

## Zur antimikrobiellen Therapie in der Mundhöhle mit dem OzonDTA-Verfahren

Ziel dieser Studie war die effektive Wirkweise des OzonDTA-Verfahrens mittels Real-Time-PCR und Bestimmung der aktiven Matrix-Metalloproteinase zu untersuchen.

An 24 Probanden wurden zahnärztlich-chirurgische Eingriffe durchgeführt. Danach wurden davon 12 Probanden randomisiert auf eine Studiengruppe zur Ozonbehandlung und 12 Probanden randomisiert auf eine Kontrollgruppe verteilt. Alle Probanden unterzogen sich zu Beginn und Abschluss des klinischen Teils der Studie zwei spezifischen mikrobiologischen Analyseverfahren. Die daraus erhobenen Daten wurden statistisch ausgewertet.

Klinisch ist die verbesserte Geweberegeneration durch Behandlung mit dem OzonDTA-Verfahren mit beschleunigter Ödemrückbildung zu beobachten. Bakterien können durch OzonDTA-Behandlung um ca. 25% reduziert werden. Statistisch unterscheiden sich Studien- und Kontrollgruppe nicht signifikant hinsichtlich ihrer Bakterienmenge. Die Verteilung der Bakterienmenge unterscheidet sich nach der Ozonbehandlung statistisch nicht signifikant von der Menge vor der Ozonbehandlung.

Schlüsselwörter: OzonDTA, Real-Time-PCR, aMMP-8



<sup>1</sup> Dr. med. dent., Praxis für Zahnheilkunde, Rubensstraße 22, 45147 Essen

## **1 Einleitung**

Die Mundhöhle ist ein komplexes Biotop mit ökologischen Nischen, die durch die Zähne mit ihrem Fissurensystem, Glattflächen, Zahnhälsen, Wurzelkanalsystem und kariösem Dentin sowie durch parodontale Taschen, den Zungenrücken und die Tonsillen angeboten werden [12]. In diesen Nischen existieren mehr als 300 Arten oraler Mikroorganismen, von denen bestimmte Bakterienarten ursächlich für die Initialisierung und Progression entzündlicher Prozesse sowohl für Parodontalerkrankungen als auch bei der Kariesauslösung sind [5, 10, 16]. Die klinische Integrität der Hart- und Weichgewebe bleibt bestehen solange ein Gleichgewicht zwischen bakteriell verursachten Schäden und reparativen und regenerativen Gewebeantworten vorherrscht. Verschiebungen in diesem Gleichgewicht resultieren in Gewebeschädigungen [16]. Die mikrobiell ausgelöste Gingivitis zählt mit 90-100% Verbreitung in der Bevölkerung zu den häufigsten Erscheinungsbildern der Parodontalerkrankungen [5]. Neben der hohen Prävalenz parodontaler Erkrankungen erlangt das Krankheitsbild der Periimplantitis aufgrund steigender Insertionsraten zahnärztlicher Implantate eine wichtige Bedeutung in der modernen Zahnheilkunde [8-9]. Deshalb erscheinen eine adäquate Routinediagnostik, die Erhebung von Indizes und die Durchführung prophylaktischer Maßnahmen in hohem Masse bedeutsam [4-5, 8, 12, 17]. Dazu zählen die Erhebung des Plaquebefalls, Blutung auf Sondierung, Taschentiefen und -sekret sowie der Röntgenbefund ebenso wie prophylaktische Maßnahmen mit Motivation und Reinstruktion, professionelle Zahnreinigung und eine strenges Recall [4, 6, 12, 16-17, 22]. Mikrobiologische Testverfahren zur Verlaufskontrolle und zur Bestimmung der Keimqualität sowohl in periimplantären als auch in parodontalen Taschen liefern verlässliche Parameter zur Einschätzung von Entzündungsprogression und -stagnation und daraus abgeleitet die obligaten Therapiemaßnahmen [7, 15, 20, 23]. Zu den etablierten Verfahren zur Therapie von Parodontopathien gehören die mechanische und chemische Plaquekontrolle, supra- und subgingivales Scaling und Wurzelglättung, subgingivale Kürettage genauso wie parodontalchirurgische Interventionen, die unterstützende Nachsorgetherapie sowie die medikamentöse Therapie mit Antibiotika, Antimykotika und Antiphlogistika

[12]. Zusätzlich besteht wachsendes Interesse in Wissenschaft und Klinik in der zahnärztlichen Verwendung von Ozon. Das Gas Ozon besitzt ein hohes Oxidationspotential mit 1,5 fach größerer Effektivität als Chloride bei der Eliminierung von Bakterien, Viren, Pilzen und Protozoen. Ozon stimuliert die Blutzirkulation und die Immunantwort. Es kann verwendet werden bei der Behandlung der Alveolitis als Ersatz für die Antibiose, als Desinfektion zur Reduktion der oralen Mikroflora und gegen die Anheftung von Mikroorganismen auf Zahnoberflächen. Darüberhinaus zeigt sich in Studien der Stimulationseffekt zur Remineralisation bei initialen Kariesläsionen nach 6 bis 8 Wochen [1-3, 14, 19, 21].

Mit dem OzonDTA (Denta Tec Apoza, DentaTec GmbH, Nidderau/Deutschland) steht ein Gerät zur Verfügung, mit dem laut Hersteller Bakterien, Viren und Pilze abgetötet werden können. Auf Basis der Umwandlung von Sauerstoff in Ozon am Berührungsort der Entzündung findet im Zeitrahmen von Sekunden die Keimeliminierung durch sich aufbauenden bzw. zerfallenden Sauerstoff statt (Herstellerangabe). Ziel der vorliegenden Studie war es, die Effektivität des Ozongenerators zu untersuchen. Ziel der folgenden Untersuchung war daher:

1. Die effektive Wirkweise des OzonDTA-Verfahrens auf lokalen oralen Wundgebieten zu untersuchen und
2. statistisch signifikante bzw. nicht signifikante Unterschiede zwischen einer Studien- und einer Kontrollgruppe herauszustellen.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 24 Patienten durchgeführt (11 männlich, 13 weiblich) im Alter von 15-76 Jahren (Altersdurchschnitt: 43,3 Jahre). Die Aufteilung der Patienten erfolgte in 1 Studiengruppe (12 Patienten) und in 1 Kontrollgruppe (12 Patienten). Die Patienten der Studiengruppe wurden mit Ozon behandelt. Die Patienten der Kontrollgruppe wurden nicht mit

Ozon behandelt. Die Auswahl der Patienten erfolgte anhand eines Anamnesebogens nach den Vorgaben der in unserer Zahnarztpraxis verwendeten Software für Zahnarztpraxen (CompuGroup Medical AG, Koblenz/Deutschland). Die Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien beinhalteten keine Altersbeschränkung, keine Allgemeinerkrankungen, keine Herz-Kreislaufkrankungen, keine Allergien, keine Dauermedikation, keine Schwangerschaft und keine HIV-Infektion. Die Patienten stellten sich mit Wundgebieten nach zahnärztlich-chirurgischen Eingriffen in der Zahnarztpraxis vor. Dazu zählten Osteotomien von retinierten Weißheitszähnen und ankylosierten Wurzelresten, Extraktionen von nicht erhaltungswürdigen Zähnen sowie Wurzelspitzenresektionen. Alle Patienten aus Studien- und Kontrollgruppe wurden zu Beginn und zum Abschluß der Studie zwei mikrobiologischen Tests unterzogen. Zum einen mit dem Real-Time-PCR (Carpegen Periodiagnostik) für die quantitative Bestimmung von Markerkeimen (Carpegen GmbH, Mendelstrasse 11, 48149 Münster). Zum anderen mit dem aMMP-8-Verfahren (Dentognostics GmbH, dentolabs Jena, Tatzendpromenade 2, 07745 Jena). Die Patienten aus der Studiengruppe erschienen an insgesamt 5 Terminen (5 Visits) innerhalb von 14 Tagen. Während der Visits wurde jeweils 1 Ozonbehandlung durchgeführt. Die Patienten aus der Kontrollgruppe stellten sich an 3 Terminen in diesem Zeitraum vor.

## **2.2 Statistische Auswertung**

Für die statistischen Auswertungen und die Erstellung der Graphiken wurde die Statistiksoftware Stata verwendet (Stata/IC 10.1 for Windows, StataCorp LP, 4905 Lakeway Drive, College Station, TX 77845/USA).

Die Ergebnistabellen beschreiben die Zeitpunkte zu Beginn und zum Abschluss der Behandlung getrennt für aMMP-8 und Carpegen in der Studien- und Kontrollgruppe. Die Darstellung erfolgt anhand von Mittelwert, Standardabweichung, Median sowie Minimum und Maximum. Außerdem erfolgt die Deskription der Differenz zwischen Behandlungsbeginn und -abschluss.

Mit dem Mann-Whitney-U-Test wurde kontrolliert, ob sich Studien- und Kontrollgruppe in der Werteverteilung bei aMMP-8 und Carpegen unterscheiden. Daraus resultiert ein p-Wert. Ist dieser p-Wert kleiner als das Signifikanzniveau  $p < 0,05$ , so unterscheiden sich aMMP-8 und Carpegen signifikant. Bei einem Signifikanzniveau von  $p \geq 0,05$  unterscheiden sich aMMP-8 und Carpegen zu keinem der beiden Zeitpunkte signifikant voneinander.

Zusätzlich wurde mit dem Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben getrennt für Studien- und Kontrollgruppe analysiert, ob sich aMMP-8 und Carpegen prä und post unterscheiden.

Beide Testverfahren sind nicht-parametrische Tests, die sich unempfindlich gegenüber Ausreißern verhalten.

### 2.3 Gerätebeschreibung

Der Ozongenerator besteht im Wesentlichen aus dem Steuerungskasten mit Display und Bedienfeld (Abb.1 Links und Mitte), Handstück für Patientenerdung und Handstück mit Plasmalampe (Abb.1 Links), Fusschalter (nicht abgebildet) sowie den unterschiedlichen Plasmalampen (Abb.1 Rechts).



**Abb.1:** Links: Steuerungskasten mit Patientenerdung und Sondenmodul. Mitte: Display und Bedienfeld. Rechts: Nummerierte Plasmalampen für unterschiedliche Einsatzgebiete. (Bilder: DentaTec GmbH, Nidderau/ Deutschland)

In den mitgelieferten Plasmalampen wird über hohe Stromspannungen und geringe Stromstärken das gasförmige Ozon erzeugt. Die aus Glaskolben bestehenden Plasmalampen bilden ein Dielektrikum aus und erzeugen an ihrer Aussenhaut einen Induktionsstrom und ein elektromagnetisches Feld. Ausserhalb des Glaskolbens entsteht Ozon welches laut Herstellerangabe Bakterien, Viren und Pilze abtötet.

#### **2.4 Carpegen-Real-Time-PCR (polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion)**

Das Carpegen®-Testverfahren (Carpegen GmbH, Mendelstrasse 11, 48149 Münster) ist eine molekularbiologische Diagnostikmethode basierend auf der Polymerasekettenreaktion. Mit diesem Testverfahren ist laut Herstellerangabe eine exakte Quantifizierung der Bakterien in der subgingivalen Plaque möglich. Mit einem sog. Entnahmeset bestehend aus 5 sterilen Papierspitzen erfolgt die Entnahme subgingivaler Plaqueproben und sodann der Versand in einer sog. Diagnostik-Box an das auswertende Labor bzw. den Hersteller. Innerhalb weniger Tage geschieht die quantitative Bestimmung der Keimzahl anhand eines rückgesandten Auswertungsbogens.

#### **2.5 aMMP-8-Testung (aktive Matrix-Metalloproteinase-8, Kollagenase 2)**

Mit der Mengenbestimmung der Kollagenase 2 (aMMP-8) ist der Destruktionsmarker für Gewebeabbau nachweisbar. Durch polymorphkernige Leukozyten (PML) aktiviert, verursacht aMMP-8 die Zerstörung des dreidimensionalen Kollagennetzwerkes im Parodont bzw. des Knochengerüsts um ein Implantat [11, 13, 24]. Zur Probenentnahme von Sulkusfluid am Zahn bzw. am Implantat liefert der Hersteller (Dentognostics GmbH, dentolabs Jena, Tatzendpromenade 2, 07745 Jena) ein Set mit 6 Entnahmestreifen, die in einem Reagenzröhrchen versandt werden. Nach Auswertung durch den Hersteller ist aus einem

Befundbogen ersichtlich, wieviel Nanogramm (ng) aMMP-8 pro Milliliter (ml) Fluid vorlagen und welche Interpretation und Therapieempfehlung daraus ableitbar ist.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Vergleich zwischen 1. und 2. Probenentnahme

Die folgenden Tabellen 1 und 2 zeigen die Standardabweichungen für die durchgeführten Bakterientests (aMMP-8, Carpegen) zu Beginn und zum Abschluss der Behandlungen in Studien- und Kontrollgruppe. Die Deskription erfolgt anhand von Mittelwert (Mw), Standardabweichung (SD), Median sowie Minimum und Maximum (Min-Max). Je geringer die SD ist, desto weniger Bakterien (Carpegen) bzw. Entzündungsenzyme (aMMP-8) waren nachweisbar. Dabei fällt auf, dass die SD für aMMP-8 in der Kontrollgruppe sowohl in der 1. als auch in der 2. Probe geringer war als in der Studiengruppe (Tab.1 SD). Für Carpegen deutet sich der umgekehrte Trend an (Tab.2 SD). Die Mittelwerte beim aMMP-8-Verfahren liegen in beiden Gruppen für beide Proben bei 11,7 ng/ml Flüssigkeit (Tab.1: Mw=10,2-13,4ng/ml).

aMMP-8		gültige N	Mw	SD	Median	Min-Max
1. Probe	Kontrollgruppe	12	11.1	7.4	11.0	1.9-27.0
	Studiengruppe	12	12.1	14.5	5.0	1.9-50.0
2. Probe	Kontrollgruppe	12	10.2	10.6	8.0	1.9-32.0
	Studiengruppe	12	13.4	15.5	11.0	1.9-52.0

**Tab.1:** Deskription der Bakterienmenge in ng/ml für die aMMP-8-Testung. N=Anzahl d. Proben. Mw=Mittelwert der SD. SD=Standardabweichung. Median=Median d. SD. Min-Max=Minimum-Maximum d. SD.

Mit dem Carpegen-Test-verfahren wurden statistische Mittelwerte erzeugt, die im Trend sowohl in Studien- als auch in Kontrollgruppe in der 2. Probe deutlich

geringer waren als in der 1. Probe (Tab.2: Mw). Dieser Trend ließ sich ebenso in den Median-Werten beobachten. Im Durchschnitt waren in der 2. Probe bei der Kontrollgruppe 1 Drittel und bei der Studiengruppe fast 1 Viertel weniger Bakterien nachweisbar als in der 1. Probe (Tab.2: Median). Diese Entwicklung deutete sich bei aMMP-8 nicht an. Während bei der Kontrollgruppe im Durchschnitt die Enzymmenge um 3ng/ml Flüssigkeit geringer war, erhöhte sie sich bei der Studiengruppe um mehr als das Doppelte (Tab.1: Median). Die stärksten Konzentrationen von Entzündungsenzymen wurden in der Studiengruppe mit 52ng/ml Flüssigkeit gemessen. Sowohl in der Studien- als auch in der Kontrollgruppe erhöhten sich die Enzymmengen nach Abschluss der Behandlung (Ta.1: Min-Max). Mit dem Carpegen-Verfahren ließen sich demgegenüber in der 2. Probe bei beiden Gruppen weniger Bakterien nachweisen (Tab.2: Min-Max).

<b>Carpegen</b>		gültige N	Mw	SD	Median	Min-Max
1.Probe	Kontrollgruppe	12	12.7	15.4	8.1	2.1-55.0
	Studiengruppe	12	8.5	6.6	5.7	0.6-19.0
2.Probe	Kontrollgruppe	12	8.9	12.1	2.7	0.2-31.0
	Studiengruppe	12	4.0	4.8	1.6	0.4-14.0

**Tab.2:** Deskription der Bakterienmenge  $\times 10^6$  für den Carpegen-Test. N=Anzahl d. Proben. Mw=Mittelwert der SD. SD=Standardabweichung. Median=Median d. SD. Min-Max=Minimum-Maximum d. SD.

### 3.2 Vergleich zwischen Studien- und Kontrollgruppe

In Tabelle 3 wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test kontrolliert, ob sich die Probandengruppen signifikant in ihrer Verteilung der Bakterienmengen unterscheiden. Aus diesen Berechnungen resultierte ein p-Wert. Sofern der p-Wert kleiner als das gewählte Signifikanzniveau 0,05 war, unterschieden sich die Gruppen signifikant in der Verteilung der Bakterienmenge. Da laut Tab.3 die p-Werte  $p=0,396/ 0,475/ 0,799$  bzw.  $0,119$  sind, unterscheiden sich



Studien- und Kontrollgruppe nicht signifikant hinsichtlich ihrer Bakterienmenge.

	<b>aMMP-8</b>	<b>Carpegen</b>
Kontrollgruppe	0.396	0.475
Studiengruppe	0.799	0.119

**Tab.3:** Darstellung der Unterschiede zwischen Studien- und Kontrollgruppe unter Berücksichtigung der bakteriologischen Testverfahren. Angegeben werden die p-Werte. Das Signifikanzniveau ist 0,05.

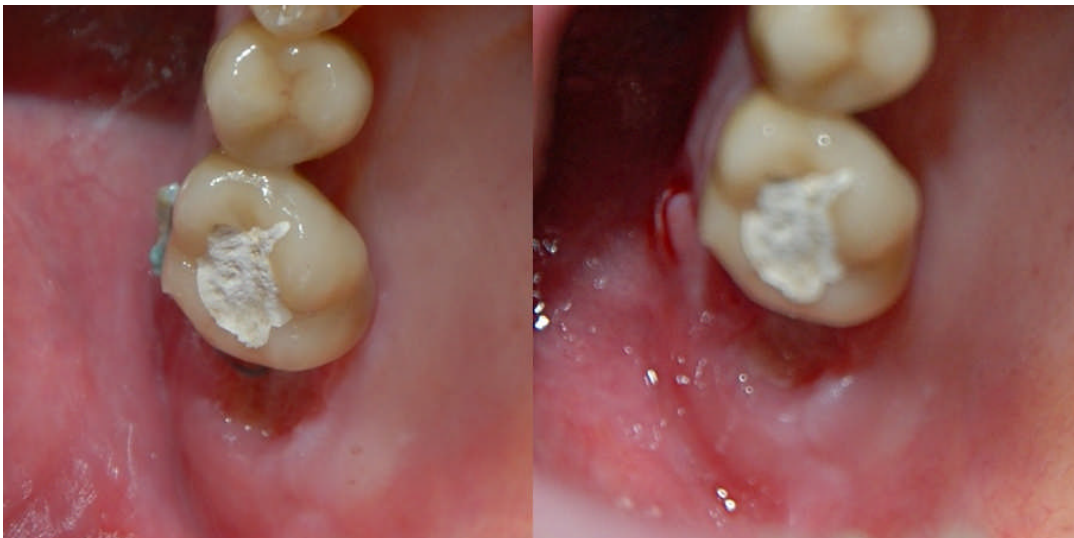
### **3.3 Vergleich der Entnahmezeitpunkte**

In Tabelle 4 wurde für Studien- und Kontrollgruppe mit dem Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben analysiert, ob sich für die bakteriologischen Testverfahren signifikante Abweichungen zwischen 1. und 2. Probe ergaben. Da die p-Werte  $p=0,885/ 0,258/ 0,686$  bzw.  $0,833$  sind, lassen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Entnahmezeitpunkten der Poolproben erkennen. In der Studiengruppe hatte sich für das Carpegen-Testverfahren ein Trend angedeutet. Dennoch unterscheidet sich die Verteilung der festgestellten Bakterienmenge nach der Ozonbehandlung statistisch nicht signifikant von der Menge vor der Ozonbehandlung.

	aMMP-8	Carpegen
1.Probe	0.885	0.686
2.Probe	0.258	0.833

**Tab.4:** Darstellung der Unterschiede zwischen den Probenentnahmen. Angegeben werden die p-Werte. Das Signifikanzniveau ist 0,05.

### 3.4 Klinik



**Abb.2:** Links: Patient 7 Tage (3 Ozonbehandlungen) post OP mit Zustand nach Osteotomie des zerstörten und ankyloisierten Zahnes 17. Patient musste vor dem Eingriff heparinisiert werden. Rechts: 14 Tage post OP (5 Ozonbehandlungen). (Fotos: Dietzel/Boden)



**Abb.3:** Links: Patientin 3 Tage nach Osteotomie incl. Zystektomie des zerstörten und apikal beherdeten Zahnes 46 und Zustand nach 2. Ozonbehandlung. Sichtbar sind die Inzisionslinien für die Bildung des Mukoperiostlappens zur Mobilisation nach lingual. Der Knochendefekt wurde mit Knochenersatzmaterial aufgefüllt. Rechts: 7 Tage post OP nach 3. Ozonbehandlung. (Fotos: Dietzel/Boden)

#### 4 Diskussion

Der in der vorliegenden Studie eingesetzte Ozongenerator OzonDTA (DentaTec GmbH, Nidderau/Deutschland) ermöglicht es laut Hersteller Bakterien, Viren und Pilze zu eliminieren. Auf Grundlage der Erzeugung von Ozon durch partielle Sauerstoffumwandlung bei Kontakt des Plasmalampenkopfes mit der entzündeten Region findet die Keimabtötung statt (Herstellerangabe). Die Handhabung des Gerätes gestaltete sich in unserer Studie einfach. Die Auswahl der indikationsabhängigen Glaskörper für das Behandlerhandstück war wegen der übersichtlichen Nummernkodierung leicht durchführbar. Das Aufsetzen der Glaskörper auf das Handstück bereitete keinerlei Schwierigkeiten. Dies galt überdies für die Nachvollziehbarkeit der Programmierung des Steuerungsgerätes.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Analyseverfahren (aMMP-8; Carpegen) zeigten nach der statistischen Auswertung, dass die Standardabweichung für

aMMP-8 in der Kontrollgruppe sowohl in der 1. als auch in der 2. Probenentnahme geringer war als in der Studiengruppe (Tab.1: SD). Darüberhinaus war eine Zunahme der Enzymmenge in beiden untersuchten Probandengruppen bei Abschluss der Behandlung zu beobachten. Demnach ließ sich in der mit Ozon behandelten Studiengruppe eine größere Menge aktive Metallomatrixproteinasen nachweisen als in der ohne Ozon behandelten Kontrollgruppe. Allerdings hatte die aMMP-8-Menge in der Kontrollgruppe um 3,2ng pro ml Probefluid zugenommen, während die Zunahme in der Studiengruppe lediglich 1ng pro ml Probefluid betrug. Die Studiengruppe zeigte nahezu gleiche Mengen an aMMP-8 (Tab.1: SD). Die Kontrollgruppe zeigte einen deutlichen Anstieg an aMMP-8 (Tab.1: SD). Infolge dieser quantitativen Bewertungen muss das Ozon einen Einfluss auf die Wundgebiete ausgeübt haben. Der bakterizide, viruzide und fungizide Effekt des Ozons basierend auf seinem starken Oxidationseffekt und der Formierung freier Radikale sowie die direkte Zerstörung von Mikroorganismen wird in der Literatur zahlreich beschrieben [1-3, 19, 21]. Eine Schlussfolgerung könnte der verringerte bakterielle Biofilm sein, der die herabgesetzte inflammatorische Wirtsreaktion zur Folge hat und somit weniger aMMP-8 nachweisbar war. Dass dennoch aMMP-8 nach Abschluss unserer Behandlungen vorlag, könnte auf die Entzündungsvorgänge in den tiefliegenden Gewebeschichten (Periost, Knochen) zurückzuführen sein. Denn die Probenentnahmen erfolgten ausschließlich auf der Weichgeweboberfläche und nicht in den tiefer liegenden Gewebeschichten, weil der Wundverschluss stets durch Nähte erfolgte. Die Probanden beider untersuchten Patientengruppen stellten sich im Rahmen unserer Studieneinschlusskriterien mit Wundgebieten nach zahnärztlich-chirurgischen Eingriffen vor. Folglich erfüllten alle Probanden die Merkmale einer mechanisch verursachten Wunde. Entzündliche Vorgänge sind die notwendige Begleiterscheinung sowohl bei der Wundsetzung als auch bei der Wundheilung als Reaktion des Organismus auf einen Reiz. Jene entzündlichen Vorgänge werden unterhalten vom aktiven Bindegewebe und den Gefäßen zur Reizentfernung und induzieren auf diese Weise die Reparatur der ausgelösten Gewebeschädigung [18]. Nach Abschluss der Behandlung unserer Patienten im Rahmen der vorliegenden Studie waren kollagenabbauende aMMP-8-Enzyme nachweisbar. Dies erscheint logisch, da auch nach 14 Tagen entzündliche Prozesse im Gewebe stattfinden. Das traf vor allem auf jene Patienten zu, die

sich einer Osteotomie unterziehen mussten. Auch das Milieu Mundhöhle liefert eine mögliche Erklärung für noch vorhandene aMMP-8-Enzyme [5, 10, 12-13, 16].

Für Carpegen deutete sich der umgekehrte Trend an (Tab.2 SD). Die Mittelwerte beim aMMP-8-Verfahren lagen in beiden Gruppen (Studien-/Kontrollgruppe) für beide bakteriellen Probeentnahmen bei 11,7ng/ml Flüssigkeit (Tab.1: Mw=10,2-13,4ng/ml). Mit dem Carpegen-Testverfahren wurden statistische Mittelwerte erzeugt, die im Trend sowohl in der Studien- als auch in der Kontrollgruppe in der 2. Probenentnahme deutlich geringer waren als in der 1. Probenentnahme (Tab.2: Mw). Dieser Trend ließ sich ebenso in den Median-Werten beobachten: Im Durchschnitt waren in der 2. Probenentnahme bei der Kontrollgruppe 1 Drittel und bei der Studiengruppe fast 1 Viertel weniger Bakterien nachweisbar als in der 1. Probenentnahme (Tab.2: Median). Diese Entwicklung deutete sich bei aMMP-8 nicht an. Während bei der Kontrollgruppe im Durchschnitt die Enzymmenge um 3ng/ml Flüssigkeit geringer war, erhöhte sie sich bei der Studiengruppe um mehr als das Doppelte (Tab.1: Median). Die stärksten Konzentrationen von Entzündungsenzymen wurden in der Studiengruppe mit 52ng/ml Flüssigkeit gemessen. Sowohl in der Studien- als auch in der Kontrollgruppe erhöhten sich die Enzymmengen nach Abschluss der Behandlung (Ta.1: Min-Max). Mit dem Carpegen-Verfahren ließen sich demgegenüber in der 2. Probenentnahme bei beiden Gruppen weniger Bakterien nachweisen (Tab.2: Min-Max). Die Carpegen Perio Diagnostik basiert auf der Real-Time-PCR (polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion) und ermöglicht den spezifischen und quantitativen Nachweis von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* [14, 23]. Die Gesamtkeimzahl hatte sowohl in der Studien- als auch in der Kontrollgruppe deutlich abgenommen. Ob die Keimreduktion zumindest in der Studiengruppe auf den Einfluss des Ozons zurückzuführen ist, lässt sich anhand unseres Studienaufbaus nicht feststellen.

Diese These unterstützte der direkte statistische Vergleich zwischen den Werten aus der Studien- und Kontrollgruppe. Die Probandengruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich ihrer Verteilung der Bakterienmengen. Die p-Werte waren stets kleiner als das gewählte

Signifikanzniveau 0,05. Gemäß Tabelle 3 betragen die p-Werte  $p=0,396/0,475/0,799$  bzw. 0,119. Damit unterschieden sich Studien- und Kontrollgruppe nicht signifikant hinsichtlich ihrer Bakterienmenge.

Beim Test, ob sich für die mikrobiologischen Analyseverfahren signifikante Abweichungen zwischen 1. und 2. Probenentnahme ergeben würden, resultierten die p-Werte  $p=0,885/0,258/0,686$  bzw. 0,833. Deshalb ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Entnahmezeitpunkten der bakteriologischen Proben feststellen. In der Studiengruppe hatte sich für das Carpegen-Testverfahren ein Trend angedeutet. Dennoch unterschied sich die Verteilung der festgestellten Bakterienmenge nach der Ozonbehandlung statistisch nicht signifikant von der Bakterienmenge vor der Ozonbehandlung.

Klinisch waren eindeutig verbesserte Heilungsverläufe nach Anwendung von Ozon zu beobachten (Abb.3). Stellten sich viele Patienten der Kontrollgruppe mit teilweise rezidivierenden Beherdungen in den Wundgebieten und zudem persistierenden Beschwerden in den traumatisierten Regionen in unserer Praxis vor, so war beim Großteil der Studiengruppenangehörigen erheblich weniger dolor post extractionem feststellbar. Dies muss in der Kontrollgruppe nicht zwangsläufig auf eine fehlende Ozonbehandlung zurückzuführen sein, denn die Mundhöhle liefert reichlich Potential für Reinfektionen bzw. Schmerzen im Wundgebiet sofern man darüberhinaus vom Umfang des Gewebetraumas absieht [5, 10, 12, 16]. Dennoch zeigte die visuelle Kontrolle der Wundregionen (Abb.2) im Vergleich zur Kontrollgruppe wesentlich stabilere Gewebestrukturen mit deutlich schnellerer Regeneration der Schwellungen. Eine Erklärung hierfür könnte die beschleunigte Flüssigkeitszirkulation und die verbesserte Immunantwort in den ozonbehandelten Geweben liefern [14].

## 5 Schlussfolgerungen

Ungeachtet der Tatsache der fortwährend nachweisbaren und entzündungsinduzierten Kollagenase 2 (aMMP-8) war in unserer Studie der statistische Nachweis der bakteriziden Wirkung von Ozon möglich. Die effektive Wirkweise des OzonDTA-Verfahrens ließ sich unter den Bedingungen des Studiendesigns auf die Reduktion von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* und *Prevotella intermedia* um ein Viertel der Gesamtkeimzahl verifizieren. Ebenso ließen sich klinisch eine verbesserte Geweberegeneration mit deutlich schnellerer Schwellungsabnahme beobachten sowie subjektiv weniger empfundenem *dolor post extractionem* seitens der Probanden feststellen. Demnach war es möglich, das OzonDTA-Verfahren als non-invasives Therapiemittel mit einfach zu handhabender Technik anzuwenden, welches die antibiotische Therapie bei entsprechender Indikation ersetzen kann. Inwieweit jedoch tatsächlich Geweberegeneration, geringeres Schmerzempfinden und Flüssigkeitszirkulation in Wundgebieten unter Ozoneinfluss stattfindet sollte in weiteren klinisch-randomisierten Doppelblindstudien mit einer größeren Fallzahl untersucht werden. Im Bezug zur aktuellen Literatur besteht hier noch Forschungsbedarf.

## **6 Danksagung**

Bedanken möchte ich mich bei den Herren Dr. Jochen Poth und Sönke Deutschmann für Ihre Mitarbeit und Kooperation während des klinischen Abschnitts der vorliegenden Studie.

Dank gilt vor allem Frau Rebecca Brands für ihren steten Einsatz und ihr unermüdliches Engagement sowie logistisches Talent bei der Organisation und Durchführung unserer Studie.

Ebenso Dank gebührt Frau Diplom-Statistikerin Hiltrud Niggemann für die Auswertung und Darstellung der statistischen Analysen.



## 7 Literaturverzeichnis

1. *Azarpazhooh, A., Limeback, H.:* The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 36, 104 (2008).
2. *Baysan, A., Lynch, E.:* The use of ozone in dentistry and medicine. *Prim Dent Care* 12, 47 (2005).
3. *Baysan, A., Lynch, E.:* The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries. *Prim Dent Care* 13, 37 (2006).
4. *Cichon, P., Grimm, W.-D.:* Zahnheilkunde für behinderte Patienten. Teil I: Klinik der Zahn-, Mund- und Kiefererkrankungen bei behinderten Patienten. Schlütersche GmbH&Co.KG, Verlag und Druckerei., Hannover 1999.
5. *Gängler, P.:* Lehrbuch der konservierenden Zahnheilkunde. Ullstein Mosby, Berlin-Wiesbaden 1995.
6. *Heasman, P. A., McCracken, G. I., Steen, N.:* Supportive periodontal care: the effect of periodic subgingival debridement compared with supragingival prophylaxis with respect to clinical outcomes. *J Clin Periodontol* 29 Suppl 3, 163 (2002).
7. *Kinane, D. F., Darby, I. B., Said, S., al., e.:* Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodont Res* 38, 400 (2003).
8. *Krekeler, G.:* Parodontologie. In: *Schwenzer, N., Ehrenfeld, M. (Hrsg.): Zahn-Mund-Kieferheilkunde Zahnärztliche Chirurgie* 3. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York 2000, 217.
9. *Lindhe, J., Meyle, J.:* Peri-implant diseases: Consensus report of the Sixth European Workshop on Periodontology, Group D. *J Clin Periodontol* 35, 282 (2008).
10. *Listgarten, M. A.:* Nature of periodontal diseases: pathogenic mechanisms. *J Periodont Res* 22, 172 (1987).
11. *Ma, J., Kitti, U., Teronen, O., Sorsa, T., al., e.:* Collagenases in different categories of peri-implant vertical bone loss. *J Dent Res* 79, 1870 (2000).
12. *Müller, H.-P., Rateitschak, K. H.:* Parodontologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York 2001.
13. *Netuschil, L.:* Parodontitis- und Periimplantitis-Frühwarnung. Welcher diagnostische Test bringt welche Aussage? *Plaquencare*, 5 (2009).
14. *Nogales, C. G., Ferrari, P. H., Kantorovich, E. O., Lage-Marques, J. L.:* Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 9, 75 (2008).
15. *Prescher, N., Maier, K., Munjal, S., al., e.:* Rapid quantitative chairside test for active MMP-8 in gingival crevicular fluid-first clinical data. *Ann N Y Acad Sci* 1098, 493 (2007).
16. *Renggli, H. R.:* Ätiologie marginaler Parodontopathien. In: *Ketterl, W. (Hrsg.): Parodontologie-Praxis der Zahnheilkunde*. Urban&Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1990, 35.
17. *Roulet, J.-F., Fath, S., Zimmer, S.:* Lehrbuch Prophylaxeassistentin. Vol. 2. Auflage Urban&Fischer, München-Jena 1999.

18. *Schubert, J.*: Wundlehre. In: *Schwenzer, N., Ehrenfeld, M. (Hrsg.): Allgemeine Chirurgie.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York 2000, 1.
19. *Seidler, V., Linetskiy, I., Hubalkova, H., Stankova, H., Smucler, R., Mazanek, J.*: Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Med Rep* 109, 5 (2008).
20. *Sorsa, T., Mäntylä, P., Rönkä, H., al., e.*: Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chairside test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 878, 130 (1999).
21. *Stubinger, S., Sader, R., Filippi, A.*: The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int* 37, 353 (2006).
22. *Szczurek, D.*: [Evaluating the efficacy of selected programs for prophylaxis of caries and periodontal diseases in school children with special reference to guidelines for oral cavity hygiene]. *Ann Acad Med Stetin* 42, 223 (1996).
23. *Verner, C., Lemaitre, P., Daniel, A., Giumelli, B., Lakhssassi, N., Sixou, M.*: Carpegen real-time polymerase chain reaction vs. anaerobic culture for periodontal pathogen identification. *Oral Microbiol Immunol* 21, 341 (2006).
24. *Xu, L., Yu, Z., Lee, H. S., al., e.*: Characteristics of collagenase-2 from GCF & PISF in periodontitis and peri-implantitis patients. *Acta Odont Scand* 66, 219 (2008).