira JF, Rôças IN, Favieri A, Abad EC, Castro AJ, Gahyva SM: Bacterial leakage in coronally unsealed root canals obturated with 3 different techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 90: 647-650

189. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM: Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 122-130

190. Siqueira jr JF, Rôças IN, Alves FRF, Santos KRN: Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod* 2004; 30: 638-643

191. Siqueira, JF, Rôças IN: Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34: 1291-1301

192. Siqueira, JF, 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; 26: 331-334

193. Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K: Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990; 16: 498-504

194. Sjörgren U, Fidgor D, Spångberg L, Sundqvist G: The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 1991; 24: 119-125

195. Skinner R, van Himmel T: The sealing ability of injection molded thermo-plasticized guttapercha with and without sealers. *J Endod* 1987; 13: 315-317

196. Sonntag D, Von Abendroth D, Stachniss V: Wurzelkanalaufbereitung mit NiTi-FlexMaster- und M-File-Instrumenten. *Dtsch Zahnärztl Z* 2005; 60: 268-274

197. Souza EM, Wu M, Shemesh H, Bonetti-Filho I, Wesselink PR: Comparability of results from two leakage models. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 106: 309-313

198. Spångberg L, Barbosa SV, Lavigne GD: Ah 26 releases formaldehyde. J Endod 1993; 19: 596-598
199. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K: An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. Int Endod J 2001; 34: 300-307
200. Stevens RW, Strother JM, McClanahan SB: Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after a final rinse with 95% ethanol. J Endod 2006; 32: 785-788
201. Sundqvist G: Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994; 78: 522-530
202. Susini G, Pommel L, About I, Camps J: Lack of correlation between ex vivo apical dye penetration and presence of apical radiolucencies. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 102: 19-23
203. Swanson K, Madison S: An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. J Endod 1987; 13: 56-59
204. Taylor JK, Jeansonne BG, Lemon RR: Coronal leakage: Effects of smear layer, obturation technique, and sealer. J Endod 1997; 23: 508-512
205. Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan W.: Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. J Endod 2001; 27: 36-39
206. Torabinejad M, Ung B, Kettering JD: In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. J Endod 1990; 16: 566-569
207. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK: Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 94: 658-666
208. Turpin Y, Chagneau F, Vulcain J: Impact of two theoretical cross-sections on torsional and bending stresses of nickel-titanium root canal instrument models. J Endod 2000; 26: 414-417

209. Van der Sluis LWM, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR: The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J* 2006; 39: 472-476
210. Van der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR: Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J* 2007; 40: 415-426
211. Vasiliadis L, Kodonas K, Economides N, Gogos C, Stavrianos C: Short- and long-term sealing ability of Gutta-flow and AH-Plus using an ex vivo fluid transport model. *Int Endod J* 2010; 43: 377-381
212. VDW, München, Deutschland: FlexMaster®. Das rotierende NITI- System für alle Fälle. Anwenderbroschüre
213. Veríssimo DM, do Vale, Mônica Sampaio, Monteiro AJ: Comparison of apical leakage between canals filled with gutta-percha/AH-Plus and the Resilon/Epiphany System, when submitted to two filling techniques. *J Endod* 2007; 33: 291-294
214. Villabos R, Moser J, Heuer M: A methode to determine the cuttingefficiency of root canal instruments in rotary motion. *J Endod* 1980; 6: 667-671
215. Weiger R, Bruckner M, ElAyouti A, Lost C: Preparation of curved root canals with rotary FlexMaster instruments compared to Lightspeed instruments and NiTi hand files. *Int Endod J* 2003; 36: 483-490
216. Weine FS: Endodontic therapy, Mosby, St. Louis, Baltimore, Bosten 1995
217. Wilson AD, Clinton DJ, Miller RP: Zinc oxide-eugenol cements: IV. Microstructure and hydrolysis. *J Dent Res* 1973; 52: 253-260

218. Wiseman A, Cox TC, Paranjpe A, Flake NM, Cohenca N, Johnson JD: Efficacy of sonic and ultrasonic activation for removal of calcium hydroxide from mesial canals of mandibular molars: A microtomographic study. *J Endod* 2011; 37: 235-238
219. Wu Mk, Bud MG, Wesselink PR: The quality of single cone and laterally compacted gutta-percha fillings in small and curved root canals as evidenced by bidirectional radiographs and fluid transport measurements. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 946-951
220. Wu Mk, Kontakiotis EG, Wesselink PR: Decoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *J Dent* 1998; 26: 585-589
221. Wu Mk, Ozok AR, Wesselink PR: Sealer distribution in root canals obturated by three techniques. *Int Endod J* 2000; 33: 340-345
222. Wu Mk, Wesselink PR: Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26: 37-43
223. Wu Mk, Wesselink PR, Boersma J: A 1-year follow-up study on leakage of four root canal sealers at different thicknesses. *Int Endod J* 1995; 28: 185-189
224. Wu Mk, Wesselink PR, Walton RE: Apical terminus location of root canal treatment procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89: 99-103
225. WU Mk, Gee AJ, Wesselink PR: Fluid transport and dye penetration along root canal fillings. *Int Endod J* 1994; 27: 233-238
226. Wu D, Tang Z, Zhang G, Liu W: The sealing ability of a new silicone-based root canal filling material (GuttaFlow): an in vitro study using the percentage of gutta-percha-filled area. *Dent Mater J* 2011; 30: 569-575
227. Wu MK, Fan B, Wesselink PR: Diminished leakage along root canals filled with gutta percha without sealer over time: a laboratory study. *Int Endod J*; 2000; 33: 121-125

228. Xu Q, Fan M, Fan B, Cheung, Gary S P, Hu H: A new quantitative method using glucose for analysis of endodontic leakage. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99:107-111
229. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS: A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod.* 1983; 9: 137-142
230. Yared GM, Bou Dagher FE, Machtou P: Influence of rotational speed, torque and operator's proficiency on ProFile failures. *Int Endod J* 2001; 34: 47-53
231. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M: Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *Int Endod J*; 21: 513-515.
232. Yilmaz Z, Deniz D, Ozcelik B et al.: Sealing efficiency of BeeFill 2in1 and System B/Obtura II versus single-cone and cold lateral compaction techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 51-5
233. Yücel AÇ, Çiftçi A: Effects of different root canal obturation techniques on bacterial penetration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 88–92
234. Yücel AÇ, Güler E, Güler AU, Ertaş E: Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. *J Endod* 2006; 32: 890-893
235. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M: Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2009; 35: 1051-1055

11 Anhang

11.1 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACTA	Academic Center of Dentistry Amsterdam
AL	Arbeitslänge
bar	Bar
Chx	Chlorhexidingluconat
°C	Grad Celcius
Da	Dalton
DGZ	Deutsche Gesellschaft für Zahnerhaltung
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
h	Stunde
ISO	International Organization of Standardization
kGy	Kilo Gray
kHz	Kilo Hertz
kV	Kilo Volt
LCT	Laterale Kompaktionstechnik
MAF	Master Apical Instrument
mA	Mega Ampere
min	Minute
mm	Millimeter
ml	Milliliter
NaOCl	Natriumhypochlorit

NCT	Non-compaction-Technik
NiTi	Nickel-Titan-Legierung
nm	Nanometer
P	Signifikanzwert
PUI	Passive Ultrasonic Irrigation
SCT	Single-cone-Technik
s	Sekunde
ssp	Subspezies
Tab.	Tabelle
TT	Thermafil-Technik
UpM	Umdrehung pro Minute
Ünk	Übernachtskultur
µm	Mikrometer

11.2 Materialien

<i>Stereo-Lichtmikroskop</i>	Zeiss AG, Jena, Deutschland
<i>C-Pilot Feilen</i>	VDW GmbH München, Deutschland
<i>Size 08, 010</i>	
<i>LOT: 0809310591</i>	
<i>Chloramin-T Lösung</i>	Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen
<i>Natriumhypochlorit (5%)</i>	Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen
<i>Zitronensäure (40%)</i>	Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen
<i>Ethanol (70%)</i>	Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen
<i>Papierspitzen</i>	Omnicent GmbH Rodgau, Deutschland
<i>Size 15-40</i>	
<i>LOT: 194998</i>	
<i>Papierspitzen</i>	Omnicent GmbH Rodgau, Deutschland
<i>Size 45-80</i>	
<i>LOT: 195005</i>	
<i>Scaler</i>	Hu-Friedy Leimen, Deutschland
<i>Küretten</i>	Hu-Friedy Leimen, Deutschland
<i>Endo-IT professional</i>	VDW GmbH München, Deutschland

<i>Gates-Bohrer</i>	VDW GmbH München, Deutschland
<i>Grünes Winkelstück</i>	KaVo GmbH Bibrach, Deutschland
<i>Korundtrimmer</i>	
<i>Lichthärtegerät</i>	3M ESPE Neuss, Deutschland
<i>ProFile 04/#45</i>	Dentsply Maillefer
<i>LOT: 3082370</i>	Ballaigues, Schweiz
<i>FlexMaster Basisset</i>	VDW GmbH München, Deutschland
<i>Verifier 04/#45</i>	Dentsply Maillefer
<i>LOT: 3363270</i>	Ballaigues, Schweiz
<i>AH Plus Jet</i>	Dentsply DeTrey GmbH
<i>LOT: 0708000368</i>	Konstanz, Deutschland
<i>Reamer K</i>	VDW GmbH
<i>Size 010-20</i>	München, Deutschland
<i>Schaumstoffpellets</i>	Demedis München, Deutschland
<i>Heidemannspatel</i>	Hu-Friedy Leimen, Deutschland
<i>Kugelstopfer</i>	Hu-Friedy Leimen, Deutschland

<i>Spreader (NiTi)</i>	VDW GmbH
<i>Size B</i>	München, Deutschland
<i>LOT: 3723720</i>	
<i>EZ- Fill bi-directional spiral</i>	EDS
	New Jersey, USA
<i>Bunsenbrenner</i>	Wissenschaftliches Labor der Zahnklinik 1, Universitätsklinikum Erlangen
<i>Aufsätze AH Plus Jet</i>	Dentsply DeTrey GmbH
<i>LOT: 0706000383</i>	Konstanz, Deutschland
<i>Thermafil-Obturatoren</i>	Dentsply Maillefer
<i>Size 04/#45</i>	Ballaigues, Schweiz
<i>LOT: 05300705</i>	
<i>Guttapercha-Stifte .02/#45</i>	Roeko
<i>LOT: 197826</i>	Langenau, Deutschland
<i>Guttapercha-Stifte .04/#45</i>	Roeko
<i>LOT: 223237</i>	Langenau, Deutschland
<i>Guttapercha-Stifte .02/#25</i>	Roeko
<i>LOT: 219637</i>	Langenau, Deutschland
<i>Fotometer</i>	Shimadzu Corporation
	Kyoto, Japan
<i>Autoklave</i>	MM
	München, Deutschland
<i>Zentrifugenröhrchen 15 ml</i>	Sarstedt AG
	Nümbrecht, Deutschland

<i>Falcon Tubes 50 ml</i>	Becton Dickinson and Co. Franklin Lakes, New Jersey, USA
<i>Klebewachs Supradent</i>	Oppermann-Schwedler Bonn, Deutschland
<i>Abdichtharz</i>	Fa. Metaflux Techno Service GmbH Bielefeld, Deutschland
<i>Cyanoacrylat</i>	UHU GmbH & Co KG Bühl, Deutschland
<i>MRS Bouillon</i>	Carl Roth GmbH & Co KG Karlsruhe, Deutschland
<i>Agar-Agar Kobe 1</i>	Carl Roth GmbH & Co KG Karlsruhe, Deutschland
<i>Pipetten</i>	Carl Roth GmbH & Co KG Karlsruhe, Deutschland
<i>Objektträger</i>	Menzel GmbH & CO KG Braunschweig, Deutschland
<i>Lot: 3874779</i>	
<i>Farbstofflösung Fuchsinrot</i>	Wissenschaftliches Labor der Zahnklinik 1, Universitätsklinikum Erlangen
<i>Farbstofflösung Karbolgentianviolett</i>	Wissenschaftliches Labor der Zahnklinik 1, Universitätsklinikum Erlangen
<i>API-CH-Test</i>	Bio Merieux Sa Marcy Etoile, Frankreich
<i>Silikonstopper</i>	Dentsply DeTrey GmbH Konstanz, Deutschland

Thermaprep Plus Oven

Dentsply Maillefer

Ballaigues, Schweiz

SPSS Statistics 22.0

IBM Corp., Armonk, USA

Methylenblau-Lösung 5 %

Wissenschaftliches Labor der Zahnklinik 1,
Universitätsklinikum Erlangen

Zentrifuge

Heraeus GmbH,

Hanau, Deutschland

Brutschrank

Heraeus GmbH

Hanau, Deutschland

11.3 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

11.3.1 Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1: Fließdiagramm zur Übersicht und Abfolge des Versuchsablaufs
- Abb. 2: *FlexMaster* Basis-Set
- Abb. 3: Produktfoto des Sealers *AH Plus Jet*
- Abb. 4: Handelsübliche Guttaperchastifte der Größe .02/#45, .02/#25
- Abb. 5: *Thermafil*- Obturator der Größe .04/#45
- Abb. 6: Finerspreader(NiTi) und Guttaperchstift ISO 25
- Abb. 7: Schemazeichnung links, reale Umsetzung des 2-Kammer-Modells rechts
- Abb. 8: 2-Kammer-Modelle, links mit klarem Nährmedium, rechts mit eingetrübtem Nährmedium in der unteren Kammer
- Abb. 9: Fließdiagramm zum zeitlichen Ablauf der einzelnen Arbeitsschritte, Wiederholung im 5-tägigen Rhythmus innerhalb von 180 Tagen
- Abb. 10: Lichtmikroskopische Aufnahme in der Einstellung „Hellfeld“, blauviolette (grampositive) Stäbchen werden gezeigt
- Abb. 11: Darstellung der beobachteten Bakterienpenetrationszeiten der untersuchten Obturationstechniken im Boxplot-Diagramm
- Abb. 12: Darstellung der Anzahl penetrierter Versuchsproben je Obturationstechnik an ausgewählten Ablesezeitpunkten ab Versuchsbeginn (in Tagen) im Säulendiagramm
- Abb. 13: *API 50 CH* Test-Kit aus *API CH 50* Medium und dem *API 50 CH* Streifen
- Abb. 14: *API 50 CH* Streifen mit Farbumschlag des *API CH 50* Mediums
- Abb. 15: Nähragarplatte mit angewachsenen Bakterienkolonien des Versuchkeimes *Lactobacillus paracasei*

11.3.2 Verzeichnis der Tabellen

- Tabelle 1: Zusammensetzung des Sealers *AH Plus*, unterteilt in Epoxidharzpaste und Aminpaste
- Tabelle 2: Signifikanzwerte (p-Werte) der Obturationstechniken, Prüfung der Normalverteilung mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests (signifikante Ergebnisse für $p < 0,05$ mit * markiert)
- Tabelle 3: Signifikanzwerte (p-Werte) der Obturationstechniken im Paarvergleich, Prüfung der Unterschiedlichkeit der Bakterienpenetrationsdauer mithilfe des Mann-Whitney-Tests (signifikante Unterschiede für $p < 0,05$ mit * markiert)
- Tabelle 4: Statistische Parameter je Versuchsgruppe auf Basis explorativer Datenanalyse

12 Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Professor Dr. Frankenberger für die freundliche Überlassung des Themas meiner Dissertation bedanken.

Auch möchte ich Herrn Professor Dr. Petschelt danken für die Möglichkeit, alle praktischen Arbeiten im Rahmen meiner Dissertation in den Räumlichkeiten der Zahnklinik 1 Erlangen- Nürnberg durchzuführen, gleichermaßen für die Bereitstellung der dafür benötigten Geräte und Materialien.

Besonderer Dank gilt OA Dr. Matthias Roggendorf, der mir sowohl bei der experimentellen als auch bei der theoretischen Durchführung meiner Arbeit stets konstruktiv zur Seite stand. Seine zuverlässige und engagierte Betreuung war für mich eine maßgebliche Motivation diese Arbeit zu vollenden.

Weiterhin möchte ich OA Dr. Ebert und den Mitarbeitern des klinischen Labors der Zahnklinik 1 Erlangen-Nürnberg danken, insbesondere auch Dr. Andrea Wagner für die Unterstützung des mikrobiologischen Teils dieser Arbeit.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und meinen Freunden für ihren Zuspruch und ihr Verständnis danken, insbesondere Tim.

13 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Erlangen waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

Becker, Beuscher, Eichhorn, Frank, Frankenberger, Gasteiger, Göhl, Hartmann, Hirschfelder, Hornung, Korbmacher, Morgenstern, Neuhuber, Neukam, Parsch, Pelka, Petschelt, Schlegel, Schmieder, Schneider, Simon, Wichmann, Wittern-Sterzel, Zolk