

**Bakterizide Wirkung des gepulsten Nd:YAG – Lasers
auf *Prevotella intermedia* und *Actinobacillus
actinomycetemcomitans***

Eine dosimetrische In-vitro-Studie

Masterthese

Dr. med. dent. Peter Kleemann

2007

Master of Science in Lasers in Dentistry (M.Sc.)
Jahrgang 2005 -2007

**Bakterizide Wirkung des gepulsten Nd:YAG - Lasers auf
Prevotella intermedia und Actinobacillus
actinomycetemcomitans**

Eine dosimetrische In-vitro-Studie

Verfasser :

Dr. med. dent. Peter Kleemann

Betreuer :

Prof. Dr. med. dent. Norbert Gutknecht

Inhalt

1. Einleitung	5
1.1 Motivation.....	5
1.2 Nd:YAG-Laser.....	6
1.3 Parodontitis und die Keime P.i. und A.a.....	6
1.4 Nd:YAG-Laserunterstützte Parodontitistherapie.....	9
1.5 Definition der Zielgröße und Zielsetzungen.....	9
 2. Material und Methoden	11
2.1 Gepulster Nd:YAG-Laser.....	11
2.2 Bakterien und Blut-Agar	13
2.3 Versuchsablauf und Kalibrierung.....	17
 3. Ergebnisse	20
3.1 3. und 4. Versuchstag	20
3.2 Diskussion zu 3. und 4. Versuchstag.....	21
3.3 1. Versuchstag	22
3.4 Diskussion zu 1. Versuchstag.....	23
3.5 2. Versuchstag – 1. Teil	29
3.6 Diskussion zu 2. Versuchstag – 1. Teil.....	30
3.7 2. Versuchstag – 2. Teil	31
3.8 Diskussion zu 2. Versuchstag – 2. Teil.....	31

4. Zusammenfassung	33
5. Summary	34
6. Anhang	37
6.1 Versuchsübersicht mit Datentabelle	37
6.2 Statistische Auswertung	41
7. Literaturverzeichnis	45
8. Zusicherung	48
9. Danksagung	49
10. Lebenslauf	50

1. Einleitung

1.1 Motivation

Die Anwendung des Lasers in der Medizin und Zahnmedizin als therapeutisches und diagnostisches Instrument hat sich in den letzten Jahren stark verbreitet. In der Zahnmedizin wird der Laser mit unterschiedlichem Erfolg zur Bakterienreduktion in der Parodontitis-Behandlung eingesetzt^{6,7,24}. Es gibt dosimetrische Hinweise für die klinische Anwendung¹³, im Unterschied zur Radiologie sind jedoch viele Fragen zur Dosimetrie noch offen.

Wenn Laserlicht auf Gewebe und Bakterien einwirkt, können Photonen absorbiert werden. Es kommt zur Energieübertragung mit der Folge photochemischer und photothermischer Prozesse. Die Art der Wechselwirkung ist komplex und hängt von den optischen Eigenschaften des Gewebes und der Bakterien (Streukoeffizient, Absorptionskoeffizient, Dichte etc.) und von den dosimetrischen Parametern des Laserlichts (Wellenlänge, Energiedichte, Pulsrate, Bestrahlungsdauer, Spotgröße) ab^{5,8}. Die vorliegende Arbeit widmet sich der Untersuchung dieser Wechselwirkung von Laserlicht auf parodontopathogene Keime bei unterschiedlichen Einstellungen des Lasers, um klinisch relevante Erkenntnisse zur Dosis-Wirkungsbeziehung und zur Laserdosimetrie zu gewinnen. Eingesetzt wird ein freilaufend gepulster Nd:YAG-Laser, wie er auch für die Parodontitistherapie zur Anwendung kommt.

1.2 Nd:YAG-Laser

1963 – etwa drei Jahre nach der Vorstellung des ersten Lasers, des Rubinestkörperlasers, durch T. H. Maiman - führte L. F. Johnson den ersten einstellbaren Festkörperlaser, basierend auf Übergangsmetallionen, ein, und 1964 stimulierte J. E. Geusic die 1064 nm-Laserlichtemission beim Nd:YAG-Kristall, Grundlage für den heute gebräuchlichsten Festkörperlaser. Der bei 1064 nm im nahen Infrarotbereich strahlende Nd:YAG-Laser arbeitet im 4-Niveau-Betrieb. Bei dem in der Studie benutzten Nd:YAG-Laser handelt es sich um einen freilaufend gepulsten Laser, der von einer Blitzlampe gepumpt wird. In der Zahnmedizin fand der Nd:YAG-Laser seit den frühen 90iger-Jahren schnell seine Verbreitung, da er als photothermisch wirkender Laser für chirurgische Weichgewebseingriffe eingesetzt werden kann und im niedrigeren Leistungsbereich aufgrund seiner bakteriziden Wirkung zur Dekontamination infizierter Bereiche und Deepithelisierung und zur endodontischen Behandlung und Parodontitis-Behandlung^{9,21,36} eingesetzt werden kann.

1.3 Parodontitis und die Keime P.i. und A.a.

Die Parodontitis ist eine entzündliche Erkrankung des Parodontiums mit Attachmentverlust. Ihre Ätiologie wird drei wesentlichen Elementen zugeschrieben: Lokalen mikrobiologischen, funktionellen und endogenen Faktoren^{28,29,30}. Dabei sind Entstehung und Verlauf der entzündlichen Parodontalerkrankungen in erster Linie Mikroorganismen zuzuschreiben, wie man sie in Zahnplaque findet^{16,17}. Die primär pathogene Rolle der bakteriellen Plaque ist heute unbestritten^{18,31}. Für die Parodontitis sind besonders Gram-negative Keime mit ihrem typischen komplexen Zellwandaufbau (Abb.1) und

hier besonders anaerobe „Leitkeime“ von Bedeutung: *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*. Eine dauerhafte Reduzierung dieser parodontopathogenen Keime ist eine wesentliche Voraussetzung für den Erfolg der Parodontitistherapie^{10,37,38,39}.

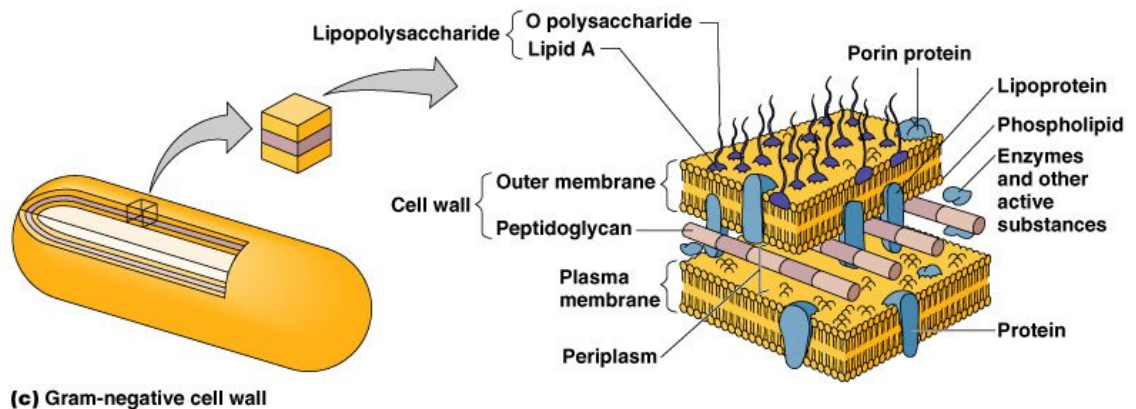


Abb. 1: Zellwandaufbau eines Gram-negativen Keims

(aus: 2002 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings)

Für die vorliegende Studie wurden *Prevotella intermedia* (Abb. 2) und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Abb. 3) als bekannte Leitkeime ausgewählt.

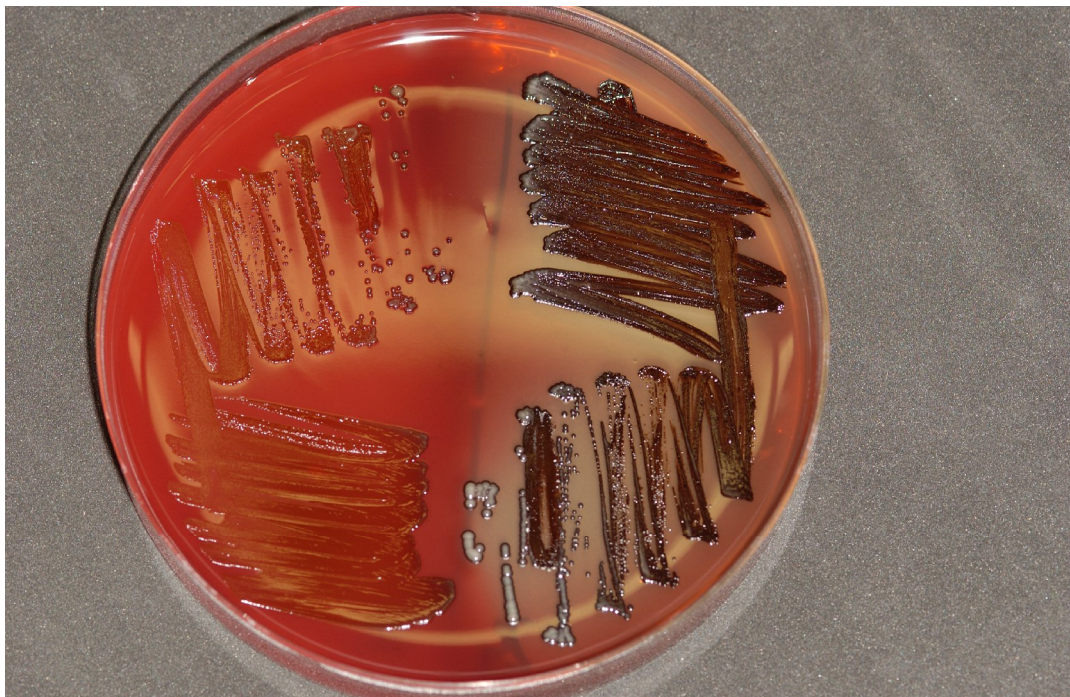


Abb. 2: Ausstrichpräparat *Prevotella intermedia*.

Prevotella intermedia ist ein obligat anaerober, schwarz-pigmentierter (BPR= black-pigmented rod) und gramnegativer Bakterienstamm aus der Familie der Bacteroidaceae. Es handelt sich um kokkoide, pleomorphe Stäbchen¹⁹.

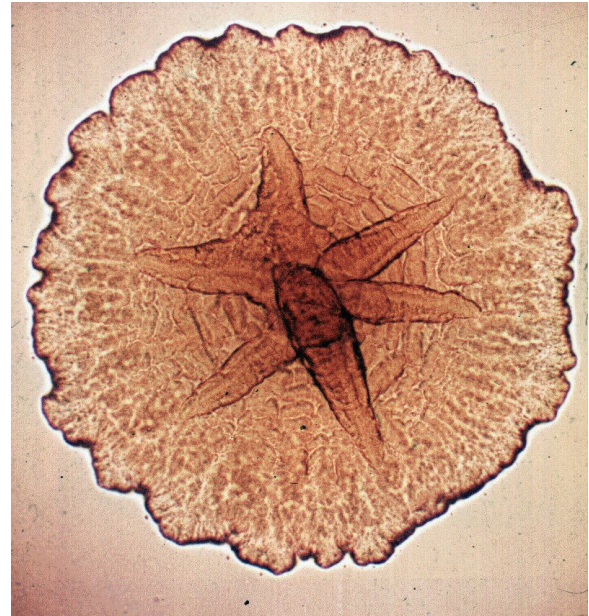


Abb. 3: Ausstrichpräparat *Actinobacillus actinomycetemcomitans* u. Kolonie

Actinobacillus actinomycetemcomitans ist ein fakultativ anaerober, Gram-negativer und nicht pigmentierter Bakterienstamm mit kokkoiden Stäbchen. Er zeichnet sich durch eine charakteristische Koloniemorphologie mit irregulärem, gezackten Rand, Schollenbildung und typischer stern- oder zigarrenförmiger Struktur im Zentrum aus (Abb. 3 rechts). Es gilt als gesichert, daß er für die lokalisierte juvenile Parodontitis hauptverantwortlich ist und nur schwer zu eliminieren ist^{38,39}.

A.a.- und P.i.-Keime sind wesentliche Pathogenitätsfaktoren gemeinsam. Sie persistieren im Biofilm auf der Zahnoberfläche, heften sich an Epithelzellen an und infiltrieren diese. Intrazelluläre Bakterien entziehen sich der Immunabwehr²⁵. Beide Keime sind an der Bildung

des Biofilms beteiligt und sondern Vesikel ab, die neutrophile Zellen blockieren. Sie kolonisieren Nischen in Zahnstein und Zahnzement und können in Dentintubuli vordringen²⁶.

1.4 Nd:YAG-Laserunterstützte Parodontitis-Therapie

Zur Parodontitistherapie wird der Einsatz des gepulsten Nd:YAG-Lasers zur Deepithelisierung und Dekontamination der Zahnfleischtaschen und des angrenzenden Desmodonts empfohlen^{2,11}. Eine Vielzahl klinischer Untersuchungen belegt die bakterizide Wirkung des gepulsten Nd:YAG-Lasers in der parodontalen Tasche^{9,24}. Es wurde nachgewiesen, dass der gepulste Nd:YAG-Laser parodontopathogene Keime abtötet (Laser-Antisepsis) und ein therapeutisches Fenster genutzt werden kann, bei dem keine Schäden an der Wurzeloberfläche zu erwarten sind¹¹.

Eine quantitative Methode zur Festlegung klinisch verlässlicher dosimetrischer Parameter existiert jedoch nicht. Als verbreiteter Standard hat sich die Verwendung bestimmter Laser-Parameter etabliert. So wird angegeben, mit einer Einstellung von 2 Watt, 20 Hertz mittels einer 300 Mikrometer-Glasfaser mäanderförmig vom Fundus ausgehend nach coronal durch die erkrankten Zahnfleischtaschen zu scannen⁹. Die empfohlenen Einstellwerte weichen allerdings zum Teil erheblich von der Empfehlung anderer Autoren ab^{3,12,20}.

1.5 Definition der Zielgröße und Zielsetzungen

Die vorliegende Arbeit verfolgt primär eine dosimetrische Methode mit dem Ziel, die Wirkung des gepulsten Nd:YAG-Lasers auf das Wachstumsverhalten von *Prevotella intermedia* bzw. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* zu untersuchen. Als Zielgröße der Studie und der statistischen Auswertung wird die prozentuale Keimreduktion pro Versuch bzw. pro Petrischale bestimmt:

Prozentuale Keimreduktion = ((Mittlere Anzahl der Keime über alle 5 Kontrollspots in einer Petrischale)-(Mittlere Anzahl der Keime über alle 5 behandelten Spots in einer Petrischale)) / (Mittlere Anzahl der Keime über alle 5 Kontrollspots in einer Petrischale).

Es handelt sich um eine In-vitro-Studie mit Beschränkung auf wenige Einflußgrößen, um Aussagen bezüglich der Dosis-Wirkungsbeziehung bei unterschiedlicher Einstellung der Parameter Power, Pulsrate und Bestrahlungszeit zu treffen. Gleichzeitig wurde versucht, eine Versuchsanordnung zu nutzen, die relativ einfach ist und der klinischen Situation möglichst nahekommt.

1. Ziel der Studie ist, herauszufinden, ob überhaupt eine Versuchsanordnung mit dem auf klinische Arbeitsbedingungen abgestimmten Nd:YAG-Laser realisiert werden kann und ob in dem Zeitfenster von ca. 30 Minuten, in dem die ausgewählten anaeroben Keime unter Sauerstoffatmosphäre lebensfähig sind, eine Keimreduktion durch Laserbestrahlung möglich ist.

Falls eine Keimreduktion bei den verwendeten anaeroben Keimen auftritt, ist zu klären, ob unter sonst gleichen Bedingungen die bakterizide Wirkung der Laserstrahlung dosisabhängig ansteigt. Auch soll geklärt werden, ob bei sehr geringen Dosen eine Biostimulation nachzuweisen ist.

2. Ziel der Studie ist, herauszufinden, ob unter sonst gleichen Bedingungen die bakterizide Wirkung der Laserstrahlung mit höherer Pulsrate ansteigt. Insbesondere soll untersucht werden, ob die bakterizide Wirkung bei einer mittleren Leistungseinstellung (z.B. 4 W oder 6 W) durch eine höhere Pulsrate erhöht wird. Da die Pulsrate dosisunabhängig und relativ frei am Lasergerät eingestellt werden kann, ergibt sich die Frage, ob eine Erhöhung der Pulsrate klinisch effizienteres Arbeiten ermöglicht.

3. Ziel der Studie ist, herauszufinden, ob der manuelle Scan-Modus mit horizontalem Scannen eine stärkere Keimreduktion ermöglicht als der Scan-Modus mit horizontalem und vertikalen Scannen.

Da der Versuch hier sowohl mit *Prevotella intermedia* als auch mit *Actinobacillus actinomycetemcomitans* unter gleichen Bedingungen durchgeführt wird, sollen gleichzeitig keimspezifische Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber Nd:YAG-Laserstrahlung untersucht werden.

4. Ziel der Studie ist, zu prüfen, ob unter sonst gleichen Bedingungen die bakterizide Wirkung der Nd:YAG-Laserstrahlung sich mit Verlängerung der Pulsdauer verändert.

2. Material und Methoden

2.1 Gepulster Nd:YAG Dental-Laser

Als Laserquelle für alle Versuche – mit Ausnahme der Versuche zur Pulsdauer - dient der Nd:YAG-Laser (1064 nm) des Kombilasergerätes Fidelis-Plus der Fa. Fotona, der mit einer festen Pulsdauer von 100 µm arbeitet (Abb. 4).

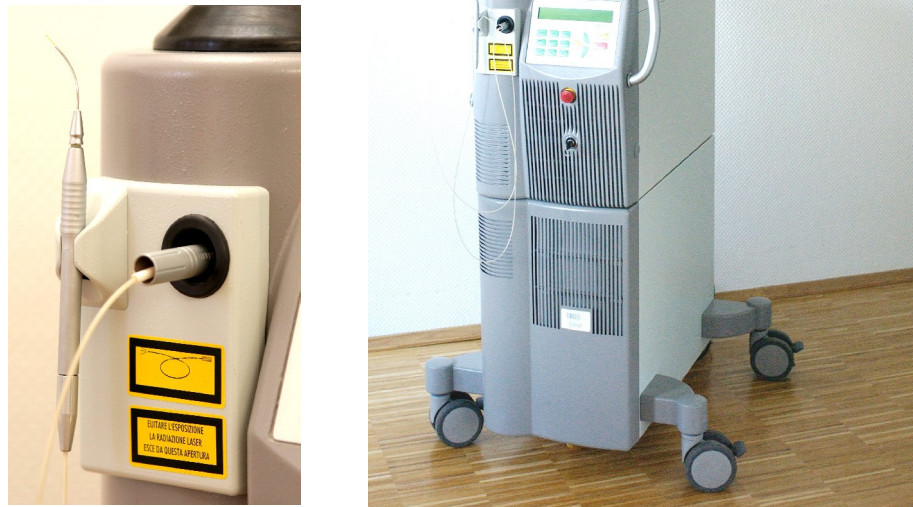


Abb. 4: Gepulster Nd:YAG-Laser

Spezifikation

Wellenlänge.....	1064 nm
Mittlere Leistung	0,25 W bis 15 W in 0,25 W Schritten
Betriebsart	Freilaufend gepulst
Pulsrate	10 bis 100 Hz in 5 Hz Schritten
Pulsenergie	25 mJ bis 500 mJ
Pulsdauer	100µs
Applikationssystem.....	Faseroptik
Pilotstrahl.....	Diode 650 nm, 1 mW



Abb. 5: Versuchsanordnung

In der Versuchsanordnung (Abb. 5) wird das Dermatologie-Handstück mit Glasfaserkabel (Durchmesser 4 mm) und Strahlenaufweitungsoptik benutzt.

2.2 Bakterien und Blut-Agar

Für die Hauptversuche wird der Bakterienstamm *Prevotella intermedia* (ATCC 25611, Herkunft ATCC= American Type Culture Collection) eingesetzt. Die P.i.-Keime werden aus der Stammkultur, die bei -70° C gelagert ist, entnommen und auf Columbia-Agar-Platten anaerob bei 37° C angezüchtet.

Für die ergänzenden Versuche wird der Bakterienstamm *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (ATCC 33384) eingesetzt. Die A.a.-Keime werden im Unterschied zu *Prevotella intermedia* im CO₂ - Brutschrank bebrütet.

Zur Herstellung einer Suspension werden 5 - 10 Kolonien von der Reinkultur mit einem Wattetupfer von der Platte entnommen werden.

Nach Suspension in 1ml BHI-Bouillon (Zubereitungsspezifikation: 37 g Fertigmedium Oxoid CM 225 in 1 l H₂O suspendiert und autoklaviert; BHI= Brain Heart Infusion Broth) wird durch Gramfärbung die Reinheit der Stämme geprüft. Danach werden 10 Kolonien von der Reinkultur entnommen und 1:10 verdünnt in NaCl (900 µl NaCl + 100 µl Suspension). Hiervon werden je 100 µl auf einer Columbia-Agar-Platte ausplattiert und 48 h bebrütet. Die gewachsenen Kolonien (CFU = Colony Forming Units) werden ausgezählt und für die weiteren Tests wird die Suspension bzw. die Verdünnung verwendet, die 100 CFU in 10 µl enthält.

Die Petrischalen enthalten als Medium Columbia-Agar (Zubereitungsspezifikation: 39 g Columbia-Agar Oxoid CM 331 in 1 l H₂O suspendiert und autoklaviert, nach dem Abkühlen auf 50° C Zusatz von 5 % steriles Schafblut FSR 1055). Auf den Nährmedien werden zunächst mit einem sterilen Markierungsstempel kreisförmige Impressionen eingestempelt mit einem Durchmesser von 1,2 cm. In die obere Hälfte der Platte werden fünf solcher „Stempel“ gesetzt (Abb. 6). Dies sind die 5 Spots für die Kontrollgruppe. Weitere 5 Spots werden in der unteren Hälfte der Platte vorbereitet. Dies sind die Bestrahlungsfelder.



Abb. 6: Markieren der 10 Spots

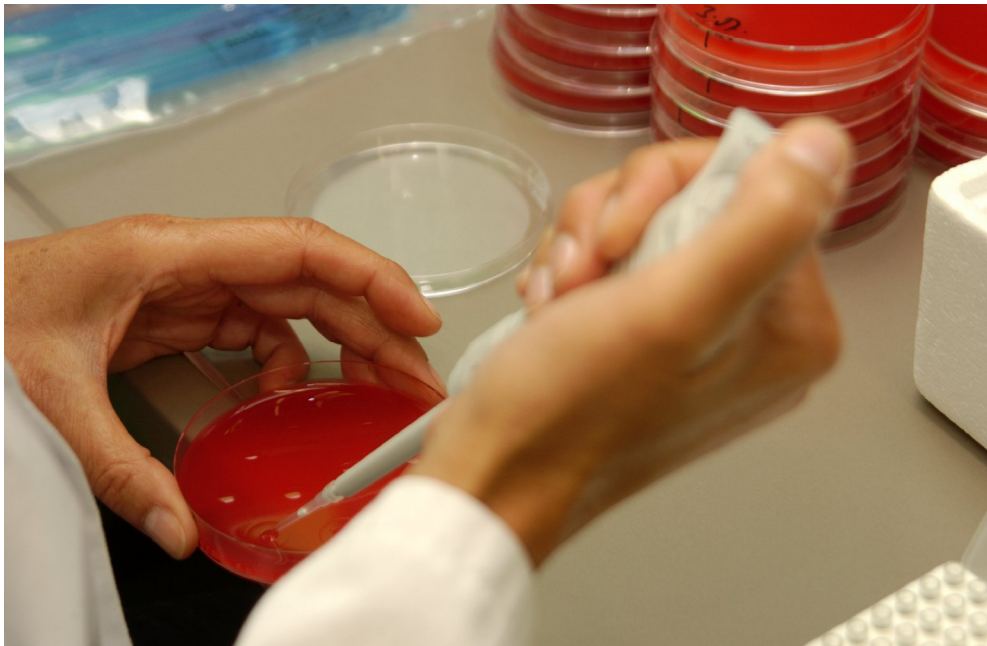


Abb. 7: Aufbringen der Keimsuspension

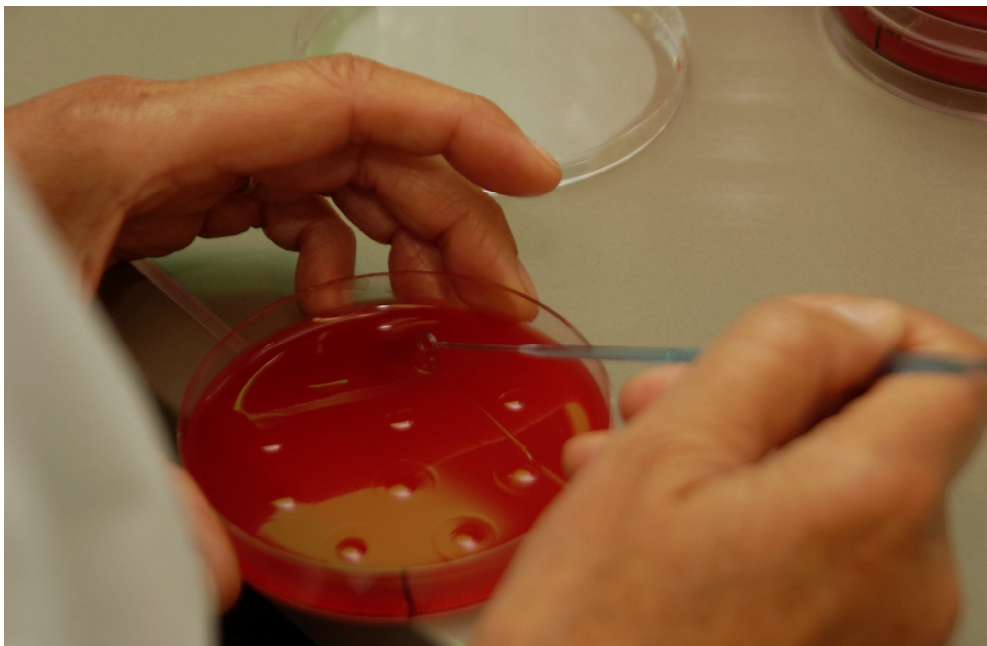


Abb. 8: Ausplattieren der Keimsuspension

In diese Spots werden kurz vor dem Versuchsbeginn die tiefgekühlten Aliquot-Suspensionen mit jeweils 100 CFU einplattiert (Abb. 7 und 8).

Es wird darauf geachtet, dass zwischen Ausplattieren der frischen Suspension und Beendigung der letzten Laserapplikation nicht mehr als 30 Minuten vergehen und die Petrischale nach Versuchsende in einen Spezialbebrütungsbeutel mit anaerobem Medium eingeschweißt (Abb. 9) und in den Bebrütungsraum gestellt wird (Abb. 10).



Abb. 9: Einschweißen in anaerobes Kulturmedium



Abb. 10: Bebrütung im Bebrütungsraum

2.3 Versuchsablauf und Kalibrierung

An den vier Versuchstagen 26.06.06, 5.07.06, 10.07.06 und 27.07.06 werden insgesamt 82 beimpfte Agarplatten bestrahlt. Hierbei werden für die unteren 5 Bakterienspots einer Petrischale immer die gleichen Bestrahlungsparameter angewandt.

Vor Versuchsbeginn wird mithilfe des Leistungsmeßgerätes der Fa. Coherence der Laserstrahl am Austrittspunkt des Handstückes gemessen und sichergestellt, daß die auf dem Display des Lasergerätes angezeigte Leistung tatsächlich emittiert wird.

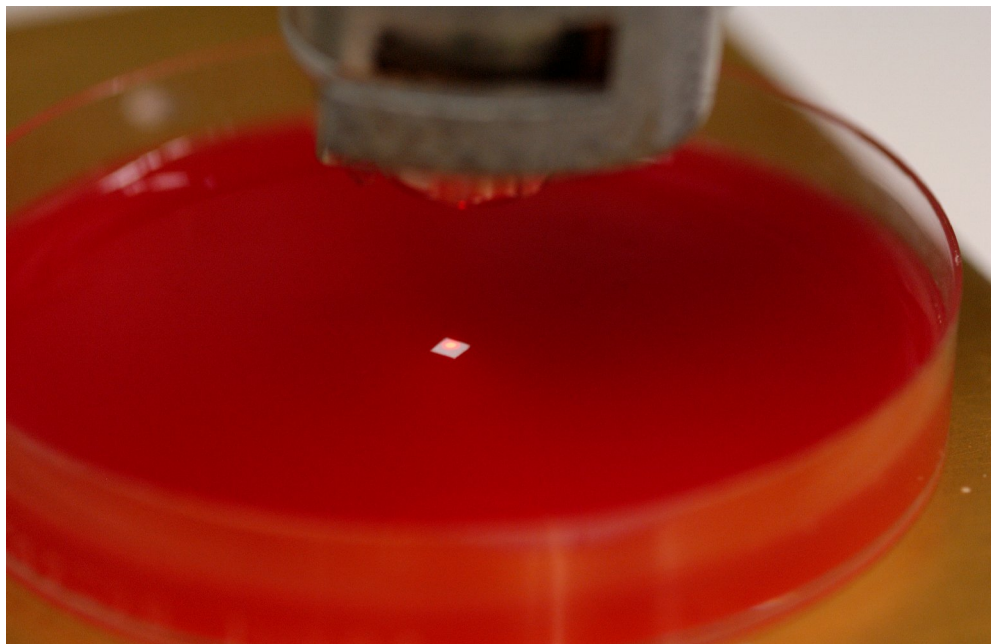


Abb. 11: Kalibrieren des Fokus-Spots

Das Handstück des Nd:YAG-Lasers wird in einen Ständer mit Schraubzwinge senkrecht eingespannt und so einjustiert, dass der Fokus sich mit einem Durchmesser von 1,4 mm scharf auf dem Nähragar abbildet. Wegen des besseren Kontrastes wird der Fokuspunkt mithilfe eines weißen Papierstückes abgebildet und mittels

Schiebelehre vermessen (Abb. 11). Die Petrischale wird mithilfe des höhenjustierbaren Messingtisches in einen Abstand zur Laseraustrittsöffnung von 2,26 cm gebracht.

Über das Tastenfeld des Nd:YAG-Lasers (Abb. 12) werden die Leistungsparameter eingestellt:

- Power (mittlere Leistung) : 0,25 W bis 15 W
- Pulsrate: 10 Hz bis 100 Hz



Abb. 12: Leistungsdisplay des Nd:YAG-Lasers

Der Laser wird mit dem Fußschalter ausgelöst, und mittels Laboruhr wird die Zeit (Bestrahlungsdauer) kontrolliert. Das Scannen erfolgt durch mäanderförmiges gleichförmiges Bewegen der Petrischale in einer Richtung auf dem Messingtisch, wobei visuell/manuell möglichst gleichmäßig die Schale unter dem Laserstrahlfokus geführt wird und so gewährleistet wird, daß über die jeweils festgesetzte Bestrahlungsdauer der 1,4 mm-Fokus alle Bereiche des

Bakterienspots trifft. Mithilfe der Strahlaufweitung auf 1,4 mm Durchmesser können ohne größere technische Probleme die Spotflächen relativ gut gescannt werden. Zur Erhöhung der Scan-Genauigkeit wird mit einer Laserschutzbrille mit Lupensystem und 2,5-facher Vergrößerung gearbeitet. Die klinisch üblicherweise eingesetzte 300 µm-Faser hat gegenüber dem 1,4 mm-Fokus-Spot eine über 20-fach kleinere Querschnittsfläche und wäre zum Scannen der über 1 cm² großen Bakterienspots ungeeignet gewesen. Andererseits entspricht der Bakterienspot flächenmäßig etwa dem 2-fachen der klinisch bestrahlten Fläche einer parodontitisch erkrankten Tasche.

Nach der Bestrahlung jeweils eines Bakterienspots wird dieser einem tabellarischen Meßprotokoll eindeutig zugeordnet und dokumentiert (siehe Anhang, 6.1).

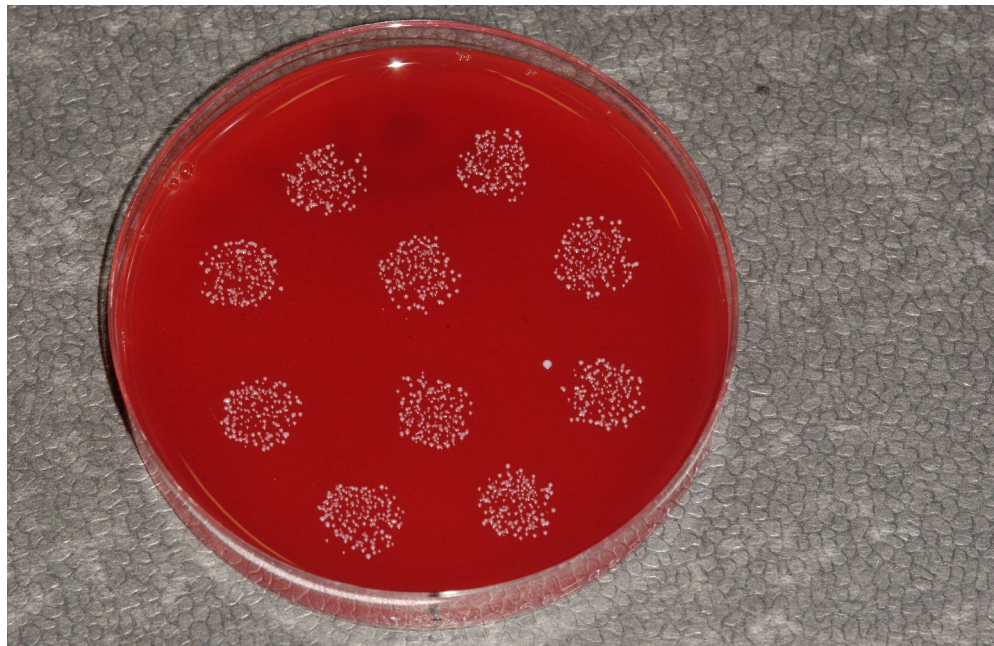


Abb. 13: Typische Blut-Agar-Versuchsplatte mit P.i.-Keim nach Kultivierung: 5 Kontroll-Spots in der oberen Hälfte, 5 Bestrahlungs-Spots in der unteren Hälfte

Nach dem Bebrüten werden die nummerierten Petrischalen identifiziert und mit einer digitalen SLR-Kamera mit Makroobjektiv (f=105mm) und Ringblitzsystem fotografiert (Abb. 13). Danach werden in dem Bildbearbeitungsprogramm Photoshop (Adobe) die Fotos in Kontrast,

Helligkeit und Schärfe optimiert und in ca. 4-facher Vergrößerung mit einem Laserfarbdrucker ausgedruckt.

Das Auszählen der Kolonien erfolgt durch Markieren mit einem wasserfesten Filzstift, wobei auch kleine Kolonien mitgezählt werden.

Die Ergebnisse werden in eine Excel-Tabelle eingetragen (siehe Anhang, 6.1). Die Zielgröße „Prozentuale Keimreduktion“ ist per Formel in der letzten Spalte eingetragen.

In sämtlichen statistischen Analysen (siehe Anhang, 6.2) wurde die prozentuale Keimreduktion als Zielgröße verwendet. Die Auswertung geschieht mit Methoden der Regressions- und Varianzanalyse.

3. Ergebnisse

3.1 3. und 4. Versuchstag

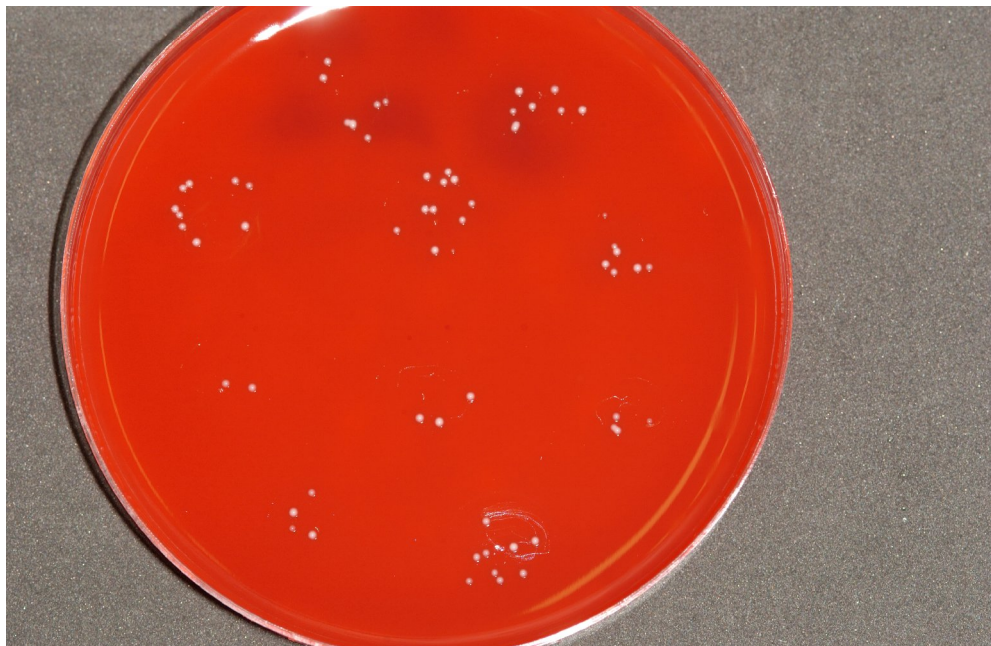


Abb. 14: Ausgesonderte Blutagar-Platte / 3. Versuchstag

Zunächst wurde ausgehend von allen Rohdaten der Versuchstage 1, 2, 3 und 4 eine Modellanpassung durchgeführt. Dabei zeigte sich ein nicht

interpretierbares Bild. Der Grund liegt an den „dünnen“ Daten aus den Versuchstagen 3 und 4 mit durchschnittlichen Koloniezahlen von 5,6 bis maximal 54,6 CFU pro Spot (Abb. 14). Im nächsten Schritt wurden Petrischalen mit durchschnittlich weniger als 20 CFU pro Spot ausgesondert. Nachdem auch hier die Modellanpassung nicht interpretierbare Ergebnisse lieferte, wurden die Versuchstage 3 und 4 aus der statistischen Auswertung ganz herausgenommen.

3.2 Diskussion zu 3. und 4. Versuchstag

Das 4. Ziel der Studie mit der Frage, ob die Verlängerung der Pulsdauer – dieser Versuch wurde zu diesem Zweck gesondert mit dem Nd:YAG-Laser des Fidelis-Plus II der Fa. Fotona durchgeführt - einen Einfluß auf die prozentuale Keimreduktion hat, muß unbeantwortet bleiben, weil der 4. Versuchstag, an dem dies experimentell untersucht werden sollte, statistisch nicht auswertbar ist.

Was ist die Ursache für die partiell niedrige CFU/Spot und das schlechte Kultivierungsergebnis? Bekanntermaßen sind P.i. und A.a. sehr empfindliche und anspruchsvolle Keime, die schwierig zu kultivieren sind¹⁴. Schon geringe Unterschiede in der täglichen Herstellung der Blutagarplatten, z. B. beim Erhitzen des Agars, können sich auf die Ernährungsbedingungen der Bakterien und deren Vermehrung sehr stark auswirken. Wenn schon primär nicht alle Bakterien aus der Suspension sich zu einer CFU ausbilden, werden schlechte Stoffwechselbedingungen zu einer weiteren Selektion führen. Das beeinflusst unsere Zielgröße bei sonst gleicher Laserbestrahlung und schränkt die Vergleichbarkeit zweier tagesunterschiedlicher Blutagar-Platten ein. Erschwerend kommt hinzu, dass die Keimreduktion auf Laserstrahlung bei schlechterem Substratangebot trotz gleicher Fluence erhöht ist²³.

Aus vorgenannten Gründen erschien es angezeigt, die Versuchstage (Versuchstage 1 und 2) getrennt auszuwerten. Hier ergaben sich dann auch erwartungsgemäß statistisch belegbare Aussagen.

3.3 1. Versuchstag

Am 1. Versuchstag wurden alle Proben mit konstanter Pulsrate von 10 Hz für jeweils 30 s bzw. 60 s gescannt, wobei die Leistung beginnend mit 0,5 W bis auf 5 W in 0,5 W-Schritten erhöht wurde. Das entspricht Dosen von 13 J/cm^2 bis 265 J/cm^2 . Ausgehend von einer Pulsrate von 10 Hz und einer Leistungseinstellung mit 5 W wurde in einer weiteren Bestrahlungsreihe die Zeitdauer auf 90 s und 120 s erhöht. Das entspricht Dosen von 398 J/cm^2 und 530 J/cm^2 bei Pulsenergiedichten von $32,5 \text{ J/cm}^2$.

Bei 5 W, 10 Hz und 120 s Applikationszeit kommt es zu einer deutlichen prozentualen Keimreduktion von 48 Prozent (Abb. 15). Das Blutagar dagegen zeigt auch unter Lupenbetrachtung in der Versuchsreihe keinerlei Veränderungen.

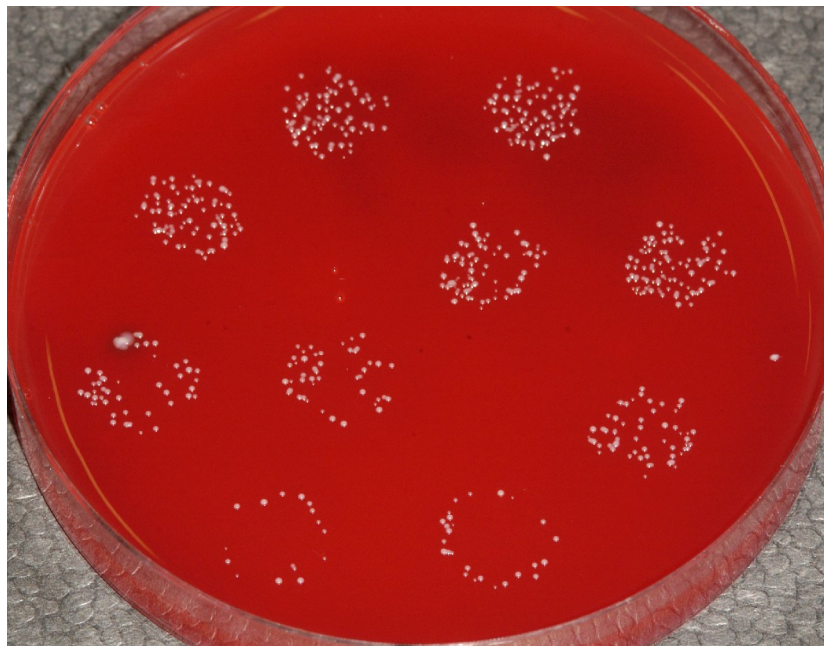


Abb. 15: Ausgeprägte Keimreduktion (48 %) durch Nd:YAG-Laserstrahlung bei 5 W @ 10 Hz @ 120 s

Die statistische Auswertung (siehe Anhang, 6.2) zeigt, dass ein signifikanter Einfluß der Dosis auf die Keimreduktion besteht. Der Regressionskoeffizient $\beta=0.07261$ in der Regressionskurve (Abb. 16) gibt an, dass mit einer Signifikanz

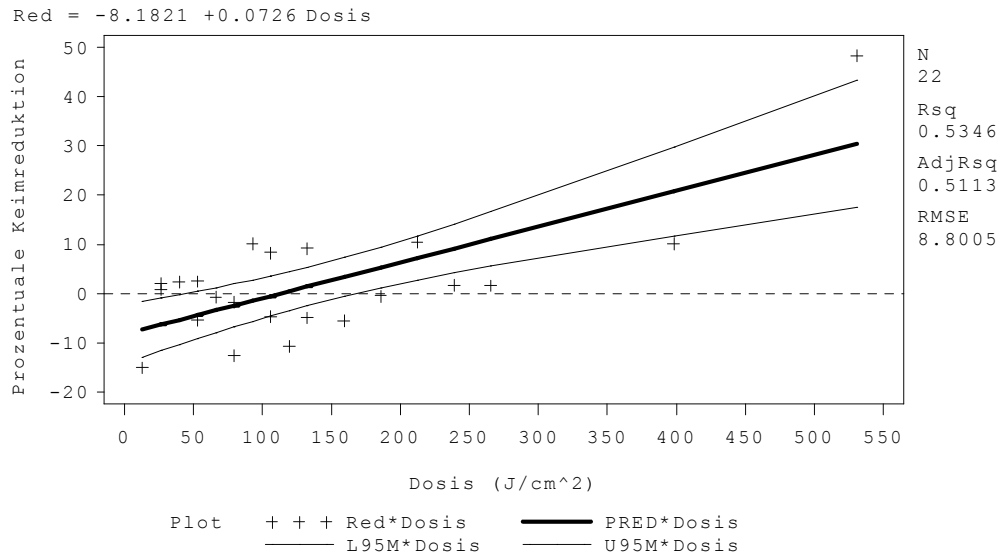


Abb. 16: Prozentuale Keimreduktion und Strahlendosis

von $p=0,0001$ die Erhöhung der Dosis um 1 J/cm^2 eine mittlere Erhöhung der prozentualen Keimreduktion um 0,0726 Prozentpunkte bewirkt.

Das Konfidenzintervall der Regressionsgerade zeigt, dass es unter 170 J/cm^2 keine nachweisbare Keimreduktion gibt. Ab ca. 170 J/cm^2 läßt sich eine signifikante Keimreduktion nachweisen, die mit steigender Dosis zunimmt.

In einem multivariaten Regressionsmodell wurde statistisch geprüft, ob neben der Dosis auch die Bestrahlungszeit bzw. die Leistung einen Einfluß auf die Keimreduktion hat. Dies muß verneint werden. Allein die Dosis hat signifikanten Einfluß auf die Keimreduktion.

3.4 Diskussion zu 1. Versuchstag

Das 1. Ziel der Studie ist erreicht worden:

Die Versuchsanordnung in dieser Studie ist geeignet, mithilfe des gepulsten Nd:YAG-Lasers eine bakterizide Wirkung auf die anaeroben

Prevotella intermedia–Keime auszuüben und eine dosimetrische Untersuchung durchzuführen.

Trotz der relativ langen Bestrahlungsdauer von 5 Bakterienspots mit jeweils bis zu 120 s bei geöffneten Petrischalen unter atmosphärischem Luftsauerstoff und bei Raumtemperatur war die Qualität der Kontrollgruppe statistisch akzeptabel: Die mittlere Keimzahl lag zwischen 26,8 und 127,8 CFU (Abb. 13).

Die beschriebene Versuchsanordnung unterscheidet sich von ähnlichen In-vitro-Untersuchungen durch folgende Besonderheiten:

1. Vitale P.i. und A.a.-Keime mit ca. 30 min Überlebensfähigkeit
2. Bestrahlung im Scan-Modus
3. Blutagar-Platten mit 10 X ca. 1,2 cm² großen Spots
4. Bestrahlung mit Pulsfolge und nicht-ablativer Leistungseinstellung
5. Non-Kontakt-Arbeitsweise mit gepulstem Nd:YAG-Dental-Laser

Der gewählte Laboraufbau nähert sich dem klinischen Modell an, weil kein dichter, gut absorbierender Bakterienrasen bestrahlt wird, sondern vitale, weit auseinanderliegende, nicht sichtbare Einzelbakterien bestrahlt werden und in einem manuellen Scan-Modus mit einer Pulsfolge und nicht mit einem Einzelpuls gearbeitet wird. Aufgrund des Laboraufbaus können die dosimetrischen Ergebnisse nicht mit ähnlichen Studien ^{13,35,36} verglichen werden.

Weiterhin ist in dieser Studie als Zielgröße für die bakterizide Wirkung nicht die sichtbare Ablation eines Bakterienfilms oder einer Bakterienkolonie definiert, sondern die prozentuale Keimreduktion, verursacht durch die Schädigung des „Regrowth“ bzw. der Teilungsfähigkeit der Keime. Die keimreduzierenden Dosen sind nicht vergleichbar mit der Ablationsschwellendosis.

Kritisch muß die Meßgenauigkeit des Laboraufbaus bewertet werden:

1. Die kreisrunde Markierung der Grenzen der Spots erfolgt durch eine Impression und ist beim Scannen nicht immer scharf zu erkennen.
2. Beim Ausplattieren werden die kreisrunden Spotgrenzen oft etwas über- oder unterschritten.
3. Das Scannen erfolgt manuell: Die kreisförmige Fläche gleichmäßig mit dem Laserstrahl abzudecken, ist mit Fehlern behaftet.
4. Beim Auszählen der CFU werden kleine Kolonien mitgezählt. Das ist vor allem bei sehr kleinen Kolonien und bei Kolonien, die sich überlappen, schwierig und mit Fehlern behaftet.

Die Meßungenauigkeiten könnten durch exaktes Markieren der Spotgrenzen, Festlegen eines „inneren“ Meßfeldes und durch Schrittmotor-gestütztes Scannen sicher verbessert werden. Beispielsweise ist in Abb. 15 erkennbar, dass bei Wahl eines inneren Meßfeldes die nicht bestrahlten Keime an der Peripherie der Spots nicht mitgezählt worden wären. Statt einer prozentualen Keimreduktion von 48 Prozent hätte sich nach Korrektur ein Wert von 68 Prozent ergeben, der als realistischer einzustufen ist. Auf diese Korrektur wurde in dieser Studie verzichtet, so dass vor diesem Hintergrund die getroffenen Aussagen noch schwerer wiegen.

Die Vorgabe, Blutagar als Gewebemodell zu benutzen, ist sinnvoll, da dieses Nährmedium Wasser, Hämoglobin und andere organische Bestandteile enthält und ähnliche optische Eigenschaften wie das parodontale Weichgewebe besitzt.

Das Blutagar wird durch die Laserbestrahlung nicht verändert. Erst bei einer Dosis von über 1000 J/cm^2 sind photothermische Effekte mit Erhitzung, Koagulation und Ablation des Gels sichtbar (Abb. 17).

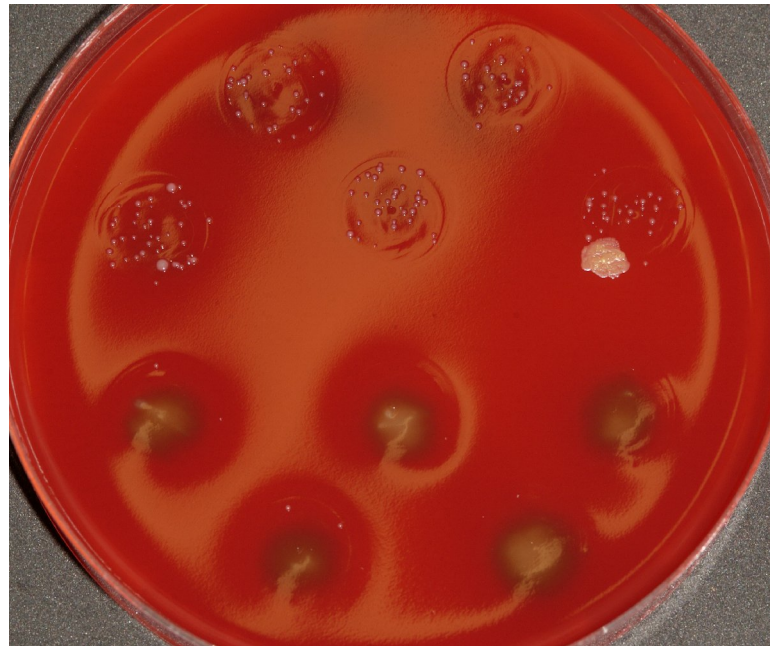


Abb. 17: Sichtbare photothermische Effekte durch Nd:YAG-Laserstrahlung bei 10 W @ 25 Hz @ 120 s mit Dosis 1062 J/cm²

Worauf beruht diese selektive bakterizide Wirkung der Laserstrahlen?

Wenn Laserlicht auf Gewebe und Bakterien trifft, so wird ein Teil des Lichtes reflektiert, ein anderer Teil wird transmittiert und ein weiterer Teil des Lichtes wird gestreut und ein weiterer Teil absorbiert^{5,8}. Die Wirkung der Laserstrahlung auf Gewebe und Bakterien hängt im hohen Maße von deren molekularer Zusammensetzung (Wasser, Hämoglobin, Melanin, Pigmente, Proteine usw.) und dadurch bedingten absorbierten Energie ab. Nur diese absorbierte Energie wird photobiologisch – in dieser Studie kreimreduzierend - wirksam, und daher ist das Absorptionsspektrum der einzelnen Gewebekomponenten von entscheidender Bedeutung.

Bei 1064 nm ist die Absorption durch die Pigmente in *Prevotella intermedia* größer als die Absorption durch Hämoglobin oder Wasser im Nährgel. Daher wird die Laserenergie hauptsächlich in P.i. absorbiert und nicht im Blutagar. Das erklärt die Selektivität der Laserwirkung und die Möglichkeit, Laserstrahlen gezielt antiseptisch einzusetzen. „Pigmente“ sind hierbei lichteinsammelnde Molekülkomplexe mit konjugierten Kohlenstoffdoppelbindungen und

Moleküle mit π -Elektronensystem wie sie in Porphyrin-Strukturen, die wichtige Grundbausteine darstellen, vorkommen³². Die schwarze Pigmentierung von *Prevotella* ist nicht von Melanin verursacht, sondern durch Hämatin (monomeres Eisen III-Protoporphyrin IX), ein Abbauprodukt des Hämoglobins²⁷. Das Hämatin ist an der Zellwand gebunden und kann bis zu 50 Prozent des Trockengewichtes ausmachen in Keimen, die auf Blutagar wachsen. Das Laserlicht löst durch Absorption in diesen Chromophoren photochemische Reaktionen in der Bakterienzelle aus, die zur erhöhten Singulett-Sauerstoffbildung und ATP-Bildung führen. Bei höherer Strahlendosis wirkt das Übermaß an Singulett-Sauerstoff destruktiv. Auch konnte – ähnlich wie bei ionisierender Strahlung - eine Schädigung der Bakterien-DNA und eine Schädigung der Zellwand nachgewiesen werden, abhängig von der Pulsenergiedichte und der Dauer der Bestrahlung^{23,33}. Es sind Reparaturmechanismen in der Bakterienzelle bekannt. Das erklärt, dass erst ab einer bestimmten Dosis die Teilungsfähigkeit der Bakterienzelle irreversibel geschädigt wird. Dies wird auch durch die Ergebnisse des 1. Versuchstages bestätigt.

Die Dosis ist das Produkt aus Bestrahlungsdauer und Leistung und ist bei Laserstrahlung – ähnlich wie bei ionisierender Strahlung - entscheidend für die keimreduzierende Wirkung. In die Dosis geht der für die Laser-Gewebe-Wechselwirkung wichtige Faktor Zeit ein.

Grundlegend hängt die Wirkung der Laserpulse auf Gewebe und Bakterien von der eingestrahlten Energiedichte und der Einwirkzeit der Laserpulse ab⁵. Im wesentlichen kann man eine Unterscheidung in photochemische, photothermische und nichtlineare Prozesse treffen. Dabei kommt es bei:

- geringen Leistungsdichten und langen Einwirkzeiten zu *photochemischen* Vorgängen
- hohen Leistungsdichten und geringeren Einwirkzeiten zu *photothermischen* Reaktionen

- Anwendungen von Leistungsdichten über 10 Megawatt und ultrakurzen Bestrahlungszeiten im Nanosekundenbereich zu *nichtlinearen* Wirkungen

Aufgrund der geringen Pulsenergiedichte und der langen Einwirkzeit von 90 s bzw. 120 s ist der bakterizide Effekt der ersten Versuchsreihe auf photochemische Vorgänge zurückzuführen. Photothermische Effekte, wie das Ausbleichen des Gewebes durch Denaturierung der Proteine (Koagulation) und Vaporisation oder Erwärmung der Proben, waren in den Versuchen des 1. Versuchstages nicht nachzuweisen. Über den Einsatz einer Infrarotkamera könnte ein photothermischer Effekt objektiv ausgeschlossen werden⁴.

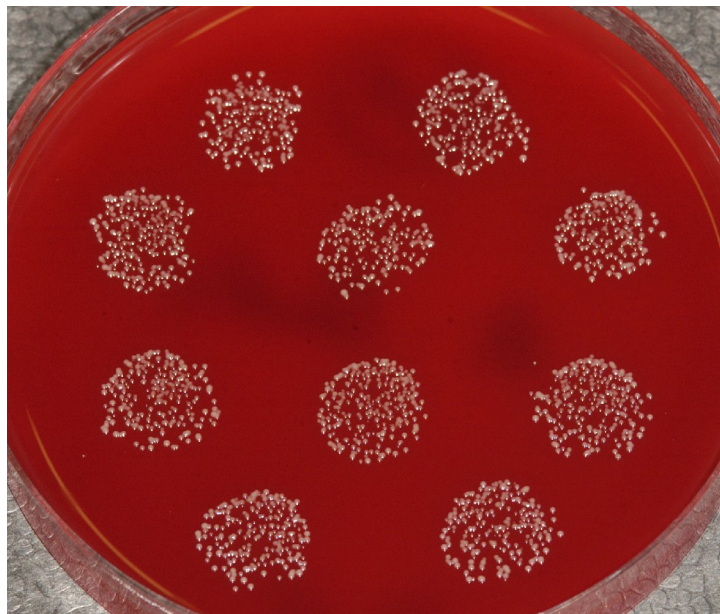


Abb. 18: Mögliche biostimulative Wirkung (hier 15 %ige CFU-Erhöhung) durch Nd:YAG-Laserstrahlung bei 0,5 W @ 10 Hz @ 30 s mit Dosis 13 J/cm²

Biostimulative Wirkung ?

Die Regressionskurve (Abb. 16) ergibt bei Dosen unter 170 J/cm^2 keinen keimreduzierenden Effekt. Bei Dosen unter 100 J/cm^2 ist im Gegenteil eine tendenziell keimerhöhende, wachstumsfördernde Wirkung festzustellen im Sinne einer photobiologischen Stimulation, die allerdings keine statistische Signifikanz erreicht. Die prozentuale Keimerhöhung betrug ca. 15 Prozent bei der niedrigsten Dosis aus der Versuchsreihe mit 13 J/cm^2 , 0,5 W Leistung und 30 s Bestrahlungsdauer (Abb. 18). Dieser stimulierende Effekt auf die Bakterienzellfunktionen ist vergleichbar mit anderen Untersuchungen zur Low Level Laser-Strahlung¹⁵.

3.5 2. Versuchstag – 1. Teil

Am 2. Versuchstag wurden die P.i.-Proben konstant in horizontaler Richtung mit Pulsraten zwischen 10 Hz und 40 Hz und Bestrahlungszeiten zwischen 24 s und 120 s gescannt, wobei die Leistung zwischen 5 W und 15 W eingestellt wurde. Das entspricht Dosen von 265 J/cm^2 bis 530 J/cm^2 .

Die multivariate statistische Auswertung zeigt, dass auch hier ein signifikanter Einfluß der Dosis auf die Keimreduktion besteht. Der Regressionskoeffizient $\beta_1=0.2466740$ gibt an, dass mit einer Signifikanz von $p=0,0021$ die Erhöhung der Dosis um 1 J/cm^2 bei konstanter Pulsrate eine mittlere Erhöhung der prozentualen Keimreduktion um 0,247 Prozentpunkte bewirkt.

Neben der Dosis hat auch die Pulsrate einen signifikanten Einfluß auf die prozentuale Keimreduktion. Der Regressionskoeffizient $\beta_2=1.9572221$ gibt an, dass mit einer Signifikanz von $p=0,0326$ eine Erhöhung der Pulsrate um 1 Hz bei konstanter Dosis eine mittlere Erhöhung der prozentualen Keimreduktion um ca. 2 Prozentpunkte bewirkt.

3.6 Diskussion zu 2. Versuchstag – 1. Teil

Das 2. Ziel der Studie ist erreicht:

Es ist nachgewiesen worden, dass durch Erhöhung der Pulsrate die bakterizide Wirkung erhöht wird. Das ist nicht selbstverständlich, da durch Erhöhung der Pulsrate die Dosis nicht erhöht wird. Bei erhöhter Pulsrate erniedrigt sich sogar die Einzelpulsenergie und damit die Fluence: Die mittlere Leistung verteilt sich jedoch auf eine höhere Zahl von niedrigeren Einzelpulsen. Diese können offensichtlich biologisch einen stärkeren photochemischen Effekt auslösen, da die Erholungspausen für den Stoffwechsel der Bakterien kürzer werden. Der höhere bakterizide Effekt bei höherer Pulsrate mit niedrigerer Einzelpulsenergie legt den Vergleich mit der Abtragsleistung mittels Er:YAG-Laser bei unterschiedlicher Pulsrate nahe. Auch hier ist die Abtragsleistung deutlich erhöht, wenn statt mit niedriger Pulszahl und hoher Pulsenergie mit höherer Pulsrate und niedrigerer Pulsenergie gearbeitet wird.

Mit Erhöhung der Pulsraten ist neben dem gewünschten erhöhten photobiologischen Effekt die erhöhte Akkumulation von thermischem Energieeintrag in dem Zielgewebe zu beachten, auch wenn die Pulspause wesentlich länger als die thermische Relaxationszeit der Zielstruktur ist¹. Bei höherer Leistung ist dann auch ein photothermischer Effekt mit Hyperthermie und Koagulation zu erwarten. Neben der bakteriziden Wirkung erhöht sich auch der thermische Einfluß auf umgebendes Gewebe.

Da klinisch gewünscht ist, mit höherer bakterizider Effizienz zu arbeiten ohne die Dosis (über Leistung und Bestrahlungsdauer) erhöhen zu müssen, legen die vorliegenden Ergebnisse nahe, statt wie bisher mit der Einstellung 2 W @ 20 Hz zu arbeiten, stattdessen mit 2 W @ 30 Hz zu arbeiten. Hierbei sind bei einem Einstrahlwinkel tangential zur Wurzeloberfläche biophysikalisch keine Schädigungen der Wurzeloberfläche zu erwarten.

Möglicherweise sind noch höhere Pulsraten zu empfehlen, sofern In-

vivo-Studien ein erhöhtes Risiko für Schädigungen der Wurzeloberfläche ausschließen können.

3.7 2. Versuchstag – 2. Teil

Am 2. Versuchstag / 2. Teil wurden die Petrischalen mit P.i.-Proben bei unterschiedlichen Bestrahlungsparametern einmal in horizontaler Scan-Richtung bestrahlt und dann sowohl horizontal als auch vertikal. Die gleiche Versuchsreihe wurde anschließend mit Petrischalen mit A.a.-Proben durchgeführt.

Die statistische Auswertung zeigt, dass möglicherweise eine Wechselwirkung zwischen der Art der Keime (P.i. bzw. A.a.) und der Scan-Richtung besteht. Bei P.i.-Keimen ist die Scan-Richtung horizontal + vertikal tendenziell schlechter als die horizontale Richtung ($p=0.0955$). Bei den A.a.-Keimen lässt sich kein Unterschied beider Scan-Richtungen nachweisen ($p=0.4800$).

Außerdem zeigt sich, dass bei den A.a.-Keimen die Keimreduktion schlechter gelingt als bei den P.i.-Keimen. Diese Aussage ist allerdings differenziert zu betrachten. Bei horizontaler Scan-Richtung ist die Keimreduktion bei den A.a.-Keimen mit einer Signifikanz von $p=0.0019$ um 56.6 Prozentpunkte geringer als bei den P.i.-Keimen. Bei der Scan-Richtung horizontal + vertikal ist der Unterschied zwischen beiden Keimen geringer und erreicht keine statistische Signifikanz ($p=0.3730$).

3.8 Diskussion zu 2. Versuchstag – 2. Teil

Das 3. Ziel der Studie ist erreicht:

Es konnte gezeigt werden, dass der Scan-Modus bei A.a.-Keimen gleichwertig ist, bei P.i.-Keimen der horizontale Scan-Modus tendenziell günstiger erscheint. Die Scan-Genauigkeit und damit die Sicherheit, auch alle Bakterien mit dem Laserstrahl zu treffen, ist in

horizontalen Richtung genauso gut bzw. tendenziell günstiger als die aufwändige horizontale und vertikale Scan-Methode. Klinisch wird üblicherweise vom Taschenfundus aus in horizontaler Richtung gescannt und langsam die Glasfaser nach coronal geführt. Die vorliegende Studie zeigt, dass an dieser Scanmethode bezüglich der Scanrichtung und der Scangenaugigkeit nichts zu beanstanden ist.

Die Studie gibt weiterhin Antwort auf die Frage, ob P.i.-Keim und A.a.-Keim unterschiedlich empfindlich gegenüber Laserstrahlung sind. Der A.a.-Keim reagiert auch auf Nd:YAG-Laserstrahlung, jedoch ist er deutlich weniger empfindlich. Klinisch ist der A.a.-Keim bekannt dafür, relativ schwierig auch mittels Laserstrahlen eliminiert zu werden. Das liegt daran, dass der Keim relativ transparent ist und kaum chromophore Zellbestandteile wie *Prevotella intermedia* aufweist. Demgemäß funktioniert die Keimreduktion nur bei höheren – auch photothermisch wirksamen – Dosen. Die große Wirkungslücke gegenüber dem P.i.-Keim ist klinisch relevant und wird durch die vorliegende Studie belegt: So wird bei horizontalem Scan-Modus der P.i.-Keim bei 10W, 25 Hz und 60s zu 75 Prozent reduziert, der A.a.-Keim jedoch nur zu 6 Prozent (Abb. 19)!

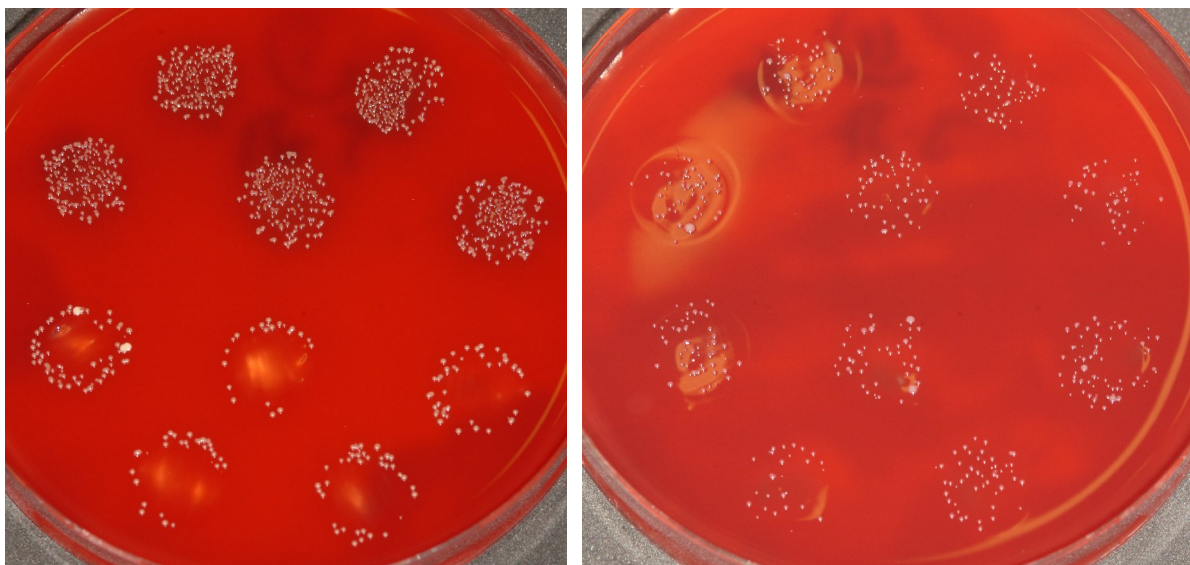


Abb. 19: P.i.-Keim (li.) und A.a.-Keim (re.) nach Nd:YAG-Laserbestrahlung mit gleichen Dosen, hier bei 10 W @ 25 Hz @ 60 s mit Dosis 531 J/cm^2 : Proz. Keimreduktion P.i.-Keim ca. 75 % und A.a.-Keim ca. 6 %

Eine Möglichkeit, die Wirkung der Laserstrahlen auf den A.a.Keim zu erhöhen, stellt die PDT-Therapie dar³⁷. Hier werden die Zellwände der A.a.-Keime mit Photosensitizer angefärbt. Durch Lichtinduktion werden die Sensitizer angeregt und hochreaktiver Singulett-Sauerstoff gebildet, der die Zellwände zerstört. Da der gepulste Nd:YAG-Laser den Vorteil großer Transmission und hoher Eindringtiefe mit sich bringt und seine bakterizide Effizienz gegenüber den anderen parodontopathogenen Keimen bewiesen hat, besteht die Gefahr, dass bei Einsatz eines nicht geeigneten Photosensitizers diese Vorteile verspielt werden. Es wäre denkbar, einen Photosensitizer zu verwenden, der besonders gut an A.a.-Keime bindet und der ein Absorptionsspektrum hat, das bei 1064 nm eine vergleichbar hohe Absorption hat wie die Prevotella-Keime.

4. Zusammenfassung

Die keimreduzierende Wirkung von gepulster Nd:YAG-Laserstrahlung auf parodontopathogene Keime ist klinisch und in vitro belegt. Viele Fragen zur Dosis-Wirkungsbeziehung bei unterschiedlichen Laserparametern (Power, Pulsrate, Pulsdauer, Fluence, Applikationszeit) sind jedoch offen. Ziel dieser Studie war es, eine Methode anzuwenden, die relativ einfach ist und der klinischen Realität möglichst nahe kommt (Scanmodus, Dauerpuls, Blutagar-Gewebemodell), um unterschiedliche Parameter-Einstellungen des Nd:YAG-Dentallasers hinsichtlich der prozentualen Keimreduktion auf zwei bekannte Leitkeime (Prevotella intermedia und Actinobacillus actinomycetemcomitans) zu testen. Aufgrund der hohen Sensibilität der Keime gegenüber geringfügig unterschiedlicher Blutagar-Zusammensetzung wurden die Versuchsreihen getrennt ausgewertet.

Ergebnis der Studie ist, dass die prozentuale Keimreduktion durch Nd:YAG-Laserstrahlung dosisabhängig ist (Dosis = Leistungsdichte x Applikationszeit) und die prozentuale Keimreduktion erst ab einem bestimmten Schwellenwert einsetzt.

Ein weiteres Ergebnis ist, daß bei dem P.i.-Keim (aufgrund der Hämatin-Pigmente) die Keimreduktion mit niedriger Leistungseinstellung auf photochemischem Weg erreicht werden kann. Die prozentuale Keimreduktion bei dem A.a.-Keim gelingt dagegen (aufgrund fehlender Pigmente) nur bei hoher Dosis und hoher Leistungseinstellung durch photothermischen Effekt. Die Wirkungslücke zwischen A.a.-Keim und P.i.-Keim ist gravierend. Photothermische Effekte am Blutagar selbst sind nur bei sehr hohen Dosen (über 1000 J/cm²) sichtbar (Abb. 16).

Die Studie belegt weiterhin, dass beim Scan-Modus - horizontales Scannen versus horizontales + vertikales Scannen - keine wesentlichen Unterschiede in der prozentualen Keimreduktion festzustellen sind.

Weiterhin zeigt die Studie eine - klinisch bedeutsame - Verstärkung der prozentualen Keimreduktion durch Erhöhung der Pulsrate: Durch Erhöhung der Pulsrate um 10 Hz kann die prozentuale Keimreduktion um 20 Prozentpunkte gesteigert werden, ohne dass hierbei Dosis oder andere Parameter verändert werden.

Die relativ einfache Versuchsanordnung erwies sich als geeignet, mit den schwierig zu kultivierenden anaeroben parodontopathogenen Keimen *Prevotella intermedia* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in einem Bestrahlungszeitfenster von ca. 30 Minuten unterschiedliche Bestrahlungsparameter zu testen.

5. Summary

Bactericidal Effect of the Pulsed Nd:YAG Laser on *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

A Dosimetric In-vitro Study

The bactericidal effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on periodontally pathogenic germs has been proven clinically and by in-vitro tests. A lot of questions remain unanswered regarding dose effect relationship using different laser parameters (power, pulse frequency, pulse duration, fluence, application time). The purpose of this study was to use a method being relative simple and as close as possible to clinical reality (scan mode, pulse repetition, blood agar-tissue model) in order to prove the impact of different settings of the Nd:YAG dental laser on the percentage reduction of two well-known marker germs (*Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*). As these bacterias are highly sensitive on the composition of blood agar the test series are separately analyzed.

A result of this study is that the percentage germ reduction by Nd:YAG laser irradiation is dose dependent (dose = power density x application time), and the percentage reduction starts at a certain threshold dose .

A further result is that the reduction of the p.i. germ (because of its h  matin pigments) can be achieved with low power settings by photochemical effect. However the percentage reduction of the a.a. germ is only possible (because of missing pigments) with high dose and high power setting by photothermal effect. The efficiency gap between the a.a. germ and the p.i. germ is aggravating. Photothermal effects on the blood agar itself are only visible with very high doses (over 1000 J/cm²).

The study further proves that the scan mode – horizontal scanning versus horizontal + vertical scanning – doesn't produce any differences

in percentage germ reduction.

Further this study shows a - clinically important – amplification of the percentage germ reduction by increasing the pulse rate: By increasing the pulse rate 10 Hz the germ reduction can be enhanced 20 percentage points without increasing the dose or any other settings.

Finally the relatively simple experimental system proved as qualified to test different irradiation laser parameters on the difficult cultivable anaerobic germs *prevotella intermedia* and *actinobacillus actinomycetemcomitans* within an irradiation window of about 30 minutes.

6. Anhang

6.1 Versuchsübersicht und Datentabelle

Datenspalten von links nach rechts:

1. Laufende Nr. des Versuchs
2. Interne Versuchsnr.
3. Foto-Schlüssel-Nr.
4. Versuchs-Datum
5. Keimart (P.i. bzw. A.a.)
6. Scanmethode (horizontal bzw. horizontal+vertikal)
7. Pulsdauer (μs)
8. Leistung (Watt)
9. Pulsrate (Hz)
10. Applikationszeit (s)
11. Pulsenergie (mJ)
12. Pulsenergiedichte (J/cm^2), berechnet aus Pulsenergie bezogen auf Fokusfläche mit 1,4 mm Durchmesser ($15,39 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$).
13. Pulsleistungsdichte = Pulsenergiedichte x Pulsrate (W/cm^2)
14. Applizierte Energie pro Bakterien Spot (J/Spot)
15. Dosis (J/cm^2), berechnet aus applizierter Energie bezogen auf Spotfläche mit 1,2 cm Durchmesser, das sind $1,13 \text{ cm}^2$.
16. Kontroll-Spots K1 bis K5 (Zahl der CFU, colony forming units)
17. Laser-Spots L1 bis L5 (Zahl der CFU, colony forming units)
18. Differenz: Mittelwert von L1-L5 minus Mittelwert K1-K5
19. Prozentuale Keimreduktion= Differenz/Mittelwert K1-K

Versuchsübersicht

LNr	Nr	Foto	Datum	Kelim	Scan	Pulsdur.	Power	Pulsrate	Zeit	P energy	P fluence	L.leist.di.	Dos/Spot	Dosis	K1	K2	K3	K4	K5	L6	L7	L8	L9	L10	Diff.	Red
						us	Watt	Hz	s	mJ	J/cm²	W/cm²	J/Spot	J/cm²											%	
29	7	2824	05.07.2006	A a	horiz	100.0	4.00	10.0	120.0	400.0	26.0	259.9	480.0	424.77	48	53	48	51	53	53	53	52	53	62		
																								-4		
30	8	2826	05.07.2006	A a	horiz + vert	100.0	4.00	10.0	120.0	400.0	26.0	259.9	480.0	424.77	53	61	60	51	51	51	52	43	45	48		
																								7.4		
31	9	2827	05.07.2006	A a	horiz	100.0	5.00	15.0	120.0	330.0	21.4	324.9	600.0	530.97	56	52	49	57	48	63	65	67	62	58		
																								-10.6		
32	10	2828	05.07.2006	A a	horiz + vert.	100.0	5.00	15.0	120.0	330.0	21.4	324.9	600.0	530.97	38	46	57	52	52	49	58	56	50	52		
																								-4		
33	11	2829	05.07.2006	A a	horiz	100.0	10.00	25.0	60.0	400.0	26.0	649.8	600.0	530.97	45	48	45	48	38	46	43	51	25	45		
																								-8		
34	12	2832	05.07.2006	A a	horiz + vert	100.0	10.00	25.0	60.0	400.0	26.0	649.8	600.0	530.97	49	46	36	62	36	37	52	44	30	38		
																								5.6		
35	13	2835	05.07.2006	P i	horiz	100.0	7.50	15.0	80.0	600.0	32.5	487.3	600.0	530.97	127	139	119	107	122	52	49	34	29	14		
																								87.2		
36	14	2838	05.07.2006	P i	horiz	100.0	10.00	20.0	60.0	500.0	32.5	649.8	600.0	530.97	127	133	119	132	124	45	41	8	17	6		
																								103.6		
37	15	2842	05.07.2006	P i	horiz.	100.0	12.50	25.0	48.0	500.0	32.5	812.2	600.0	530.97	116	113	119	117	117	38	25	16	6	16		
																								95.8		
38	18	2845	05.07.2006	P i	horiz	100.0	12.50	25.0	24.0	500.0	32.5	812.2	300.0	265.48	94	108	103	101	99	102	113	107	103	112		
																								-6.4		
39	19	2847	05.07.2006	P i	horiz	100.0	10.00	20.0	45.0	500.0	32.5	649.8	450.0	398.23	88	96	111	110	106	50	48	56	23	25		
																								61.8		
40	20	2849	05.07.2006	P i	horiz	100.0	10.00	20.0	30.0	500.0	32.5	649.8	300.0	265.48	102	102	106	85	114	102	89	96	90	96		
																								6.8		
41	21	2852	05.07.2006	P i	horiz	100.0	7.50	20.0	80.0	370.0	24.0	487.3	600.0	530.97	92	106	94	110	91	53	42	33	21	22		
																								64.4		
42	22	2853	05.07.2006	P i	horiz	100.0	12.50	30.0	48.0	410.0	26.6	812.2	600.0	530.97	105	59	93	74	96	18	28	24	1	2		
																								78.8		
43	23	2858	05.07.2006	P i	horiz	100.0	15.00	40.0	40.0	370.0	24.0	974.7	600.0	530.97	86	81	76	73	89	17	10	11	0	2		
																								73		
44	1	2988	10.07.2006	P i	horiz	100.0	4.00	10.0	240.0	400.0	26.0	259.9	960.0	849.55	45	39	45	48	49	48	44	39	25	28		
																								8.4		
45	2	3002	10.07.2006	P i	horiz	100.0	4.50	10.0	240.0	450.0	29.2	262.4	1080.0	955.75	32	41	39	43	46	17	16	28	11	20		
																								21.8		
46	3	3004	10.07.2006	P i	horiz	100.0	8.00	20.0	40.0	400.0	26.0	519.8	320.0	283.16	23	16	19	19	27	23	21	12	19	27		
																								0.4		
47	4	3005	10.07.2006	P i	horiz	100.0	15.00	30.0	30.0	500.0	32.5	974.7	450.0	398.23	10	13	9	9	14	9	5	5	4	6		
																								5.2		
48	5	3007	10.07.2006	P i	horiz	100.0	12.50	25.0	30.0	500.0	32.5	812.2	375.0	331.85	10	12	14	8	16	9	9	12	5	9		
																								3.2		
49	6	3009	10.07.2006	P i	horiz	100.0	5.00	100.0	80.0	50.0	3.2	324.9	400.0	353.98	7	7	9	10	7	2	3	4	4	9		
																								3.6		
50	7	3011	10.07.2006	P i	horiz	100.0	7.50	100.0	80.0	70.0	4.5	487.3	600.0	530.97	4	1	1	3	2	1	3	1	0	3		
																								0.6		
51	1	3014	10.07.2006	A a	horiz	100.0	7.50	100.0	80.0	70.0	4.5	487.3	600.0	530.97	30	37	30	25	31	17	26	21	24	20		
																								9		
52	2	3017	10.07.2006	A a	horiz	100.0	10.00	50.0	60.0	200.0	13.0	649.8	600.0	530.97	24	27	32	23	29	15	22	11	13	11		
																								12.6		
53	3	3019	10.07.2006	A a	horiz.	100.0	10.00	25.0	120.0	400.0	26.0	649.8	1200.0	1061.94	26	21	32	24	26	0	0	0	0	0		
																								25.8		
54	4	3023	10.07.2006	A a	horiz	100.0	10.00	100.0	60.0	100.0	6.5	649.8	600.0	530.97	30	29	29	31	31	20	22	11	9	5		
																								16.6		
55	5	3025	10.07.2006	A a	horiz	100.0	12.50	25.0	60.0	500.0	32.5	812.2	750.0	663.71	22	29	18	30	24	8	12	8	4	7		
																								16.8		
56	6	3027	10.07.2006	A a	horiz	100.0	7.50	50.0	60.0	150.0	9.7	487.3	450.0	398.23	28	25	20	23	29	17	18	26	27	22		
																								3		
57	7	3029	10.07.2006	A a	horiz	100.0	5.00	100.0	80.0	50.0	3.2	324.9	400.0	353.98	29	22	22	25	28	23	20	15	27	21		
																								4		
58	8	3031	10.07.2006	A a	horiz	100.0	12.50	50.0	30.0	250.0	16.2	812.2	375.0	331.85	15	19	14	19	19	16	18	17	17	16		
																								0.4		

LNr	Nr	Foto	Datum	Keim	Scan	Pulsdur.	Power	Pulsrate	Zeit	P.energy	P.fluence	L.leist.di.	Dos/Spot	Dosis	K1	K2	K3	K4	K5	L6	L7	L8	L9	L10	Diff.	Red
						µs	Watt	Hz	s	mJ	J/cm²	W/cm²	J/Spot	J/cm²												
59	1	3077	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	5,00	10,0	120,0	500,0	32,5	324,9	600,0	530,97	42	65	57	60	49	50	36	47	44	51		
60	2	3078	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	5,00	10,0	105,0	500,0	32,5	324,9	525,0	464,60	41	45	44	43	50	34	34	37	40	45	9	
61	3	3079	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	4,50	10,0	133,0	450,0	29,2	292,4	598,5	529,64	33	36	33	35	36	22	33	33	33	28	6,6	
62	4	3080	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	5,00	15,0	120,0	330,0	21,4	324,9	600,0	530,97	19	21	19	22	16	20	24	14	15	27	4,8	
63	5	3081	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	6,00	15,0	100,0	400,0	26,0	389,9	600,0	530,97	19	20	17	19	17	16	13	11	18	16	-0,6	
64	6	3082	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	6,50	15,0	92,0	430,0	27,9	422,4	598,0	529,20	18	9	15	14	15	11	8	10	8	2	3,6	
65	7	3083	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	25,0	80,0	300,0	19,5	487,3	600,0	530,97	14	24	14	16	24	7	12	14	8	5	6,4	
66	8	3084	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	30,0	80,0	250,0	16,2	487,3	600,0	530,97	13	22	15	11	17	16	12	11	12	7	9,2	
67	9	3085	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	40,0	80,0	180,0	11,7	487,3	600,0	530,97	9	16	11	12	10	12	12	9	7	9	4	
68	10	3086	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	70,0	80,0	100,0	6,5	487,3	600,0	530,97	13	5	4	11	15	7	4	4	6	9	1,8	
69	11	3087	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	100,0	80,0	70,0	4,5	487,3	600,0	530,97	33	27	28	26	25	21	22	21	15	15	3,6	
70	12	3088	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	6,00	20,0	100,0	300,0	19,5	389,9	600,0	530,97	24	20	19	15	17	13	17	19	13	14	9	
71	13	3089	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	6,00	30,0	100,0	200,0	13,0	389,9	600,0	530,97	8	4	9	12	10	1	5	3	3	1	3,8	
72	14	3090	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	5,00	20,0	120,0	250,0	16,2	324,9	600,0	530,97	8	6	6	5	3	5	5	0	2	3	6	
73	15	3091	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	5,00	30,0	120,0	160,0	10,4	324,9	600,0	530,97	24	32	26	29	28	19	19	24	25	18	2,6	
74	16	3092	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	15,0	60,0	500,0	32,5	487,3	450,0	398,23	28	27	39	34	28	21	16	27	14	19	6,8	
75	17	3093	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	20,0	60,0	370,0	24,0	487,3	450,0	398,23	14	17	17	13	15	6	14	8	12	20	11,8	
76	18	3094	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	10,00	40,0	60,0	250,0	16,2	649,8	600,0	530,97	6	7	6	7	7	2	2	3	2	1	3,2	
77	19	3095	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	15,0	80,0	500,0	32,5	487,3	600,0	530,97	24	13	19	14	16	12	7	14	7	7	4,6	
78	20	3096	27.07.2006	P.I.	hontz	300,0	7,50	15,0	80,0	500,0	32,5	487,3	600,0	530,97	12	9	14	17	10	8	8	7	6	6	7,8	
79	21	3097	27.07.2006	P.I.	hontz	600,0	7,50	15,0	80,0	500,0	32,5	487,3	600,0	530,97	5	10	8	4	8	2	2	5	1	6	5,4	
80	22	3098	27.07.2006	P.I.	hontz	100,0	7,50	20,0	80,0	370,0	24,0	487,3	600,0	530,97	19	18	18	11	11	15	7	15	9	9	3,8	
81	21	3099	27.07.2006	P.I.	hontz	300,0	7,50	20,0	80,0	370,0	24,0	487,3	600,0	530,97	17	10	13	9	13	7	9	7	3	2	4,4	
82	22	3100	27.07.2006	P.I.	hontz	600,0	7,50	20,0	80,0	370,0	24,0	487,3	600,0	530,97	6	8	9	12	6	3	6	2	7	5	6,8	
																							</			

6.2 Statistische Auswertung

26.06.2006 – 1. Versuchstag

The REG Procedure
Model: MODEL1
Dependent Variable:
Red Prozentuale Keimreduktion

Number of Observations Read	22
Number of Observations Used	22

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	1779.04064	1779.04064	22.97	0.0001
Error	20	1548.96462	77.44823		
Corrected Total	21	3328.00526			

Root MSE	8.80047	R-Square	0.5346
Dependent Mean	2.11374	Adj R-Sq	0.5113
Coeff Var	416.34630		

Parameter Estimates						
Variable	Label	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	Intercept	1	-8.18210	2.85222	-2.87	0.0095
Dosis	Dosis (J/cm^2)	1	0.07261	0.01515	4.79	0.0001

05.07.2006 – 2. Versuchstag
Keime P.i., Scan = 'horiz.'

The GLM Procedure

Dependent Variable:
Red Prozentuale Keimreduktion

Number of Observations Read	12
Number of Observations Used	12

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	11200.62149	5600.31074	14.15	0.0017
Error	9	3562.20675	395.80075		
Corrected Total	11	14762.82824			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Red Mean
0.758704	37.91099	19.89474	52.47750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Dosis	1	7168.359866	7168.359866	18.11	0.0021
Pulsrate	1	2520.781184	2520.781184	6.37	0.0326

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	-105.8943685	30.34211883	-3.49	0.0068
Dosis	0.2466740	0.05796312	4.26	0.0021
Pulsrate	1.9572221	0.77555187	2.52	0.0326

05.07.2006 – 2. Versuchstag
Keime P.i. und A.a.

The GLM Procedure

Dependent Variable:
Red Prozentuale Keimreduktion

Class Level Information		
Class	Levels	Values
Scan	2	horiz. horiz.+ vert.
Keim	2	A.a. P.i.

Number of Observations Read	21
Number of Observations Used	21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	46175.30948	7695.88491	15.64	<.0001
Error	15	7378.64683	491.90979		
Uncorrected Total	21	53553.95631			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Red Mean
0.759705	67.24104	22.17904	32.98438

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Dosis	1	5561.523106	5561.523106	11.31	0.0043
Pulsrate	1	2660.612928	2660.612928	5.41	0.0345
Scan	1	166.476142	166.476142	0.34	0.5694
Keim	1	4746.749299	4746.749299	9.65	0.0072
Scan*Keim	1	1413.391271	1413.391271	2.87	0.1107

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Keim 'A.a.' vs. 'P.i.' bei Scan 'horiz.'	-56.5737834	15.0791563	-3.75	0.0019
Keim 'A.a.' vs. 'P.i.' bei Scan 'horiz.+ vert.'	-16.6289656	18.1091098	-0.92	0.3730
Scan 'horiz.+vert.' vs. 'horiz.' bei Keimen P.i.	-26.8269005	15.0791563	-1.78	0.0955
Scan 'horiz.+vert.' vs. 'horiz.' bei Keimen A.a.	13.1179173	18.1091098	0.72	0.4800

Parameter	Estimate		Standard Error	t Value	Pr > t
Dosis	0.2058041		0.06120682	3.36	0.0043
Pulsrate	1.6832045		0.72375030	2.33	0.0345
Scan horiz.	-80.7646599	B	29.17787994	-2.77	0.0144
Scan horiz.+ vert.	-107.5915604	B	31.93809302	-3.37	0.0042
Keim A.a.	-16.6289656	B	18.10910984	-0.92	0.3730
Keim P.i.	0.0000000	B	.	.	.
Scan*Keim horiz. A.a.	-39.9448179	B	23.56524588	-1.70	0.1107
Scan*Keim horiz. P.i.	0.0000000	B	.	.	.
Scan*Keim horiz.+ vert. A.a.	0.0000000	B	.	.	.
Scan*Keim horiz.+ vert. P.i.	0.0000000	B	.	.	.

Note: The X'X matrix has been found to be singular, and a generalized inverse was used to solve the normal equations. Terms whose estimates are followed by the letter 'B' are not uniquely estimable.

7. Literaturverzeichnis

1. Choi, B. and Welch, A.J., Analysis of thermal relaxation during laser irradiation of tissue. 2001. Lasers Surg. Med. 29(4). 351-359.
2. Cobb CM, McCawley TK, Killoy WJ. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG laser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. J Periodontol 1992; 63(8):701-7.
3. Coluzzi D. J.: Atlas of laser applications in dentistry. - Chicago [u.a.] : Quintessenz Publ., 2007
4. Duvnjak N, Experimentelle Untersuchung laserinduzierter Temperaturfelder und deren Einfluß auf die optischen Eigenschaften von biologischen Geweben. 1996; Dipl.arbeit FU Berlin
5. R. Franzen, J. Meister, C. Apel. „Grundlagen der Laserzahnheilkunde Teil III: Die Licht-Gewebe-Wechselwirkung“. LaserZahnheilkunde, Vol. 3: 199-204 (2004).
6. Frentzen M: Laser in der Parodontaltherapie. Eine kritische Übersicht. Schweiz Monatsschr Zahnmed 103, 1585-1592 (1993).
7. Greenwell H, DM Harris, K Pickman, J Burkart, F Parkins, T Myers. Clinical evaluation of Nd:YAG laser curettage on periodontitis and periodontal pathogens. J Dent Res 1999; 78:138
8. Gutknecht N. Lasertherapie in der zahnärztlichen Praxis. Berlin: Quintessenz Verlag; 1999
9. Gutknecht N, Fischer J, Conrads G, Lampert F. Bacterial effect of the Nd:YAG Lasers in laser supported curettage. SPIE 1997; 2973: 221-226.
10. Gutknecht N, P. Raoufi, R. Franzen, F. Lampert, "Reduction of Specific Micro-Organisms in the Periodontal Pockets with the Aid of an Nd:YAG Laser – an in vivo Study", Journal of Oral Laser Applications, Vol. 2, No. 3, 175-179, 2002.
11. Harris DM, RH Gregg, DK McCarthy, LE Colby, LV Tilt. Sulcular debridement with pulsed Nd:YAG. SPIE Proc 2002; 4610:49-58.

12. Harris DM, Dosimetry for laser sulcular debridement. 2003. Lasers in Surgery and Medicine 33:217-218.
13. Harris DM. Laser antiseptics of *Porphyromonas gingivalis* in vitro with dental lasers. 2004. SPIE Proceedings 5313-22.
14. Jervøe-Strom PM, Koltzsch M, Falk W, Dörfler A, Jepsen S: Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. Journal of Clinical Periodontology 32, 778-783 (2005).
15. Karu T.I., O.A.Tiphlova, V.S.Letokhov, V.V.Lobko "Stimulation of *E.coli* growth by laser and incoherent red light". Il Nuovo Cimento D, 2(4), 1138-1144, 1983.
16. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. J Clin Periodontol. 1986; 13:418-430.
17. Listgarten MA. The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. J Clin Periodontol. 1988; 15: 485-487.
18. Löe H. Physiology of the gingival pocket. Acad Calif Acad Periodontol. 1965; 13: 6-14.
19. Maeda N, Okamoto M, Kondo K, Ishikawa H, Osada R, Tsurumoto A, Fujita H. Incidence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in periodontal health and disease. Microbiol Immunol. 1998;42(9):583-9
20. Moritz, A. et al.: Orale Lasertherapie. Quintessenz Verlag Berlin. 2006.
21. Morlock BJ, Pippin DJ, Cobb CM, Killoy WJ, Rapley JW. The effect of Nd:YAG laser exposure on root surfaces when used as an adjunct to root planing: an in vitro study. J Periodontol 1992; 63(7):637-41.
22. Nandakumar K, Shinozaki T, Obika H, Ooie T, Utsumi A, Yano T. Impact of pulsed Nd:YAG laser on the marine biofilm-forming bacteria *Pseudoalteromonas carrageenovora*: significance of physiological status. Can J Microbiol. 2002 Apr;48(4):326-32
23. K. Nandakumar, H. Obika, A. Utsumi, T. Ooie, T. Yano (2006) Molecular level damages of low power pulsed laser radiation in a marine bacterium *Pseudoalteromonas carrageenovora* Letters in Applied Microbiology 42 (5), 521–526.

24. Neill ME, JT Mellonig. Clinical efficacy of the Nd:YAG Laser for Combination Periodontitis Therapy. Pract Periodontics Aesthet Dent. 1997;9(6 Suppl):1-5.
25. Rose JE, Meyer DH, Fives-Taylor PM (2003) Aae, an autotransporter involved in adhesion of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to epithelial cells. Infect Immun 71: 2384–2393
26. Smalley, JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. 1994 Adv. JW Adv Dent Res 8(2):320-328.
27. Smalley, J. W., Silver, J., Birss, A. J., Withnall, R. and Titler, P. J. (2003) The haem pigment of the oral anaerobes *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* is composed of iron(III) protoporphyrin IX in the monomeric form. Microbiology 149, 1711–1718
28. Socarransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. In: Socarransky SS & Haffajee AD, (eds). Microbiology and immunology of periodontal diseases. Periodontology 2000. 1994; 5: 7-25.
29. Socarransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. J Periodontol. 1992; 63: 322-331.
30. Socarransky SS, Haffajee AD. The nature of periodontal diseases. Ann Periodontol. 1997; 2: 3-10.
31. Sundqvist G, Figdor D, Hanstrom L, Sorlin S, Sandstrom G. Phagocytosis and virulence of different strains of *Porphyromonas gingivalis*. Scand J Dent Res. 1991; 99: 117-129.
32. Vogt U, Röntgenemission aus laserinduzierten Plasmen: Einfluss von Laserintensität und Pulsdauer bei verschiedenen Targetsystemen. 2002, TU Berlin, Dissertation
33. Voskanyan K. SH. (2000) Some general regularities of ionizing and 633 nm laser radiation action on bacteria. Photobiology Conference Dec. 2000.
34. Yeo Allen, Ian Watson, Graham Armstrong, Duncan Stewart-Tull, Alastair Wardlaw, Bactericidal Effects of High-Power Nd:YAG Laser Irradiation on *Staphylococcus aureus* in vitro Institute of Physics: Journal of the European Optical Society Part A; Pure & Applied Optics, 1998, 7. 1-13.

35. Yeo Allen et al . Bactericidal effects of high-power Nd:YAG laser radiation on Staphylococcus aureus 1998 Pure Appl. Opt. 7 643-655
36. Wilder-Smith P, Arrastia AM, Schell MJ, Liaw LH, Grill G, Berns MW. Effect of ND:YAG laser irradiation and root planing on the root surface: structural and thermal effects. J Periodontol 1995; 66(12): 1032-9.
37. Wilson M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. Photochem Photobiol Sci 2004; 3:412–18.
38. Wilson M., Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases, Int. Dent. J., 1994, 44, 181—189.
39. Wilson M., Bacterial biofilms and human disease, Sei. Prog., 2001,84, 235-254.

8. Zusicherung

Ich erkläre hiermit, dass die vorliegende Masterthesis nicht von Firmen unterstützt wurde und von mir persönlich ohne unerlaubte fremde Hilfe erstellt und finanziert wurde und dass alle Quellen und Hilfsmittel wahrheitsgetreu verwendet wurden und belegt sind.

Dinslaken, den 30.7.2007

Dr. Peter Kleemann

9. Danksagung

Ich bedanke mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. dent. Norbert Gutknecht, Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, Universitätsklinikum Aachen, Pauwelsstr. 30, D-52074 Aachen, sowohl für die engagierte Betreuung meines selbstgewählten Themas, als auch für seine sehr geschätzten Anregungen.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Georg Conrads, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum, Universitätsklinikum Aachen, danke ich für die Realisierung der Versuchsanordnung im mikrobiologischen Forschungslabor und für die sehr gute Zusammenarbeit.

Weiterhin möchte ich Frau Ilse Seyfarth (MTA), Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Aachen meinen Dank aussprechen für die praktische Unterstützung im Bereich des Mikrobiologischen Forschungslabors.

Herrn Dr. Jörg Meister und Herrn Dr. René Franzen, Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, Universitätsklinikum Aachen danke ich für die lasertechnische Unterstützung und Beratung.

Weiter bedanke ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. Joachim Gerß, Dipl.-Stat., Institut für Medizinische Informatik und Biomathematik (IMIB) und Zentrum für Klinische Studien der Universität und des Universitätsklinikums Münster, Domagkstr. 9, D-48149 Münster für die statistische Auswertung und seine Beratung.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie, die mich sehr unterstützt hat, und besonderer Dank gebührt meinem Sohn Patrick Kleemann für die kollegiale Unterstützung und Entlastung in unserer Gemeinschaftspraxis und fachlichen Gedankenaustausch.

10. Lebenslauf

Persönliche Angaben

Geburtsdatum 21.09.1952
Geburtsort Neunkirchen/Saar
Verheiratet mit Dr. med. Gabriele Kleemann seit 23.9.77
Kinder Patrick Kleemann, geb. 13.7.78
 Mark Kleemann, geb. 27.5.98

Ausbildung

1958 - 1962 Grundschule
1963 - 1971 Mathematisch-naturwissenschaftliches
 Gymnasium Birkenfeld/Rheinland-Pfalz.
1971 Abitur
1971 - 1973 Deutsche Bundeswehr mit Abschluß
 Funkmechaniker und Nachrichtentechniker
1972 Sechsmonatige Industriepraktika in der Metallindustrie
1974 - 1976 Studium der Medizin in Saarbrücken und Mainz
1976 Abschluß des 1. Teils der Ärztlichen Prüfung
1975 - 1979 Studium der Zahnmedizin in Mainz
1979 Staatsexamen und Approbation in Zahnmedizin
1979 Promotion zum Dr. med. dent. an der Universität Mainz

Beruflicher Werdegang

1979 - 1980 Assistenz Zahnarzt in Mainz und Wiesbaden
1980 - 1981 Kieferorthopädische Weiterbildung in der Praxis
 Prof. Dr. Dr. med. dent. E. Steger, Aschaffenburg
1982 - 1984 Kieferorthopädische Weiterbildung an der Freien
 Universität Berlin, Prof. Dr. med. dent. R.-R. Miethke

- 1983 Prüfung und Anerkennung als Zahnarzt für Kieferorthopädie durch die Zahnärztekammer Berlin
- 1984 Praxis-Niederlassung in Dinslaken
- 1986 - 1990 Studienaufenthalte in kieferorthopädischen Praxen bei Toronto, Kanada
- 1992 Instruktor bei ausländischen kieferorthopädischen Seminaren unter Prof. Dr. D. Woodside, Toronto
- 1996 Publikation zum selbstentwickelten gnathologischen Speed-Positioner im American Journal of Clinical Orthodontics
- 1994 Praxis-Neuaufbau in Dinslaken, Duisburger Str. 84, und Umstrukturierung auf Ästhetische Zahnheilkunde und Kieferorthopädie
- 1994 - 2002 Aufbau und Leitung kieferorthopädischer Fortbildungsseminare an verschiedenen Orten in Kooperation mit dem Philipp-Pfaff-Institut Berlin. Poster-Präsentationen, Table-Clinics und Vorträge auf den Jahres-Kongressen der American Association of Orthodontists
- 2003 Besuch der Laserworkshops an der RWTH Aachen
- 2004 Mitautor an einem Dentallaser-Anwenderhandbuch der RWTH Aachen
- 2005 Beginn des Masterstudiengangs zur Laserzahnheilkunde an der RWTH Aachen, Prof. Dr. Gutknecht
- 2006 Gemeinschaftspraxis für Zahnheilkunde mit Zahnarzt Patrick Kleemann
- 2007 Leitung des Vorkongreßkurses über Laserzahnheilkunde in der Kieferorthopädie und Kongreßvortrag über selbstligierende Minibrackettechnik an der Charité Berlin, Prof. Dr. Miethke und Prof. Dr. Jost-Brinkmann