



## Zusammenfassung der mit dem Hochschulpreis „Endodontologie“ 2009 ausgezeichneten Arbeit von Karin Christine Huth



**Karin Christine Huth**  
Priv.-Doz. Dr. med. dent.  
Poliklinik für Zahnerhaltung,  
Parodontologie und Kinder-  
zahnheilkunde  
Universität München  
Goethestraße 70  
80336 München  
E-Mail: khuth@dent.med.  
uni-muenchen.de

Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, AlKhayer M, Paschos E, Welsch U, Miethke T, Brand K, Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. Int J Endod 2009;42:3-13.

### ■ Einleitung

Ozon wird aufgrund seiner antimikrobiellen Eigenschaften in jüngster Zeit als mögliches alternatives antiseptisches Agens in der Zahnheilkunde diskutiert<sup>1,2</sup>. Auch wird Ozongas in einer Konzentration von ~ 4 g/m<sup>3</sup> bereits klinisch zur Desinfektion im Wurzelkanal verwendet (HealOzone, KaVo, Biberach). Jedoch fielen die bisherigen Ergebnisse zur antimikrobiellen Wirkung gegen endodontische Problemkeime uneinheitlich aus, und es fehlen konkrete Angaben über die optimale Konzentration und Einwirkzeit<sup>3-6</sup>.

Das Ziel der Untersuchung war es daher, die antimikrobielle Wirksamkeit von Ozongas und ozoniertem Wasser gegen spezifische endodontische Problemkeime in Flüssigkultur sowie assoziiert in Biofilmen in einem humanen Wurzelkanalmodell im Vergleich zu etablierten Spüllösungen zu untersuchen. Besonderer Wert wurde auf die Evaluation derjenigen Konzentrations- und Zeitparameter gelegt, die zur vollständigen Keimeliminierung führten, um konkrete Anwendungsvorschläge ableiten zu können.

### ■ Material und Methode

Bei den verwendeten Mikroorganismen handelte es sich um *Enterococcus faecalis* (ATCC 14506, LGC Promochem, Wesel, Deutschland), *Candida albicans* (ATCC MYA-273), *Peptostreptococcus micros* (ATCC 33270) und *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442).

Ozongas wurde in Konzentrationen von 1 bis 53 g/m<sup>3</sup> sowie ozoniertes bidestilliertes Wasser in Konzentrationen von 1,25 bis 20 µg/ml verwendet (Ozonosan photonic, Dr. Hänslers, Iffezheim). Als etablierte Vergleichsagenzien kamen Natriumhypochlorit (NaOCl 5,25 %, 2,25 %), Chlorhexidindigluconat (CHX 2 %), Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %) und phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) als Negativkontrolle zum Einsatz.

Für die Flüssigkulturexperimente wurden Übernachtskulturen der jeweiligen Mikroorganismen in PBS suspendiert, mit dem jeweiligen Testagens für eine Minute lang in Kontakt gebracht, sodann auf Agarplatten ausplattiert und inkubiert. Für den obligat anaeroben *Peptostreptococcus micros* wurden alle Arbeitsschritte in einer anaeroben Werkbank durchgeführt. Für die Exposition mit Ozongas wurde die jeweilige Mikroorganismensuspension auf Agarplatten ausplattiert und in einer Gasbox für eine Minute lang begast. Als Negativkontrolle diente hier die Umgebungsluftexposition. Nach der Inkubation wurden die koloniebildenden Einheiten (KBE) aller Agarplatten ausgezählt und jeweils in Prozent der Negativkontrolle umgerechnet.

Für die Biofilmexperimente wurden die Kronen frisch extrahierter bleibender einwurzeliger Zähne entfernt und die Wurzelkanäle bis zu einer Größe von ISO 40 mit intermittierenden Spülungen mit NaOCl (5,25 %) aufbereitet. Abschließend erfolgten Spülungen mit EDTA und Kochsalzlösung, die Trocknung der Kanäle sowie ihre Sterilisation<sup>7</sup>. Zur Anzucht der Monospezies-Biofilme in den Wurzelkanälen wurde autoklavierter künstlicher Spei-

Abb. 1a und b Horizontale Schnittflächen von Wurzelscheiben.

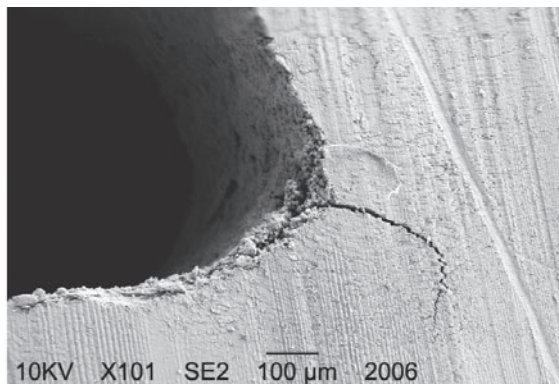


Abb. 1a An der Wurzelkanalinnenwand befindet sich ein *E.-faecalis*-Biofilm (xxfache und xxfache Vergrößerung).

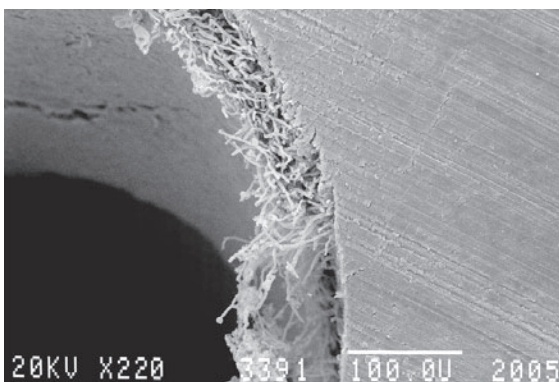
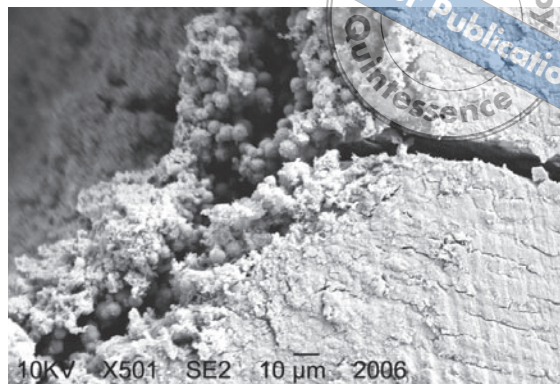
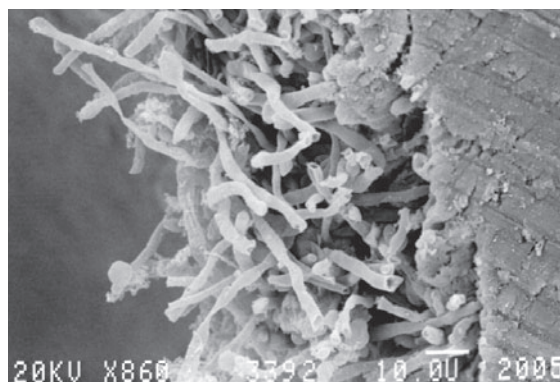


Abb. 1b An der Wurzelkanalinnenwand befindet sich ein *C.-albicans*-Biofilm (xxfache und xxfache Vergrößerung).



chel<sup>8</sup> – dreimal täglich versetzt mit Glukoselösung<sup>9</sup> und täglich versetzt mit Übernachtskulturen der jeweiligen Mikroorganismen – für drei Wochen mit Hilfe einer peristaltischen Pumpe durch die Wurzelkanäle geleitet. Statt des anaeroben *Peptostreptococcus micros* wurde hier der aerobe *Pseudomonas aeruginosa* verwendet, da der Pumpenaufbau nicht in die anaerobe Werkbank integriert werden konnte. Sodann wurden die Wurzeln in 5 mm dicke horizontale Scheiben geschnitten. Jede Scheibe wurde für eine Minute mit einem der Testagenzien zusammengebracht, das Agens wieder entfernt und die Scheibe mit PBS gevortext. Nach geeigneter Verdünnung wurde die Suspension ausplattiert, inkubiert und ausgezählt. Für die Ozongas-Experimente wurden die Scheiben in Setting 1 liegend auf Glasplatten begast, wobei das Gas über die Scheiben hinwegströmte, was schwer zugängliche Kanalabschnitte nachahmen sollte. In Setting 2 wurden die Scheibchen in der Gasbox aufgestellt, wodurch das Gas durch die Kanäle hindurchströmen konnte; dies sollte leicht zugängliche Kanalabschnitte symboli-

sieren. Zusätzlich wurde in Setting 2 Ozongas in einem Zeitverlaufsexperiment für eine, zweieinhalb, fünf und zehn Minuten appliziert. Mit den Scheiben wurde wie bei den übrigen Experimenten verfahren.

Es wurden je drei bis vier unabhängige Versuche durchgeführt. Die Unterschiede der antimikrobiellen Wirksamkeit der verschiedenen Agenzien wurden mit einer univariaten Varianzanalyse (ANOVA, zweiseitiger Tamhane-Post-Hoc-Test,  $\alpha$ -Level 0,05) mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS analysiert (SPSS Software 15, Chicago, IL, USA).

## ■ Ergebnisse

In den Flüssigkulturexperimenten konnte ozoniertes Wasser ab einer Konzentration von 5 µg/ml *E. faecalis* und *C. albicans* vollständig eliminieren und *P. micros* bereits ab 2,5 g/ml. NaOCl und CHX führten ebenso zu einer kompletten Keimeliminierung, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jedoch nicht. Ozongas eliminierte auch in der geringsten angewandten Konzentration von 1 g/



m<sup>3</sup> die Keime zu 99 %. Statistisch ergab sich gegen *E. faecalis* kein Unterschied in der Wirksamkeit der verschiedenen Agenzien. Gegen *C. albicans* waren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und ozoniertes Wasser in 1,25 und 2,5 µg/ml Konzentration den übrigen Agenzien signifikant unterlegen. Gegen *P. micros* war lediglich ozoniertes Wasser in der geringsten Konzentration signifikant weniger effektiv.

Für die Biofilmexperimente konnte zunächst mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops an der Kanalinnenwand der Wurzelscheiben für jeden Keim das Vorhandensein eines Biofilms nachgewiesen werden. Abbildung 1 zeigt exemplarisch die horizontale Schnittfläche solcher Wurzelscheiben, einmal mit einem *E.-faecalis*-Biofilm (Abb. 1a) an der Kanalinnenwand und einmal mit einem *C.-albicans*-Biofilm (Abb. 1b).

Ozoniertes Wasser zeigte eine dosisabhängige Wirksamkeit gegen die getesteten Keime und konnte – ebenso wie CHX – in der höchsten eingesetzten Konzentration von 20 µg/ml die Keime im Mittel zu 96 % eliminieren. NaOCl eliminierte die Keime hingegen vollständig. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> war deutlich weniger wirksam. In Setting 1 zeigte Ozongas in den zwei

höchsten Konzentrationen gegen *P. aeruginosa* und in der höchsten Konzentration gegen *E. faecalis* und *C. albicans* eine nahezu vollständige Keimelimination. Statistisch ergaben sich zwischen den Agenzien jedoch keine Unterschiede in der Wirksamkeit gegen *E. faecalis* und *C. albicans*. Gegen *P. aeruginosa* war 4 g/m<sup>3</sup> Ozongas signifikant weniger wirksam als NaOCl, CHX und ozoniertes Wasser ab 10 µg/ml. In Setting 2 dagegen zeigte sich, dass die exemplarisch eingesetzte hohe Ozongaskonzentration (32 g/m<sup>3</sup>) bereits nach einer Minute alle Biofilmkeime eliminierte, die exemplarisch geringere Dosis (4 g/m<sup>3</sup>) jedoch erst nach einer Kontaktzeit von zweieinhalb Minuten.

## ■ Schlussfolgerung

Hochkonzentriertes Ozongas und ozoniertes Wasser waren gegen die getesteten Mikroorganismen in Flüssigkultur und im Biofilmmodell wirksam. Es zeigte sich eine konzentrations-, keim- und kontaktzeitabhängige Wirksamkeit.

## ■ Literatur

1. Restaino L, Frampton EW, Hemphill JB, Palnikar P. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:3471-3475.
2. Paraskeva P, Graham NJD. Ozonation of municipal waste water effluents. *Water Environ Res* 2002;74:569-581.
3. Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, Kakonoki Y, Nishihara T. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:206-210.
4. Bezrukova IV, Petrukhina NB, Voinov PA. Experience in medical ozone use for root canal treatment. *Stomatologija* 2005;84:20-22.
5. Hems RS, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt DA. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2005;38:22-29.
6. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod* 2004;30:778-781.
7. Zehnder M, Lehnert B, Schönenberger K, Waltimo T. Irrigating solutions and intracanal medicaments in endodontics (in German). *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2003;113:756-763.
8. Pratten J, Wills K, Barnett P, Wilson M. In vitro studies of the effect of antiseptic-containing mouthwashes on the formation and viability of *Streptococcus sanguis* biofilms. *J Appl Microbiol* 1998;84:1149-1155.
9. Wilson M, Haziq P, Noar JH. Effect of chlorhexidine on multi-species biofilms. *Curr Microbiol* 1998;36:13-18.



## „Warum ich mich für TV-Wartezimmer entschieden habe?“



- freie Auswahl aus über 400 industriefreien Filmen zu meinen Selbstzahlerleistungen, Wunschthemen werden jederzeit auf Anfrage produziert.
- kostenlose, professionelle Darstellung meiner Praxis inklusive aller Aktualisierungen.
- Top-Partner: Philips, Panasonic, IBM, n-tv, Deutscher Sportbund, Discovery Channel, Deutsches Grünes Kreuz.
- risikofrei durch die 100% Zufriedenheitsgarantie mit monatlichem Kündigungsrecht – ohne weitere Kosten!

TV-Wartezimmer ist der Marktführer – das muss Gründe haben!

