

Die Desinfektionswirkung von ozonierten Wurzelkanalspüllösungen

Antibakterielle Wirkung von Ozon

Von Liviu Steier, Fabio Rimoldi und Rudolf Beer, Witten*

Thema der folgenden Abhandlung ist die Evaluation der antibakteriellen Wirkung von Ozon bzw. ozonierten Desinfektionslösungen im Vergleich zu bewährten Desinfektionslösungen auf *E. faecalis* Biofilme.

Schlagnworte:
E. faecalis,
Endodontie,
Kanaldesinfektion,
Healozone,
Ozon,
Parodontitis apicalis

E. faecalis Biofilme auf Zellosemembranfiltern wurden mit NaCl, NaOCl 5,25 Prozent, NaOCl 0,5 Prozent, drei mal 40 Sekunden ozoniertem NaOCl 0,5 Prozent und drei mal 40 Sekunden ozoniertem Aqua dest. jeweils 30 Sekunden gespült und anschließend, um desinfizierende Nachwirkungen abzupuffern, in NaCl gegeben. Die behandelten Membranfilter wurden anschließend getrocknet und auf Blutagarplatten platziert. Nach Ablauf von 48 Stunden Inkubation erfolgte die Auszählung der koloniebildenden Einheiten.

Bei der Behandlung der Biofilme auf den Membranfiltern mit der positiven Kontrollgruppe war eine signifikante Bakterienreduktion zu verzeichnen. Die Behandlung mit NaOCl 0,5 Prozent konnte ebenso eine Reduktion hervorrufen, die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent konnte eine weitere Reduktion der Bakterien herbeiführen. Bei der Ozonierung von Aqua dest. konnte keine antibakterielle Wirkung protokolliert werden. Die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent konnte eine Verbesserung der antibakteriellen Wirkung von NaOCl 0,5 Prozent gegenüber der alleinigen Anwendung, hervorrufen. Die Desinfektionswirkung von NaOCl 5,25 Prozent konnte nicht erreicht werden. Die Ozonierung von Aqua dest. hatte kei-

ne nachweisbare antibakterielle Wirkung.

Einleitung

Die Therapie der Parodontitis apicalis setzt die vollständige Elimination der intrakanalären Bakterien durch mechanische und chemische Behandlungsschritte voraus. Eines der Hauptziele der chemomechanischen Aufbereitung von Wurzelkanälen ist somit die möglichst vollständige Elimination der für die Entwicklung von periapikalen Erkrankungen verantwortlichen intrakanalären Bakterien [69, 36, 48, 22]. Sollte eine vollständige Reinigung und Aufbereitung nicht möglich sein, können überlebende Bakterien und Reste von Pulpengewebe das Ergebnis einer endodontischen Wurzelkanalbehandlung beeinträchtigen. Die mechanische Instrumentation kann lediglich eine Reduktion der intrakanalären Bakterien um zirka 50 Prozent bewerkstelligen [9]. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch die mechanische Arbeit der Feilen nur ein begrenzter Anteil der Wurzelkanaloberfläche abgehobelt und somit abgetragen und anschließend aus dem Wurzelkanal abtransportiert wird [41]. Mikroorganismen sind jedoch in allen Bereichen des Wurzelkanals aufzufinden, dies beinhaltet alle Seitenäste und Anastomosen der Dentintu-

buli im radikulären Bereich des Zahnes [34]. Die Ursache für die meisten Misserfolge im Bereich der Wurzelkanalbehandlung ist auf zurückbleibende bzw. nicht vollständig abgetötete Bakterienpopulationen zurückzuführen [54, 62]; dabei kann es sich um Mikroorganismen in unzugänglichen, das heißt mechanisch unbehandelten, Seitenkanälen und Anastomosen handeln [66].

Dies hat zur Folge, dass mechanisch unbehandelte Kanaloberflächen durch chemische, antibakterielle Substanzen penetriert und desinfiziert werden müssen. Natriumhypochlorit (NaOCl) ist derzeit das Mittel der Wahl unter den antibakteriellen Spüllösungen [4, 10, 11] mit gewebeauflösendem Effekt [46]. Natriumhypochlorit ist in höheren Konzentrationen (NaOCl 5 Prozent) jedoch zahnschwächend, das heißt, durch den Einfluss von NaOCl kommt es zu einer Reduktion der Biegefestigkeit und Resilienz; demnach ist der Zahn anfällig für Deformationen und eventuelle Frakturen [27, 61]. Hinzu kommt die mögliche Toxizität von NaOCl gegenüber dem periapikalen Gewebe [67, 17, 2, 21, 71, 29] und der oralen Mukosa [42]. Im Bereich der Wurzelkanalbehandlung an Zähnen der ersten Dentition sind sogar Schäden durch NaOCl an Zahnfollikeln permanenter Zähne bekannt.

*Universität Witten/Herdecke, Fakultät für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Witten. Friedrich Schiller Universität, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Jena.

■ Antibakterielle Wirkung von Ozon

Im Laufe der Jahre wurden eine Vielzahl von unterschiedlichen Möglichkeiten zur Elimination von intrakanalären Bakterien und Aufbreitung von Wurzelkanälen vorgestellt und empfohlen, darunter die Ultraschalltechnologie [44], die eine Erhöhung der Reinigungs- und Desinfektionswirkung von Natriumhypochlorit ermöglicht [12, 64], die noninstrumentelle Technik [40], die Lasertechnologie [38, 58], die Aufbereitung mit elektrochemisch aktiviertem Wasser [43, 28] und die Applikation von Ozon im Bereich der Endodontie [19, 14]. Ozon (O₃) ist ein stark oxidierendes Mittel [6], dass in der Wasserindustrie jahrelang zur Vernichtung von Bakterien verwendet wurde und immer noch wird, demnach hat dieses eine antibakterielle Wirkung auf Bakterien, Pilze, Protozoen und Viren [37]. Die Wirkung von Ozon basiert auf dessen starker oxidativer Potenz [7], die es möglich macht, Zellwände und zytoplasmatische Membranen von Bakterien und Pilzen zu zerstören [73]. Als Folge dessen steigt die Permeabilität, wodurch Ozonmoleküle in die Zellen eindringen können und den Untergang der Mikroorganismen herbeiführen [8].

Im Bereich der Medizin wurde Ozon zur Dekontamination von Krankenhausräumen [20], mit Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) kontaminierten Räumen [3] verwendet sowie in der Auto-Haemotherapie [5]. Auch im zahnmedizinischen Gebiet ist die Verwendung von Ozon keine Unbekannte. Ozon wurde zur Behandlung der Gingivitis, während chirurgischer Eingriffe [57] und der Behandlung von Wurzelkaries [1] vorgeschlagen. Die Erfolge bei der Verwendung von Ozon zur Kariestherapie im Wurzelbereich ist in der 2003 veröffentlichten Doppelblind-Studie von Holmes belegt [33]. Die Bekämpfung schmerzhafter Veränderungen der Mundschleimhaut, wie zum Beispiel Aphten und

Herpes-Simplex-Infektionen, durch die Verwendung ozongenerierender Apparaturen sind ebenfalls bekannt [74]. Die Behandlung der Dentinkaries mittels gasförmigem Ozon wurde ebenfalls untersucht, wobei man hier immer noch von einer chemo-mechanischen Therapie sprechen muss, denn die Behandlung kommt nicht ohne eine mechanische Exkavation aus, diese wird durch die Applikation von Ozon lediglich weniger invasiv [52, 55]. Aus diesem Grund wurde die Kariestherapie mittels ozongenerierender Einheiten zur Kariestherapie bei Phobiekrern und Kindern vorgeschlagen [25]. Auch im Bereich der Wurzelkanalbehandlung ist die Verwendung von Ozon [19, 14, 68] zur Reduktion der intrakanalären Bakterien bekannt. Es ist bewiesen, dass mittels einer Ozonsuspension mit einer Konzentration von 106 und niedriger, bei einer Expositionszeit von nur 10 Sekunden, alle *Enterococcus faecalis* Bakterien abgetötet werden [15]. Eine zytotoxische Wirkung, wie sie beim Gebrauch von NaOCl bekannt ist, konnte nicht nachgewiesen werden [49]. Ein weitere Anwendung von Ozon in der Zahnheilkunde geht auf die Bakterienreduktion mittels Ozon in Wassersystemen zahnärztlicher Behandlungseinheiten zurück [23].

Material und Methode

Zur Herstellung des Ozons wurde eine ozongenerierende Einheit (Healozone; Kavo, Deutschland) verwendet. Das durch die Einheit produzierte Ozongas wurde genutzt um NaOCl 0,5 Prozent und destilliertes Wasser zu ozonieren. Hierzu wurde das mit einem Silikonkappchen versehenem Winkelstück der Einheit auf sterile, mit den später zu verwendenden Spüllösungen gefüllte, Reagenzgläser aufgebracht. Um eine möglichst vollständige und gleichmäßi-

ge Ozonierung der Lösungen zu ermöglichen, wurden die Reagenzgläser während der Ozonproduktion auf einen Vortex-Mixer aufgesetzt. Die Lösungen wurden jeweils dreimal 40 Sekunden ozoniert.

Für diese Studie wurde der Keim *E. faecalis* (*Enterococcus faecalis* ATCC 6057) gewählt, der im Bereich der Endodontie als Problemkeim gilt und in der Literatur für vergleichbare Studien herangezogen wurde. In Anlehnung an [31] wurde die Auswirkung von Ozon auf das Zellwachstum von *E. faecalis* untersucht.

Das verwendete Bakterium, *E. faecalis*, wurde zunächst rekultiviert, dazu wurden die Keime in zwei Nährlösungen (Mc Farland; Trübungsgrad 0,5 und Trübungsgrad 0,5 1:10 verdünnt) gegeben, diese wurden anschließend auf jeweils fünf Blutagarplatten pro Trübungsgrad ausgestrichen und für 24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Die Reinheit der Keime wurde durch die Koloniemorphologie und Gramfärbung überprüft.

Nach 24 Stunden wurden jeweils 5 Membranfilterplatten (Protan BA 85®; Schleicher & Schnell, Deutschland; Porengröße 0,45 µm, Ø 15 mm) auf die mit *E. faecalis* bewachsenen Agarplatten appliziert, diese wurden für die folgenden Versuche als Keimträger genutzt. Die mit den Membranplatten bestückten Agarplatten wurden erneut 24 Stunden bei 37 °C in einem Brutschrank inkubiert.

Im Anschluss an die Inkubation wurden die Membranfilterplatten mit sterilen Pinzetten vorsichtig, um eine Beschädigung des *E. faecalis* Biofilms zu vermeiden, von den Blutagarplatten entnommen und den Tests unterzogen.

Die insgesamt 50 mit *E. faecalis*-Biofilmen (n=50) versehenen Membranfilterplatten, der Versuchsansätze: erste Gruppe McFarland Trübungsgrad 0,5, zweite Gruppe McFarland Trübungsgrad

Antibakterielle Wirkung von Ozon

0,5 1:10 verdünnt, wurden nun 30 Sekunden den jeweiligen Spüllösungen in sterilen Bechergläsern ausgesetzt. Nach 30 Sekunden Einwirkzeit wurden die Membranfilter, um eine mögliche Nachwirkung der Lösungen abzupuffern, in steriles NaCl gegeben. Anschließend wurden die Membranen vorsichtig, ohne den Biofilm zu beschädigen oder zu berühren, mittels Papierspitzen, getrocknet und auf frische Blutagarplatten platziert. Diese wurden 48 Stunden bei 37 °C inkubiert.

Die Membranplatten der negativen Kontrollgruppe wurden 3 ml steriler Kochsalzlösung ausgesetzt. Die Spüllösung wurde verworfen. Die Membranen wurden im Anschluss vorsichtig mit Papierspitzen getrocknet. Anschließend erfolgte eine 48-Stunden-Bebrütung. Es folgte die Auszählung der koloniebildenden Einheiten.

Es wurden fünf Gruppen gebildet:

Die erste Gruppe wurde mit 3 ml 5,25 Prozent NaOCl behandelt.

Die zweite Gruppe wurde mit 3 ml 0,5 Prozent NaOCl behandelt.

Die dritte Gruppe wurde mit 3 ml drei mal 40 Sekunden ozoniertem 0,5 Prozent NaOCl behandelt.

Die vierte Gruppe wird mit 3 ml drei mal 40 Sekunden ozoniertem Aqua purificata behandelt.

Alle Membranfilterplatten wurden nach 30 Sekunden Einwirkzeit zur Abpufferung

der Wirkung mit NaCl gespült. Die Keimträger wurden wie beschrieben getrocknet und 48 Stunden auf frischen Agarplatten inkubiert. Es folgte die Auszählung der koloniebildenden Einheiten.

Als Positivgruppe wurde die Spülung mit 5,25 Prozent Natriumhypochlorit festgelegt, als Negativgruppe eine Spülung mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung.

Die Statistik wurde in Abhängigkeit vom vorliegenden Verteilungsmuster mit den hiernach indizierten Methoden durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $p = 0.05$ festgesetzt.

Ergebnisse

Es bildete sich unter allen mit NaCl behandelten Membranfilterplatten nach 48 Stunden Inkubation ein dichter *E. faecalis*-Bakterienrasen. Die mit drei mal 40 Sekunden ozoniertem Aqua purificata behandelten Biofilme der Membranfilterplatten konnten ebenfalls keine Keimreduktion aufweisen. Es entstand bei allen Membranfilterplatten ein dichter Bakterienrasen.

Bei der positiven Kontrollgruppe, NaOCl 5,25 Prozent, konnte eine deutliche Keimreduktion festgestellt werden. Die *E. faecalis*-Biofilme des Versuchsansatzes McFarland Trübungsgrad 0,5 1:10 verdünnt wiesen eine Keimreduktion auf 20 Kolonien (mittlere Kolonienzahl) nach 48 Stunden Bebrütung auf. Die

Biofilme der zweiten Gruppe, McFarland Trübungsgrad 0,5, wiesen sogar eine Reduktion der Bakterien auf 8 Kolonien auf.

Die mit NaOCl 0,5 Prozent behandelten Membranfilter konnten ebenfalls deutliche Keimreduktionen verbuchen, hier waren nach 48 Stunden Inkubation bei der Gruppe zwei 70 Kolonien (mittlere Kolonienzahl) zu vermerken. Bei Gruppe eins war nach 24 Stunden Inkubation ein aufgelockerter Rasen zu sehen.

Die mittlere Kolonienzahl bei den mit drei mal 40 Sekunden ozonierten NaOCl 0,5 Prozent behandelten Biofilmen der Gruppe zwei lag bei lediglich 63 *E. faecalis*-Kolonien. Gruppe eins konnte sogar eine Reduktion der Bakterien auf 53 Kolonien bewerkstelligen.

Demnach ist im direkten Vergleich der Wirkung von NaOCl 0,5 und ozoniertem NaOCl 0,5 auf *E. faecalis* Biofilme ein kryptomerer Vorteil für die ozoniertere Version zu verzeichnen. Die Ergebnisse der Positivgruppe, NaOCl 5,25 Prozent, konnten jedoch durch die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent nicht erreicht werden. Bei der Ozonierung von destilliertem Wasser konnte keine Keimreduktion protokolliert werden.

Keine der verwendeten Lösungen konnte eine 100-prozentige Abtötung der *E. faecalis* Biofilmkulturen herbeiführen.

(Wert 500 = Bakterienrasen / 250 = aufgelockerter Bakterienrasen).

	NaCl	NaOCl 5,25%	NaOCl 0,5%	NaOCl 0,5% ozoniert	Aqua dest. ozoniert
Dauer der Behandlung (s)	30	30	30	30	30
Mittlere Kolonienzahl Mc Farland 0,5	Rasen	8	aufgelockerter Rasen	53	Rasen
Mittlere Kolonienzahl Mc Farland 0,5 1:10	Rasen	20	70	63	Rasen

Tab. 1 Effekt von NaCl, NaOCl 5,25 Prozent, NaOCl 0,5 Prozent, NaOCl 0,5 Prozent 3 x 40 Sekunden ozoniert, Aqua dest. 3 x 40 Sekunden ozoniert auf *E. faecalis*-Biofilme – Mittelwerte verbleibender Kolonien nach Versuchsdurchführung und 48 Stunden Inkubation

■ Antibakterielle Wirkung von Ozon

Diskussion

Ozon ist ein selektives Oxidationsmittel, das in wässrigen Lösungen instabil und relativ schnell, durch eine komplexe Serie von Kettenreaktionen, gespalten wird [32, 60]. Als Resultat dieser Kettenreaktionen entstehen Hydroxylradikale (OH⁻), die mitunter zu den reaktivsten Oxidantien gezählt werden. Diese Reaktionen sind höchstwahrscheinlich mitbeteiligt an der abtötenden Wirkung von Ozon gegenüber Bakterien.

Für diese Studie wurde das gram-positive, fakultativ anaerobe Bakterium *Enterococcus faecalis* gewählt, da es schwer zu eliminieren und eine hohe Signifikanz in behandlungsresistenten Fällen [47, 70] hat. Diesem Bakterium ist es möglich, als Monokultur unter unterschiedlichsten Voraussetzungen zu wachsen und zu überleben: zum Beispiel dem Gastrointestinaltrakt, dem Genitaltrakt und den Wurzelkanalsystemen [24].

Die antibakterielle Wirkung von Ozon wurde in dieser Studie auf Biofilmen getestet, da Tests auf planktonischen Kulturen nur eingeschränkt klinische Relevanz haben [59, 18]. Hinzu kommt, dass Empfindlichkeit der Bakterien in Biofilmen sich von der planktonischer unterscheiden [72].

Als positive Kontrollgruppe wurde in dieser Studie NaOCl 5,25 Prozent verwendet, hierbei kam es zu einer signifi-

kanten Reduktion der Bakterien auf dem Biofilm auf eine mittlere Kolonienzahl von 20. Im Vergleich dazu hat die Behandlung mit NaOCl 0,5 Prozent eine Reduktion der Bakterien auf eine mittlere Kolonienzahl von 70 Kolonien herbeigeführt. Die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent konnte eine weitere Reduktion der mittleren Kolonienzahl um sieben Kolonien, das heißt auf insgesamt 63 Kolonien, bewerkstelligen, wodurch ein leichter Vorteil bezüglich der antibakteriellen Wirkung von NaOCl 0,5 Prozent durch Ozonierung zu verzeichnen ist. Bei der negativen Kontrollgruppe, steriles NaCl, konnte wie erwartet keine Reduktion des Bakterienbiofilms beobachtet werden. Die Ozonierung von Aqua dest. konnte gleichermaßen keine antibakterielle Wirkung hervorgerufen. Bei beiden Gruppen entstanden dichte Bakterienrasen nach der jeweiligen Behandlung und Inkubationszeit von 48 Stunden.

Wenn neue Techniken in Betracht gezogen werden, spielt die Sicherheit eine wichtige Rolle, deshalb müssen Limitation und mögliche Nebenwirkungen von Ozon auf den menschlichen Organismus beachtet werden. Durch Ozon kann es zu Irritationen des respiratorischen Systems kommen [30]. Bereits in niedrigen Konzentrationen (0,2 – 0,5 ppm) können Kopfschmerzen, Irritationen oder Trockenheit von Mund, Rachen, Nase und Augen auftreten [45]. Höhere Konzentrationen (1 – 10 ppm

über mehrere Stunden) können zu Lungenkapazitätsverlust, Ödemen, Blutungen, sowie Veränderungen des Blutes führen. Epidemiologische Studien [16] weisen auf eine mögliche Verbindung zwischen Ozonimmissionen und allergisch bedingten Atemwegserkrankungen hin.

Nach Durchführung dieser Studie können folgende Schlüsse zur Effektivität von Ozon bzw. ozonierten Desinfektionslösungen gegenüber *E. faecalis* gezogen werden:

- Die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent bietet gegenüber der Anwendung von unbehandeltem NaOCl 0,5 Prozent einen kryptomeren Vorteil in Bezug auf die antibakterielle Wirkung für die ozonierte Version.
- Die Ozonierung von NaOCl 0,5 Prozent bietet keinen Vorteil gegenüber der Desinfektionswirkung von NaOCl 5,25 Prozent.
- Eine antibakterielle Wirkung von ozoniertem Aqua dest. konnte nicht beobachtet und protokolliert werden. ■

Korrespondenzadresse:

Cand. med. dent.
Fabio Rimoldi
PD. Dr. Rudolf Beer
Dr. Liviu Steier
Abteilung für Zahnerhaltung
Fakultät für Zahn-, Mund- und
Kieferheilkunde der Universität
Witten/Herdecke
Alfred-Herrhausen-Str. 50
58455 Witten

Literatur

- [1] Baysan A, Whiley RA, Lynch E (2000) Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on microorganisms associated with primary root carious lesion in vitro. *Caries Research* 34, 498–501.
- [2] Becking AG (1991) Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Report of three cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontics* 71, 41–5.

- [3] Berrington AW, Pedler SJ (1998) Investigation of gaseous ozone for MRSA decontamination of hospital side-rooms. *Journal of Hospital Infection* 40, 61–5.

- [4] Bloomfield SF, Miles GA (1979) The antibacterial properties of sodium dichloroisocyanurate and sodium hypochlorite formulations. *Journal of Applied Bacteriology* 46, 65–73.

- [5] Bocci V (1992) Ozonation of blood for therapy of viral de-

seases and immunodeficiencies. A hypothesis. *Medical Hypotheses* 39, 30–4.

- [6] Broadwater WT, Hoehn RC, King PH (1973) Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. *Applied Microbiology* 26, 391–3.

- [7] Burlinson GR, Murray TM, Pollard M (1975) Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. *Applied Microbiology* 29, 340–4.

Antibakterielle
Wirkung
von Ozon

- [8] Bünning G, Hempel DC (1996) Vital-fluorochromatization of microorganisms using 3', 6'-diacetylfluorescein to determine damages of cell membranes and loss of metabolic activity by ozonation. *Ozone Sci Engl* 1996; 18, 172–81.
- [9] Byström A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic
- [10] Byström A, Sundqvist G (1983) Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 Prozent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 55, 307–12.
- [11] Byström A, Sundqvist G (1985) The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal* 18, 35–40.
- [12] Cameron JA (1987) The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* 13, 541–5.
- [13] Cavalleri G, Cuzzolin L, Urbani G, Benoni G (1898) Root canal microflora: a qualitative changes after endodontic instrumentation. *Journal of Chemotherapy* 1, 170–5.
- [14] Chahverdiani B, Thadj-Bakhche A (1976) L'Ozonotherapie en traitement radiculaire. *Acta Medical Iranica* XIX, 192–200.
- [15] Chang CC, Fulton C, Lynch E (2003) Antimicrobial Efficacy of ozone on *Enterococcus faecalis*. *IADR 2003 Göteborg*.
- [16] Cody RP, Weisel CP, Beinbaum G, Lioy PJ (1992) The effect of ozone associated with summer-time photochemical smog on frequency of asthma visits to hospital emergency departments. *Environmental Research* 58, 184–94.
- [17] Cvek M, Nord CE, Hollender L (1976) Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root. A clinical and microscopic study. *Odontologisk Revy* 27, 1–10.
- [18] D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P (1999) An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic – anaerobic, obligate anaerobic and microaerophilic bacteria. *Journal of Endodontics* 25, 351–3.
- [19] Deltour MM, Vincent J, Lartigau G (1970) Effet Lethal de L'ozone sur certaine souches de bacteries aerobies dan un modele de chamber pulpaire, *Revue d'odonto-stomatologie du midi de la France* 15, 278–84.
- [20] Dyas A, Boughton BJ, Das BC (1983) Ozone killing action against bacterial and fungal species; microbiological testing of a domestic ozone generator. *Journal of Clinical Pathology* 36, 1102–4.
- [21] Ehrich GD, Brian D, Walker WA (1993) Sodium hypochlorite accident: inadvertent injection into maxillary sinus. *Journal of Endodontics* 19, 180–2.
- [22] Fabricius L, Dahlen G, Holm S, Möller AJR (1982) Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys, *Scandinavian Journal of Dental Research* 90, 200–6.
- [23] Filippi A (1997) Ozone in oral surgery – current status and prospects. *Ozone Science and Engineering* 19, 387–93.
- [24] Flemingham D, Wilson APR, Quintana AI, Gruneberg RN (1992) *Enterococcus* species in urinary tract infections. *Clinical Infectious Diseases* 15, 295–301.
- [25] Freeman R, Holmes J, Lynch E (2004) *Ozone: a New Treatment Modality For Dentally Anxious Patients, Ozone: The Revolution in Dentistry*, Quintessence Books, 287–300.
- [26] Fukushima H, Yamamoto K, Sagawa H, Leung KP, Walker CB (1990) Localisation and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. *Journal of Endodontics* 11, 534–8.
- [27] Grigoratos D, Knowles J, Ng Y-L, Gulabivala K (2001) Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on ist fixural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* 34, 113–9.
- [28] Gulabivala K, Stock CJR, Lewsey JD, Ghori S, Ng Y-L, Spratt DA (2004) The efficacy of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model. *International Endodontic Journal* 37, 624–31.
- [29] Hales JJ, Jackson CR, Everett AP, Moore SH (2001) Treatment protocol fort he management of sodium hypochlorite accident during endodontic therapy. *Geneal Dentist* 49, 278–81.
- [30] Hazucha MJ, Bates DV, Bromberg PA (1989) Mechanism of action in ozone on the human lung. *Journal of Applied Physiology* 67, 1535–41.
- [31] Hems RS, Gulabivala K, Ng Y-L, Ready D, Spratt DA (2005) An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *E. faecalis*. *International Endodontic Journal* 38, 22–ff.
- [32] Hoigne J, Bader H (1976) The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. *Water Research* 10, 377–86.
- [33] Holmes J, (2003) Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology* 2003, Dec; 20 (2), 106–14.
- [34] Horiba N, Maekawa Y, Matusomoto T, Nakamura H (1990) A study of the the distribution of endotoxin in the dental wall of infected root canals. *Journal of Endodontics* 16, 331–4.
- [35] Ida RD, Gutmann JL (1995) Importance of anatomic variables in endodontic treatment outcomes: case report. *Endodontics and Dental Traumatology* 11, 199–203.
- [36] Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965) The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery Oral Medicine and Oral Pathology* 20, 340–9.
- [37] Kim JG, Yousef AE, Dave S (1999) Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods. *Journal of Food Protect* 62, 1071–87.
- [38] Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K (2000) Laser in endodontics: a review. *International Endodontic Journal* 33, 178–85.
- [39] Lin ML, Pascon EA, Skribner J, Gängler P, Langeland K (1991) Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 11, 603–11.
- [40] Lussi A, Messerli L, Hotz P, Grosrey J (1995) A new noninstrumental technique for cleaning and root filling canals. *International Endodontic Journal* 28, 1–6.
- [41] Mannan G, Smallwood E, Gulabivala K (2001) Effect of access cavity location and design on degree and distribution of instrumented root canal sur-

Antibakterielle Wirkung von Ozon

- face in maxillary anterior teeth. *International Endodontic Journal* 34, 176–83.
- [42] Marais JT (2000) Cleaning efficacy of a new root canal irrigation solution: a preliminary evaluation. *International Endodontic Journal* 33, 320–5.
- [43] Marais JT, Williams WP (2001) Antimicrobial effectiveness of electro-chemically activated water as an endodontic irrigation solution. *International Endodontic Journal* 34, 237–43.
- [44] Martin H (1976) Ultrasonic disinfection of the root canal. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 20, 340–49.
- [45] McDonnell WF, Hortmann DH, Hazucha MJ et al. (1983) Pulmonary effects of ozone exposure during exercise: dose-response characteristics. *Journal of Applied Physiology* 54, 1345–51.
- [46] Moorer WR, Wesselink PR (1982) Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *International Endodontic Journal* 15, 187–96.
- [47] Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T (1998) Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal* 31, 1–7.
- [48] Möller AJR, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heydon G (1981) Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scandinavian Journal of Dental Research* 89, 475–84.
- [49] Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M (2004) Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of Endodontics* 30, 778–81.
- [50] Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G (1990) Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *Journal of Endodontics* 16, 580–8.
- [51] Nair PNR, Sjögren U, Fidgor D, Sundqvist G (1999) Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 87, 617–27.
- [52] Noack MJ, Wicht MJ, Haak R (2004) Lesion oriented caries treatment – a classification of carious dentin procedures. *Oral health & preventive dentistry* 2, 301–6.
- [53] Orstavik D, Haapasalo MM (1990) Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics and Dental Traumatology* 6, 142–9.
- [54] Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M (2000) Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *Journal of Endodontics* 26, 593–5.
- [55] Rickard GD, Richardson R, Johnson T, McColl D, Hooper L (2004) Ozone therapy for the treatment of dental caries. The Cochrane database of systematic reviews (electronic resource) 3, CD004153.
- [56] Rocke H, Guldener PHA (1993) Obstruktion des Wurzelkanals. In: Guldner PHA, Langeland K, eds. *Endodontologie*, 3rd edn. Stuttgart: Thieme Verlag, 293–312.
- [57] Sandhaus S (1969) Ozon-anwendung in der chirurgischen und klinischen Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. *Zahnärztliche Praxis* 24, 1–5.
- [58] Seal GJ, Ng Y-L, Spratt DA, Bhatti M, Gulabivala K (2002) An in vitro comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitisation or sodium hypochlorite irrigation on *Streptococcus intermedius* biofilms in root canals. *International Endodontic Journal* 35, 268–74.
- [59] Shih M, Marshall FJ, Rosen S (1970) The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 29, 613–9.
- [60] Shin W-T, Mirmiran A, Yiacoumi S, Tsouris C (1999) Ozonation using micro-bubbles formed by electric fields. *Separation and Purification Technology* 15, 271–82.
- [61] Sim TP, Knowles J, Ng Y-L, Shelton J, Gulabivala K (2001) Effect of sodium hypochlorite irrigant concentration on strain in teeth. *International Endodontic Journal* 34, 120–32.
- [62] Siqueira JF Jr (2001) Aetiology of the endodontic failure: why well-treated teeth can fail. *International Endodontic Journal* 34, 1–10.
- [63] Siqueira JF Jr, Rocas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzeda M (2002) Efficacy of instrumentation technique and irrigation regimens in reducing the bacterial population with root canals. *Journal of Endodontics* 28, 181–4.
- [64] Sjögren U, Sundqvist G (1987) Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral Surgery and Oral Pathology* 63, 366–70.
- [65] Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K (1990) Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *Journal of Endodontics* 16, 498–504.
- [66] Sjögren U, Fidgor D, Persson S, Sundqvist G (1997) Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *International Endodontic Journal* 30, 297–306.
- [67] Spangberg L, Engström B, Langeland K (1973) Biological Effect of dental materials. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 36, 856–69.
- [68] Steier L, Steier G (2004) *Ozone Application in Root Canal Disinfection, Ozone: The Revolution in Dentistry*, Quintessence Books, 275–85.
- [69] Sundqvist G (1976) Bacteriological studies of necrotic dental pulps. *Odontological Dissertations no. 7*. Umea, Sweden: Umea University.
- [70] Sundqvist G, Fidgor D, Persson S, Sjögren U (1998) Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 85, 86–93.
- [71] Türkün M, Gökay N, Özdemir N (1998) Comparative investigation of the toxic and necrotic tissue dissolving effects of different endodontic irrigants. *Journal of the Dental Faculty of Istanbul University* 32, 87–94.
- [72] Wilson M (1996) Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *Journal of Medical Microbiology* 44, 79–87.
- [73] Yamayoshi T, Tatsumi N (1993) Microbicidal effects of ozone solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs Exp Clin Res* 1993; 19, 59–64.
- [74] Ziegler A, HealOzone – Praxiskonzept – APTEN/Herpes, HealOzone, eine schnelle und effektive Möglichkeit zur Bekämpfung schmerzhafter Veränderungen der Mundschleimhaut.