



Keimreduzierende Wirkung des Nd:YAG-Lasers im Wurzelkanalwanddentin

Norbert Gutknecht, Andreas Moritz, Georg Conrads, Thomas Sievert und Friedrich Lampert

Schlüsselwörter

Endodontie, Nd:YAG-Laser, Bakterizide Effekte

Zusammenfassung

Die vorliegende Studie untersucht die bakteriziden Effekte eines gepulsten Nd:YAG-Lasers an 40 klassisch präparierten *In-vitro*-Wurzelkanälen unter standardisierten Bedingungen. Um technische Fehler auszuschließen, wurde vor und nach der Behandlung die Ausgangsleistung des Gerätes inklusive der Quarzfaser gemessen. Für die Frontzähne wurde eine 300 µm Faser verwendet, für Prämolaren und Molaren eine 200 µm Faser. Die *Enterococcus faecalis*-Bakterien als gram-positive Kokken zeigen eine Wärmetoleranz im oberen Bereich der Bakterien, wie sie in der Endodontologie gefunden werden. Die Konzentration entspricht ebenfalls *In-vivo*-Bedingungen. Die Ergebnisse sind angeführt in „log kills“, in Übereinstimmung mit der Arbeit von Rooney et al¹⁸. Im Durchschnitt konnten 99,91 % der *Enterococcus faecalis*-Bakterien, die in den *in vitro* aufbereiteten Wurzelkanal injiziert wurden, abgetötet werden. (97,12 % minimum, 99,9997 % maximum). Dieser Aufbau lässt darauf schließen, dass der bakterizide Effekt der Lasertherapie, wie er hier vorgestellt wird, ebenso *in vivo* in klinischen Fällen erreicht werden kann.

Einleitung

Laser werden in der Zahnheilkunde seit mehr als 30 Jahren eingesetzt¹⁻⁵. Dabei haben sich immer neue Anwendungsmöglichkeiten und Zielsetzungen ergeben⁶⁻¹³.

Unter anderem wurde von vielen Autoren die zukunftsweisende Methode der Laser-Endodontie beschrieben¹⁴⁻¹⁷, einerseits als ergänzendes Verfahren, andererseits rein lasergestützt. Nachweislicher Vorteil dieser Technik ist die Kanalversiegelung und damit der fast vollständige Verschluss der Dentintubulin¹⁶. In der Literatur wird weiterhin über einen sterilisierenden oder bakteriziden Effekt des Lasers im Rahmen der Endodontie berichtet. Dieser wurde bislang jedoch nur in *In-vitro*-Modellen nachgewiesen, welche die *In-vivo*-Verhältnisse nur unzureichend repräsentieren^{18,19}.

Daher sollte in unserer Arbeit ein möglichst realitätsnaher Versuchsaufbau entwickelt und getestet werden, um quantitativ die bakterizide Wirkung eines Lasers bei der Anwendung im Wurzelkanal bestimmen zu können.

Material und Methoden

Zur Anwendung kam ein gepulster Nd:YAG-Laser mit einer Pulsdauer von 100 µs, 10 W Maximalleistung, sowie Quarzfaser-Aufsätzen von 200 µm und 300 µm.

Die Untersuchungen wurden an 40 Wurzelkanälen von extrahierten Zähnen (20 Frontzähne, 20 Seitenzähne) durchgeführt, die nach Extraktion direkt in 0,9%iger NaCl-Lösung eingelegt wurden. Nach Freilegung der Kanäleingänge wurden die Kanäle der Seitenzähne getrennt.



Die einzelnen Wurzelkanäle wurden klassisch aufbereitet, wobei die Frontzähne aus ISO 60, die Seitenzähne auf ISO 40 aufbereitet wurden.

Je 10 Front- und Seitenkanäle wurden nach einer Zufallsverteilung der Kontrollgruppe zugeordnet, die übrigen 20 Front- bzw. Seitenkanäle bildeten die eigentliche Untersuchungsgruppe.

Vor Beginn des Versuches wurden alle Zähne im Autoklaven sterilisiert und die Kanäle mit Druckluft und sterilen Papierspitzen getrocknet. Dann wurde jeder Kanal mit 10 µl einer Bakteriensuspension mittels einer Mikroliter-spritze beimpft (Fig. 1). Es wurde eine Suspension von *Enterococcus faecalis* (ATCC 292/2) verwendet. Die genaue Keimzahlbestimmung dieser Inokulationssuspension erfolgte durch das Anlegen von Verdünnungsreihen, Ausplattieren auf Schafblutagarplatten und Auszählen der gewachsenen Kolonien.

Die Kanäle der Untersuchungsgruppe wurden nun mit dem Nd:YAG-Laser mit der Standardeinstellung 16 von 15 Hz, 100 mJ, 1,5 W viermal je 10 s in langsam kreisenden Bewegungen von apikal nach koronal bestrahlt, entsprechend einer Gesamtleistung von 60 mJ. Dabei erfolgte vor und nach jeder Bestrahlung eine Messung der Leistung der Geräteeinheit inklusive Quarzfaser, um eventuelle technische Defekte auszuschließen. Bei den Frontzähnen kam die 300 µm Faser zur Anwendung, bei den Seitenzähnen die 200 µm Faser.

Die Zähne der Kontrollgruppe wurden nicht mit dem Laser behandelt.

Bei allen Zähnen der Untersuchungsgruppe und der Kontrollgruppe wurde der Kanal mit 1 ml einer 0,9%igen NaCl-Lösung gespült und das Eluat in einem Reagenzglas aufgefangen. Von jedem Eluat wurde anschließend eine Verdünnungsreihe mit 0,9%iger NaCl angelegt. Von jeder Verdünnung wurden je 100 µl auf einer Blutagarplatte ausplattiert. Die Agarplatten wurden für 24 h bei 37 °C inkubiert.

Nach Inkubation wurde die Anzahl der *Enterococcus faecalis*-typischen Bakterienkolonien auf den einzelnen Agarplatten bestimmt und die Bakterienkonzentration für das Eluat durch Korrelation der Kolonienzahl zur entsprechenden Verdünnung eines jeden Kanals errechnet.

Um Einflüsse seitens der Bakterienlösung zu testen, wurden zwei verschiedene Ansätze (I und II) verwendet. Die Bakterienkonzentration in der Ausgangslösung vor Einbringen in einen Kanal wurde jeweils entsprechend den Verdünnungsreihen zur Bakterienzahlbestimmung in den Eluaten bestimmt. So sollte eine Referenz für die Bakterienverluste durch die Methodik der Beimpfung und Ausspülung geschaffen werden. Jeweils die Hälfte der Kanäle der Untersuchungsgruppe und der Kontrollgruppe wurden mit der Ausgangslösung beimpft.

Die Ergebnisse wurden entsprechend der Arbeit von Rooney et al.¹⁸ in „log kills“ angegeben. Diese entstehen entsprechend folgender Formel:

Log kill: $\log(a/b)$

Mit:

- a = Bakterienkonzentration in der eingegebenen Ausgangslösung
- b = Bakterienkonzentration im Eluat von Kontroll- bzw. Untersuchungsgruppe

log = dekadischer Logarithmus

So wurde für die Kontroll- und Untersuchungsgruppe jeweils ein mittlerer log kill errechnet sowie ein Bereich mit minimalem und maximalem log kill. Durch Subtraktion des mittleren log kills der Kontrollgruppe von mittleren log kill der Untersuchungsgruppe errechnet sich der mittlere effektive log kill durch den Prozess der Laserbestrahlung (log kill laser).

logkilllaser = log kill (Untersuchungsgruppe) – log kill (Kontrollgruppe)

Ergebnisse

Die exakte Ausgangsbakterienkonzentration wurde in der Suspension I mit $1,43 \times 10^{10}$ Bakterien/ml bestimmt. In Suspension II betrug die Konzentration $1,63 \times 10^{10}$ Bakterien (Tabellen 1–3).

Bezogen hierauf fanden sich in der Kontrollgruppe log kills zwischen –0,16 und 0,41 mit einem Mittelwert von 0,15.

In der Untersuchungsgruppe fand sich durchschnittlich ein log kill von 3,22. Die log kills streuten hier zwischen 1,95 und 5,3 (Fig. 2).

Der korrigierte log kill für die Laserbestrahlung (log kill Laser) errechnet sich zu 3,07 (mittlere Konzentration in Untersuchungs- und Kontrollgruppe), entsprechend einer mittleren Bakterienabnahme von 99,91 % durch die Laserbestrahlung (Fig. 3). Der niedrigste zu errechnende log kill betrug 1,54 (maximale Konzentration in der Untersuchungsgruppe, minimale Konzentration in der Kontrollgruppe) maximal wurde ein log kill von 5,46 erreicht, es wurden also zwischen 97,12 % und 99,9997 % der Bakterien durch die Laserbestrahlung abgetötet.



Tabelle 1: Messwerte der Kontrollgruppe

Zahn-Nr.	Bakterien-inokulum x 10 ⁸	Bakterien im Eluat x 10 ⁷	
	(a)	(b)	log (a/b)
F1	1,43	9,01	0,20
F2	1,43	7,84	0,26
F3	1,43	7,75	0,27
F4	1,43	10,72	0,13
F5	1,43	13,96	0,01
F6	1,63	8,56	0,28
F7	1,63	8,29	0,29
F8	1,63	7,84	0,32
F9	1,63	23,42	-0,16
F10	1,63	9,64	0,23
S1	1,43	9,55	0,18
S2	1,43	15,41	-0,03
S3	1,43	20,18	-0,15
S4	1,43	13,42	0,03
S5	1,43	12,61	0,05
S6	1,63	6,40	0,41
S7	1,63	9,19	0,25
S8	1,63	11,80	0,14
S9	1,63	7,57	0,33
S10	1,63	20,54	-0,10
			x = 0,15
			Streuung = -0,16 bis 0,41

Tabelle 2: Messwerte der Untersuchungsgruppe

Zahn-Nr.	Bakterien-inokulum x 10 ⁸	Bakterien im Eluat x 10 ⁷	
	(a)	(b)	log (a/b)
F11	1,43	2,77	2,71
F12	1,43	2,97	2,68
F13	1,43	1,06	3,13
F14	1,43	8,47	2,23
F15	1,43	16,22	1,95
F16	1,63	1,19	3,14
F17	1,63	5,11	2,50
F18	1,63	0,37	3,64
F19	1,63	3,32	2,69
F20	1,63	0,07	4,37
S11	1,43	0,10	4,16
S12	1,43	0,84	3,32
S13	1,43	0,10	4,16
S14	1,43	3,90	2,56
S15	1,43	5,41	2,42
S16	1,63	0,04	4,67
S17	1,63	1,39	3,07
S18	1,63	0,01	5,30
S19	1,63	14,42	2,05
S20	1,63	0,24	3,83
			x = 3,22
			Streuung = 1,95 bis 5,30



Abb. 1 und 2 Beimpfung der Wurzelkanäle und nach der Behandlung Ausstrich des Eluats auf die Blutagarplatte.

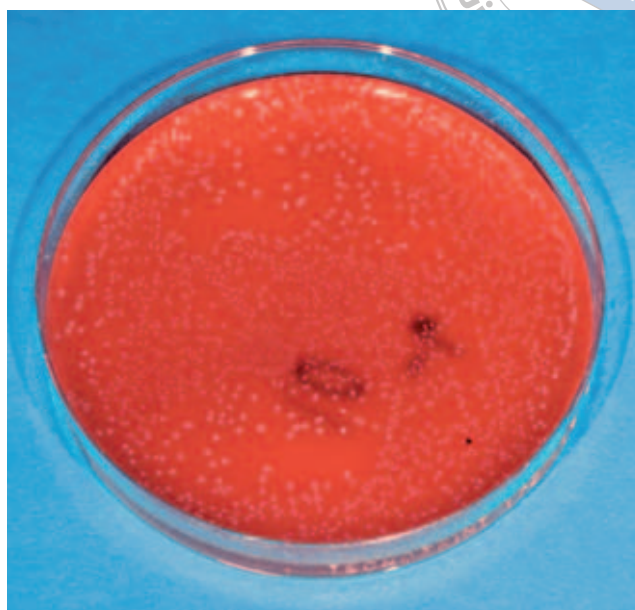
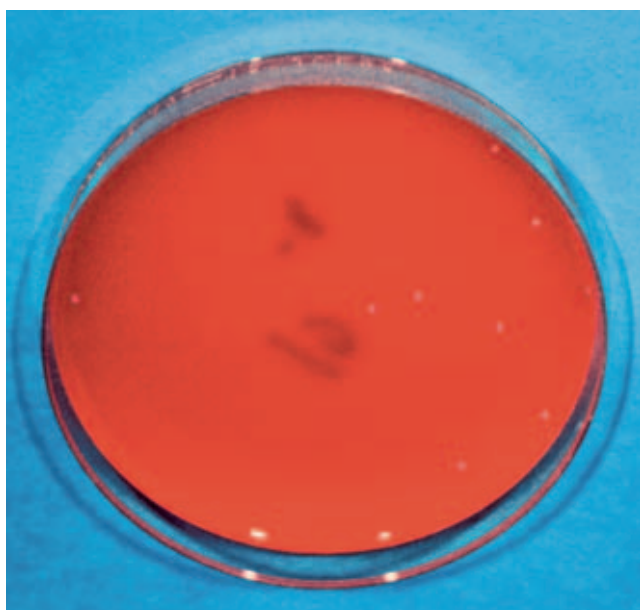


Abb. 3 und 4 Blutagarplatten nach dem Bebrüten - links die Laserbehandelte Gruppe (praktisch keine Keime sichtbar) rechts die Kontrollgruppe mit einem deutlich sichtbaren Bakterienrasen.



Abb. 5 und 6 Messung der Schichtdicke der Dentinscheiben li. Laserbestrahlung von beimpften Dentinscheiben.



Diskussion

Die in der vorliegenden Arbeit erreichten Ergebnisse für die Bakterienabtötung mittels Nd:YAG-Laser wurden unter Standardeinstellung (15 Hz, 100 mJ, 1,5 W, vier mal 10 s)¹⁶ des Lasers für die praktische Arbeit am Patienten erreicht. Bei entsprechender Einstellung des Lasers erreichten Roones et al.¹⁸ im Schnitt einen um eine 10er Potenz hö-

heren bakteriziden Effekt. Dabei ist zu berücksichtigen, dass jene Autoren einen der In-vivo-Situation durchaus nicht entsprechenden Versuchsaufbau gewählt hatten. So wurden Glaskapillaren mit 1,13 nm Durchmesser statt aufbereiteter Wurzelkanäle von extrahierten Zähnen verwendet. Daher entfiel einerseits der Einfluss der Wechselwirkungen zwischen Laserenergie und dem Kanalwand-

dentin¹⁶, andererseits fehlten die im realen Wurzelkanal vorhandenen Seitenkanäle (und Dentintubulin), welche den Bakterien – insbesondere *in vivo* – als Refugium dienen können. Die eingegebene *Enterococcus faecalis*-Bakterienlösung enthielt je 105 Bakterien in 12 µl, während in unserem Versuchsaufbau etwa 108 Bakterien in 10 µl eingegeben wurden, was nach Literaturangaben²⁰ der oberen Grenze der *In-vivo*-Konzentration unter infizierten Bedingungen entspricht.

Im Vergleich zu den Ergebnissen von Hardee et al.¹⁹, welche 99 % der eingegebenen *Bacillus stearothermophilus* Sporen eliminieren konnten, liegt die in der vorliegenden Arbeit gefundene bakterizide Wirkung höher (durchschnittlich 99,92 %), obwohl Hardee et al. eine deutlich höhere Energie einstrahlte. Zu berücksichtigen ist dabei die gegenüber dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten *Enterococcus faecalis* nochmals größere Hitzeresistenz der Sporen.

Im Vergleich zu konservativen Verfahren wie dem Ausspülen des Kanals mit NaOCl-Lösung, wofür in der Literatur bakterizide Wirkung von 50 % angegeben werden²¹, war die durchschnittliche Wirkung in der vorliegenden Arbeit deutlich besser. Ein deutlicher Vorteil der Lasertherapie des Wurzelkanals liegt in der Eliminierung sämtlicher negativer Nebenwirkungen, die bei konventionellen medikamentösen Einlagen und Kanalspülungen immer mit der antibakteriellen Wirkung verknüpft sind (Zytotoxizität, apikale Entzündungen, usw.)²². Es werden positive Nebenwirkungen wie Gewebestimulation (damit bessere Ausheilung von parodontalen Taschen) und bakterizide Wirkung auch auf umliegende Gewebe des Wurzelkanals beschrieben, was bei periapikalen Prozessen von entscheidender Bedeutung ist.

Zusammenfassend wird durch den in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Versuchsaufbau also eine größtmögliche Annäherung an die *In-vivo*-Situation geschaffen. Die Wurzelkanäle wurden wie *in vivo* präpariert, die gewählte Lasereinstellung entsprach den Werten des klinischen Alltags, die *Enterococcus faecalis*-Bakterien als grampositive Kokken weisen eine Wärmetoleranz im oberen Bereich der in der Endodontie vorkommenden Keime auf, auch die Konzentration spiegelt die *In-vivo*-Verhältnisse wieder. Dieser Aufbau lässt erwarten, dass der bakterizide Effekt der Lasertherapie im vorgestellten Rahmen auch *in vivo* im klinischen Einsatz erzielt werden kann.

Der Vorteil des *In-vitro*-Tests ist dabei die Möglichkeit der Implementierung von Kontrollen während der einzelnen Arbeitsschritte und einer Standardisierung des Aufbaus, um eine gute Reproduzierbarkeit zu schaffen, auch im Hinblick auf den Vergleich mit entsprechenden Versuchen unter Zuhilfenahme anderer Verfahren.

Tabelle 3: Effektive log kills durch Laserbestrahlung.

	log kill (Kontroll- gruppe)	log kill (Untersuchungs- gruppe)	log kill _{Laser}
-x	-0,15	-3,22	3,07 (99,91%)
minimal	max = 0,41	min = 1,95	1,54 (97,12%)
maximal	max = -0,16	max = 5,30	5,46 (99,9997%)

Literatur

1. Stern R H and Sognaes RF. Laser beam effect on dental hard tissues. J. Dent. Res. (Abstract 307) 1964;43:873.
2. Stern R H and Sognaes RF. Laser effect on dental hard tissues. J.S. Cal. Dent. Assoc. 1965;33:17.
3. Goldman I, Gray J, Goldman B and Meyer R. Effects of laser beam impacts on teeth. J. Am. Dent. Assoc. 1965;70:601.
4. Gordon TE. Laser interaction with extracted human teeth, a preliminary report. Dent. Digest 1966;72:154–158.
5. Gordon TE. Some effects of laser on extracted teeth. J. Dent. Res 1966;45:372–375.
6. Stern RH and Sognaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. J. Am. Dent. Assoc. 1972;85:1087–1090.
7. Mester E, Gynes C, Tota JG. Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Laserstrahlen auf die Wundheilung. Z. Exp.Chir. 1969;2:94–101.
8. Melcer J, Chaumette MT, Melcer F et al. Treatment of dental decay by CO₂ Laserbeam: Preliminary results. Lasers Surg. Med. 1984;4:311–321.
9. Melcer J. Latest treatment in dentistry by means of the CO₂ laser beam. Lasers Surg. Med. 1986;6:396–398.
10. Myers TD, Myers WD. The use of a laser debridement of incipient caries. J. Prosthet. Dent. 1985;53:776–779.
11. Myers TD, Myers WD. In vivo caries removal utilising the YAG Laser. Mitch. Dent. Assoc. J. 1985;67:66–69.
12. Renton-Harper P. Nd:YAG treatment of dentinal hypersensitivity. Proc. Second Congr. Int. Soc. Lasers Dentistry 1990:92.
13. Midda M. Nd:YAG subgingival curettage. Proc. Second Congr. Int. Soc. Lasers Dentistry 1990:105.
14. Dederich D N, Zakariasen K L, Tulip J. Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following neodymium-aluminium-garnet laser irradiation. J. Endodont. 1984;10:428–431.
15. Dederich DN, Zakariasen KL, Tulip J. Effects of continuous wave CO₂ laser on canal-wall dentin. J. Dent. Res. 1986;(Abstr. 755):65.
16. Gutknecht N., Behrens V.G. (1991). Die Bearbeitung der Wurzelkanalwände mit dem Nd:YAG-Laser. ZWR99, 748–752.
17. Behrens V.G., Gutknecht N. Renziehausen, R., Lampert, F. (1993). Die Transmission und Absorption der Temperatur und Energie des Nd:YAG-Lasers in Dentistry. ZWR 103. 629–634.
18. Rooney J. Midda M., and Leeming J. (1994). A laboratory investigation of the bactericidal effect of an Nd:YAG laser. Br. Dent. J. 176, 61–64.
19. Hardee M., Miserendino L., Kos W. (1994). Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation. J. Endodont. 20, 377–380.
20. Sundquist G., Johansson E., and Sjögren U. (1989). Prevalence of black-pigmented Bacteroides species in root canal infections. J. Endodont. 15, 13–19.
21. Vahdaty A., Pitt Ford T.R., Wilson R.F. (1993). Efficiency of chlorhexidine in disinfecting dentin tubules in vivo. Endodont. Dent. Traumatol. 9; 243–248.
22. Chong B. S., and Pitt Ford T. R. (1993). Die Bedeutung medikamentöser Wurzelkanaleinlagen. Endodontie2, 255–268.

**Autoren:**

N. Gutknecht, D.D.S.¹, A. Moritz, D.D.S.², G. Conrads¹,
T. Sievert¹ und F. Lampert, D.D.S.¹

¹ Universitätsklinikum Aachen, Klinik für Zahnerhaltung,
Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,
Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen

² Universität Wien, Österreich, Klinik für konservative
Zahnheilkunde

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Norbert Gutknecht
Universitätsklinikum Aachen
Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive
Zahnheilkunde
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen

Bactericidal Effect of the Nd:YAG laser in in Vitro Root Canals

Key words: Endodontics, Nd:YAG laser, bactericidal Effect

Summary

The current study investigates the bactericidal effect of a pulsed Nd:YAG laser on 40, classically prepared, in vitro root canals under standardized conditions. The output of the device including, quartz fiber was measured before and after every treatment to exclude any technical faults. A 300 µm fiber was used for the anterior teeth and a 200 µm fiber for the posterior teeth. The *Enterococcus faecalis* bacteria, as gram-positive cocci, display a heat tolerance in the upper range of the bacilli that can be found in the endodontology and the concentration also reflects the in vivo conditions. The results are quoted in "log kills" in accordance with the work of Rooney et al.¹⁸ On average, 99,91 % of the *Enterococcus faecalis* bacteria injected into the root canals prepared in vitro could be eliminated (97.12 % minimum, 99.9997 % maximum). This setup suggests that the bactericidal effect of laser therapy in the framework presented here can also be achieved in vivo in clinical cases.