

Aus der Poliklinik für Präventive Zahnmedizin, Parodontologie und Kariologie
(Komm. Direktor: Prof. Dr. med. dent. M. Hülsmann)
im Zentrum Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Die Effektivität von fluoridierten Gelen und Pasten zur Kariesprävention –
eine *in-vitro*-Untersuchung an humanem Schmelz
in einem biologischen Kariesmodell**

INAUGURAL- DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades für Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Clarissa Milmann

aus

Bendery/Moldawien

Göttingen 2013

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. dent. R. F. Mausberg

II. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. med. dent. Gruber

III. Berichterstatter/in: /

Tag der mündlichen Prüfung: 01.10. 2013

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG.....</u>	1
2	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	2
2.1	KARIES.....	2
2.1.1	DEFINITION	2
2.1.2	ÄTIOLOGIE	2
2.1.2.1	Oraler Biofilm	3
2.1.2.2	Kariogene Mikroorganismen	4
2.1.3	DEMINERALISATION DES SCHMELZES	5
2.1.4	REMINERALISATION	6
2.2	FLUORID.....	7
2.2.1	ALLGEMEIN	7
2.2.2	KARIESPROPHYLAKTISCHE WIRKUNGSWEISE AUF DEN SCHMELZ	8
2.2.3	KARIESPROPHYLAKTISCHE WIRKUNGSWEISE AUF DIE MIKROORGANISMEN DER PLAQUE	9
2.2.4	TOXIKOLOGIE	10
2.3	KARIESPROTEKTIVE WIRKUNG UNTERSCHIEDLICHER LOKALER PRODUKTE.....	10
2.3.1	ZAHNPASTEN	10
2.3.2	FLUORIDGELE	11
2.3.3	FLUORIDLACKE	11
2.3.4	NICHT-FLUORIDHALTIGE PASTEN	11
2.4	IN-VITRO- KARIESFORSCHUNG.....	12
2.4.1	METHODEN DER KARIESDIAGNOSTIK	13
3	<u>MATERIAL UND METHODE</u>	16
3.1	ALLGEMEIN	16
3.2	MATERIAL.....	16
3.2.1	ZÄHNE	16
3.2.2	LÖSUNGEN	16
3.2.2.1	Demineralisationslösung	16
3.2.2.2	Remineralisationslösung	17
3.2.3	TESTPRODUKTE	18

3.3	METHODE	19
3.3.1	HERSTELLUNG DER SCHMELZPROBEN	19
3.3.2	VORVERSUCHE	22
3.3.3	APPLIKATION DER TESTPRODUKTE	24
3.3.4	VERSUCHSZYKLEN	24
3.3.5	QUANTITATIVE LICHTINDUZIERTE FLUORESZENZMESSUNG MIT QLF™	27
3.3.6	STATISTISCHE AUSWERTUNG	28
4	<u>ERGEBNISSE.....</u>	29
4.1	ERGEBNISSE DER PROZENTUALEN FLUORESZENZABNAHME.....	29
4.1.1	ALLGEMEIN	29
4.1.2	ABNAHME DER PROZENTUALEN FLUORESZENZ DER EINZELNEN GRUPPEN ÜBER DIE ZEIT	31
4.1.3	VERGLEICH DER PRODUKTGRUPPEN MIT DEN KONTROLLGRUPPEN ÜBER DIE ZEIT	33
4.1.4	VERGLEICH DER PRODUKTE UNTEREINANDER ÜBER DIE ZEIT	34
4.2	ERGEBNISSE DER WHITE-SPOT-FLÄCHE.....	36
4.2.1	ALLGEMEIN	36
4.2.2	ZUNAHME DER WHITE-SPOT-FLÄCHE DER EINZELNEN GRUPPEN ÜBER DIE ZEIT	37
4.2.3	VERGLEICH DER PRODUKTE MIT DEN KONTROLLGRUPPEN ÜBER DIE ZEIT	39
4.2.4	VERGLEICH DER PRODUKTE UNTEREINANDER ÜBER DIE ZEIT	40
4.3	KORRELATION	41
4.4	ZUSAMMENFASSUNG DER WICHTIGSTEN ERGEBNISSE	43
5	<u>DISKUSSION.....</u>	44
5.1	MATERIALIEN.....	44
5.1.1	HUMANER VS. BOVINER SCHMELZ	44
5.1.2	PRODUKTE UND IHRE ANWENDUNG	45
5.2	METHODIK	46
5.2.1	AUSSAGEKRAFT DER <i>IN-VITRO</i> -FORSCHUNG	46
5.2.2	KRITISCHE BETRACHTUNG DES BIOLOGISCHEN KARIESMODELLS	46
5.2.3	QUANTITATIVE LICHTINDUZIERTE FLUORESZENZ	48
5.3	ERGEBNISSE.....	49
5.4	ALLGEMEINE SCHLUSSFOLGERUNG	51
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	52
7	<u>LITERATURVERZEICHNIS.....</u>	54

8	TABELLARISCHER ANHANG.....	60
8.1	EINZELMESSWERTE DER QLF – MESSUNG (ΔF UND WS-AREA).....	60
8.1.1	FLUOR PROTECTOR GEL®	60
8.1.2	TOOTH MOUSSE®	61
8.1.3	COLGATE TOTAL®	62
8.1.4	POSITIVKONTROLLE	63
8.1.5	NEGATIVKONTROLLE	64
8.2	TÄGLICHE KONTROLLEN DER OPTISCHEN DICHT E UND REINHEIT DER BAKTERIENKULTUR	65
8.3	TABELLENVERZEICHNIS	66
8.4	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	67

1 Einleitung

Die Zahnkaries ist in der Bevölkerung die am häufigsten verbreitete Erkrankung der Zahnhartsubstanz. In den letzten Jahrzehnten konnte in den westlichen Industrieländern durch die progressive Aufklärung, die Prophylaxemaßnahmen und vor allem durch den Einsatz von Fluoriden ein deutlicher Kariesrückgang verzeichnet werden. Dennoch mussten die Krankenkassen für die konservierenden Leistungen im Jahr 2010 ein stetig steigendes Budget in Höhe von 6,27 Mrd. Euro aufwenden (Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung 2011). Vor allem bei der erwachsenen Bevölkerung ist die Karies immer noch sehr weit verbreitet. Es lässt sich aber ein positiver Trend hinsichtlich des Bewusstseins für Mundhygiene in der Gesellschaft feststellen. Der wichtigste und am meisten verbreitete Faktor dabei ist die häusliche Kariesprophylaxe. Dieser stehen verschiedene Produkte sowohl mit Fluorid- als auch ohne Fluoridzusatz zur Verfügung.

Die Wirksamkeit von Fluoriden in der Kariesprophylaxe ist wissenschaftlich erwiesen; vor allem die lokale Fluoridierung führt zu erheblicher Kariesreduktion (Pettersson et al. 2004), indem sie die Remineralisation fördert und die Demineralisation hemmt (Fischer et al. 1995). Somit zählt die Anwendung fluoridhaltiger Kariostatika zu einem der vier Pfeiler in der Kariesprävention (Hellwig et al. 2007). Dagegen sind die seit einiger Zeit in Anwendung befindlichen fluoridfreien Produkte noch sehr spärlich wissenschaftlich untersucht und mit den herkömmlichen verglichen worden. Zusätzlich kommen täglich neue Produkte auf den Markt mit verschiedenen Zusätzen oder gänzlich neuen remineralisierenden Konzepten. Diese neuen Produkte müssen auf ihre Effektivität hin geprüft werden, um evidenzbasierte Empfehlungen zu ihrer Anwendung aussprechen zu können. Daher bestand ein Ziel dieser *in-vitro*-Studie darin, verschiedene kariespräventive Produkte mit unterschiedlichen Wirksubstanzen zu testen und zu vergleichen.

Um die Produkte unter möglichst ähnlichen Bedingungen testen zu können, bestand ein weiteres Ziel der *in-vitro*-Studie darin, ein einfaches, biologisches Kariesmodell zu entwickeln. Im Gegensatz zur Erzeugung von Demineralisationen durch chemische Systeme kennzeichnen sich biologische Modelle durch den Einsatz von Mikroorganismen und damit einer naturgetreueren Simulation intraoraler Demineralisationsprozesse. *S. mutans* gilt als Leitkeim bei der Kariesentstehung (Hellwig et al. 2007, Marsh und Martin 2003). Aus diesem Grund wurde diese Bakterienspezies in Monokultur für das *in-vitro*-Kariesmodell ausgewählt.

Aus den zuvor genannten Zielen ergaben sich folgende Arbeitshypothesen:

- Das eingesetzte Kariesmodell ermöglicht eine mit der intraoralen Situation vergleichbare Demineralisationsentstehung
- Die Testprodukte ermöglichen einen effektiven Kariesschutz
- Es bestehen keine Unterschiede hinsichtlich der Effektivität zwischen den Testprodukten.

2 Literaturübersicht

2.1 Karies

2.1.1 Definition

Die Zahnkaries leitet sich vom lateinischen Wort „caries“ ab und bedeutet wörtlich übersetzt „Morschheit“ und „Fäulnis“. Sie wurde von der Fédération Dentaire Internationale (FDI) 1976 als „lokalisierter, pathologischer Vorgang (Krankheit) bakteriellen Ursprungs bezeichnet, der zur Entmineralisation der Zahnhartsubstanzen und schließlich zur Kavitätenbildung führt“ (Franke und Baume 1976, S. 77).

In der Literatur wird die Karies als die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanzen beschrieben, die lokalisiert in Zusammenhang mit potenziell pathogenen Mikroorganismen und ökologischen Faktoren auftritt (Hellwig et al. 2007).

2.1.2 Ätiologie

Die Erkenntnis, dass Karies auf das Vorhandensein von Mikroorganismen zurückzuführen ist, ging aus der Forschung von Robert Ficius im Jahr 1847 hervor. W.D. Miller entwickelte sie weiter und erklärte in seinem 1898 verfassten Werk „Die Mikroorganismen der Mundhöhle“ die „chemisch-parasitäre“ Theorie als Grundlage der Kariesätiologie (Klimm 1997): „Die Zahncaries ist ein chemisch-parasitärer Vorgang, bestehend aus zwei deutlich ausgeprägten Stadien, der Entkalkung resp. Erweichung des Gewebes und der Auflösung des erweichten Rückstandes. Beim Schmelz fällt jedoch das zweite Stadium fort; die Entkalkung des Schmelzes bedeutet die vollkommene Vernichtung desselben. ...die Quelle der zur Erweichung des Gewebes nöthigen Säuren...sind vorzugsweise die in den Cariesheerden steckengebliebene stärke- und zuckerhaltige Speisereste, welche durch Gärung Säure bilden“

(Miller 1898, S. 163). Diese Theorie konnte von Orland et al. (1954) bestätigt werden, indem sie keimfrei gezüchteten Ratten und Ratten mit natürlicher Keimbesiedlung kohlenhydratreiche Nahrung verabreichten. Bei den keimfreien Ratten entwickelten sich im Gegensatz zur anderen Gruppe keine mikroskopisch nachweisbaren kariösen Läsionen.

1954 wiesen Gustafsson et al. in einer heute ethisch nicht mehr vertretbaren Studie den Zusammenhang zwischen der Häufigkeit der Aufnahme von Zucker und vor allem die Abhängigkeit von deren physikalischen Eigenschaften nach. Sie konnten zeigen, dass klebrige Zuckerprodukte ein höheres Vorkommen an Karies bewirken.

Keyes entwickelte 1962 das Modell der Kariesätiologie, welches den verbindlichen Zusammenhang zwischen „Wirt/Zahn“, „Mikroorganismen“ und „Substrat“ darstellt. 1971 ergänzte König die „Zeit“ als vierten Faktor, womit die Dauer der Plaqueretention und Häufigkeit der Substratzufuhr berücksichtigt wurden. Diese Faktoren sind gleichwertig; fehlt einer davon, entstehen keine kariösen Läsionen (Klimm 1997, König 1987).

2.1.2.1 Oraler Biofilm

Axelsson und Lindhe (1978) stellten in ihrer Studie zur Mundhygiene fest, dass die Organisation der Bakterien zu einer Plaque ein notwendiger Faktor für die Entstehung von Karies und Parodontalerkrankungen ist. Marsh und Martin (2003) definierten die Plaque als eine Gemeinschaft verschiedener Mikroorganismen, die auf der Zahnoberfläche als ein Biofilm vorliegt. Die Mikroorganismen sind eingebettet in eine extrazelluläre Matrix aus Polymeren, die sowohl von den Mikroorganismen als auch aus der Umgebung stammen.

Damit ein ausgereifter Biofilm gebildet werden kann, müssen verschiedene Faktoren zusammenspielen und folgende Phasen ablaufen: Auf einer gereinigten Zahnoberfläche bildet sich ein Niederschlag aus Speichelglykoproteinen und Antikörpern, das sogenannte Pellikel (Gängler et al. 2005). Die bakterielle Ansiedlung erfolgt zuerst durch grampositive Kokken sowohl selektiv, wie es z.B. beim *S. sanguis* der Fall ist, als auch nicht-spezifisch durch physikalische Kräfte und spezifisch durch Adhäsine. Die Sanguis-Streptokokken sind die bedeutendsten Pellikelbesiedler (Sanderink et al. 2004).

Die Pionierkeime bilden Mikrokolonien und schaffen durch Stoffwechselprodukte geeignete Bedingungen für die Ansiedlung weiterer Bakterien, wie z.B. Streptokokken, Veilonellen und Actinomyceten (Marsh 2004). Beim Ausbleiben der Mundhygiene bildet sich innerhalb von 14 Tagen ein komplexes Ökosystem verschiedener Mikroorganismen mit zunehmend anaerobem Charakter (Gängler et al. 2005).

Die Mikroorganismen, die sich zu einem Biofilm organisieren, genießen den Schutz vor immunologischen Abwehrmechanismen des Wirts und antimikrobiellen Chemotherapeutika, da diese durch exprimierte Stoffe des Biofilms neutralisiert und an der Penetration gehindert werden können. Dieses lässt sich auf die veränderte Genexpression biofilm-assoziiierter Mikroorganismen gegenüber der planktonischen Population zurückführen. Die Folge ist eine veränderte Ausprägung der Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren (Sanderink et al. 2004).

Eine besondere Rolle spielt dabei das „Quorum sensing“, welches die Mikroorganismen dazu befähigt, über Signalmoleküle miteinander zu kommunizieren und auf veränderte Umweltbedingungen zu reagieren (Sifri 2008). Bakterienzellen generieren chemische Signale in einer geringen Konzentration. Sobald genügend Bakterien vorhanden sind (Quorum), überschreitet die Summe der Signale einen Schwellenwert und setzt eine Kaskade frei, die bestimmte Gene aktiviert oder unterdrückt (Sanderink et al. 2004, Vasil 2003). Die Signaltransduktion kann dabei sowohl zwischen den Bakterien als auch mit der Umgebung stattfinden (Sifri 2008).

2.1.2.2 Kariogene Mikroorganismen

Die wichtigsten Eigenschaften kariogener Mikroorganismen sind neben der Säurebildung und Säuretoleranz die Synthesen extra- und intrazellulärer Polysaccharide (Hellwig et al. 2007). Loesche (1986) erklärte vor allem Streptokokken und Laktobazillen auf Grund dieser Eigenschaften zu den odontopathogenen Mikroorganismen. In epidemiologischen Studien konnte *S. mutans* als Haupterreger der Schmelzkaries dargestellt werden (Marsh und Martin 2003). Die Anzahl der Lactobazillen korreliert mit dem Konsum niedermolekularer Kohlenhydrate und kann als Indikator für offene kariöse Läsionen bzw. die Kariesaktivität angesehen werden. Eine weitere Spezies, die Actinomyceten, werden eher mit der Entstehung der Wurzelkaries in Verbindung gebracht (Hellwig et al. 2007).

Die Streptokokken der Mutans-Gruppe lassen sich weiter unterteilen, wobei vor allem *S. mutans* und *S. sobrinus* in einer kariogenen Plaque vorgefunden werden (Hellwig et al. 2007). Clarke isolierte *S. mutans* 1924 aus kariösen menschlichen Zähnen, kurze Zeit später konnte man sie bei einer bakteriellen Endokarditis nachweisen (Marsh und Martin 2003).

Sie gehören zu den grampositiven, fakultativ anaeroben Kokken, die paarweise oder in kurzen Ketten auftreten (Klimm 1997); ihren Namen erhielten sie auf Grund der morphologischen Mutationen von der Kokken- in die Stäbchenform (Gängler et al. 2005).

Die besondere Kariogenität verdankt dieser Keim seinen vielen Virulenzfaktoren. Mutans-Streptokokken synthetisieren intra- und extrazelluläre Polysaccharide. Während die intrazel-

lulären Polysaccharide zur Nahrungsreserve dienen und *in vivo* hyperkariogene Eigenschaften aufweisen, sind die extrazellulären Polysaccharide wie z.B. Mutan für die Kolonisation auf der Zahnoberfläche verantwortlich. Mutane verleihen den Biofilmen ihre Klebrigkeit und Beständigkeit, weil weder ein oraler Keim noch der Speichel Enzyme besitzen, die Mutane spalten können.

Weiterhin kann *S. mutans* niedermolekulare Kohlenhydrate schneller verarbeiten als andere kariogene Mikroorganismen, wobei *S. sobrinus* der stärkste Säurebildner ist. Durch den azidurischen Charakter können sie auch bei pH-Werten < 4 metabolisch aktiv sein. Diese Virulenzfaktoren werden vor allem bei häufiger Zufuhr von Kohlenhydraten exprimiert (Sanderink et al. 2004).

2.1.3 Demineralisation des Schmelzes

An der Zahnoberfläche des Schmelzes herrscht ein dynamisches Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation. Sobald der pH-Wert in der Plaque unter einen kritischen Wert sinkt, verschiebt sich das Gleichgewicht in Richtung der Demineralisation und es kommt zu einem Mineralverlust aus der Zahnoberfläche. Für den Zahnschmelz liegt dieser Wert bei $\text{pH} = 5,2\text{-}5,7$ (Hellwig et al. 2007). Nach wiederholten Säureangriffen und damit andauernder Demineralisation entsteht die Schmelzkaries, die eine nur auf den Schmelz beschränkte kariöse Läsion ohne Kavitation darstellt (Schroeder 1997). Diese klinisch sichtbare kariöse Initialläsion zeigt sich makroskopisch als eine weiße, opake Fläche, die auf Grund unterschiedlicher Lichtbrechung zwischen Luft und Schmelzläsion zustande kommt (Kidd und Fejerskov 2004). Sie wird auch als „white spot“ bezeichnet (Hellwig et al. 2007).

Diese Läsion hat die Form eines Kegels, dessen Basis zur Schmelzoberfläche zeigt und dessen Spitze dentinwärts gerichtet ist (Klimm 1997). Chemisch betrachtet, führen die in der Plaque gebildeten Säuren durch Auflösung zur Erweiterung interkristalliner Räume, die als die wichtigsten Diffusionswege der Ionen dienen (Holmen et al. 1985). Durch den Konzentrationsgradienten können die schwachen Säuren so in den Schmelz diffundieren, dissoziieren dort und greifen durch die Protonen die Ionen des Kristallgitters an. Die gelösten Kalzium- und Phosphationen diffundieren gemäß ihrem Konzentrationsgradienten zur Schmelzoberfläche; auf dem Weg können sie durch den abnehmenden Diffusionsgradienten zur Plaque und zum Speichel repräzipitieren. So entsteht eine pseudointakte Schmelzoberfläche, durch welche die Säuren weiterhin diffundieren und den Schmelz auflösen können.

Bei Untersuchungen mit dem Licht- und Polarisationsmikroskop lassen sich 4 Zonen der Schmelzkaries unterscheiden (Hellwig et al. 2007).

Die **transluzente Zone** stellt die innerste Schicht der Schmelzkaries und gleichzeitig das Fortschreiten der Demineralisation dar. Im Gegensatz zum Porenvolumen von 0,1% beim gesunden Schmelz beträgt es in dieser Zone 1%. Die Vergrößerung der Poren ist auf einen Mineralverlust von Magnesium und Karbonat und nicht wie vermutet auf Proteinverlust zurückzuführen.

Die darauf folgende **dunkle Zone** weist ein Porenvolumen von 2–4% auf, wobei die Porengröße im Gegensatz zur transluzenten Zone sehr gering ist. Es ist anzunehmen, dass die dunkle Zone nicht die Folge von Demineralisation ist, sondern eher durch Remineralisationsschübe entsteht, die durch Mineralausfällung zur Verkleinerung der ursprünglichen Poren führen. Dies ist daran zu erkennen, dass im Vergleich zur aktiven kariösen Läsion die arretierte Karies eine breitere dunkle Zone aufweist.

Die größte Ausdehnung weist der **Läsionskörper** auf, dessen Porenvolumen in der Peripherie bei ca. 5% und im Zentrum der Zone bei < 25% liegen kann. Dabei kommen die Retzius-Streifen und Prismen sehr gut zur Geltung (Silverstone et al. 1981).

Die kariöse Läsion wird von einer ca. 30-40 µm dicken pseudointakten **Oberflächenschicht** bedeckt, deren Porenvolumen bei < 5% liegt. Durch die Präzipitation an der Oberfläche sind die Kristalle größer als im gesunden Schmelz (Palamara et al. 1986).

2.1.4 Remineralisation

Die Demineralisation des Schmelzes kann durch Beseitigung kariogener Noxen und regelmäßige kariespräventive Maßnahmen stagnieren. Unter optimalen Umständen können sich Mineralien aus dem mit Hydroxyl- und Fluorapatit gesättigtem Speichel wieder in die Kristallgitter einlagern (Hellwig et al. 2007). Dieser Zustand wird als ruhende bzw. arretierte Karies bezeichnet. Es ist eine Läsion, deren Ausbreitung sich stark verlangsamt hat oder zum Stillstand gekommen ist (Schroeder 1997). Klinisch erscheint sie auf Grund von Farbeinlagerungen bräunlich und oberflächlich hart (Hellwig et al. 2007).

Larsen und Fejerskov definieren die Remineralisation als eine dauerhafte Einlagerung von Kalzium und Phosphat in eine demineralisierte Stelle der Zahnhartsubstanz. Dieses kann entstehen, solange eine pseudointakte Oberflächenschicht vorhanden ist. Geht diese verloren, findet keine Remineralisation mehr statt, da sie auf Kristallwachstum und nicht auf einer de-novo-Bildung basiert (Larsen und Fejerskov 1987). Im selben Jahr beschrieb König die Voraussetzungen, unter denen es zur Remineralisation kariöser Initialläsionen kommen kann:

- Vermeidung häufiger Demineralisationsschübe
- lange Phasen mit neutralem pH-Wert
- optimaler Zugang für kalzium- und phosphatgesättigten Speichel
- optimale Frequenz und Konzentration von Fluorid an der Schmelzoberfläche.

Eine komplette Remineralisation mit vollständigem Einbau verloren gegangener Mineralien findet äußerst selten statt (Hellwig et al. 2007), da das Unterschreiten des relativen Mineralgehaltes von etwa 30% im Zentrum der Läsion eine Remineralisation auszuschließen scheint und es viel eher zum Voranschreiten der Demineralisation kommt. Auch wenn bei optimalen Remineralisationsbedingungen die pseudointakte Oberflächenschicht an Dicke zunimmt, bleibt in der Tiefe der Läsion ein Defekt zurück (Klinger und Wiedemann 1985). Es ist auch anzunehmen, dass die Oberflächen-Deckschicht ein Diffusionshindernis darstellt. Darüber hinaus verlangsamt das Vorkommen organischen Materials in den Poren die Diffusionsgeschwindigkeit (Larsen und Fejerskov 1987).

Zero et al. konnten in einer Studie, in der die Veränderung der Mikrohärtigkeit an vorher demineralisierten Schmelzoberflächen gemessen wurde, zeigen, dass die Härte bei Schmelzproben schon nach einer vierstündigen oralen Exposition um ca. 15% stieg und bei Proben mit zusätzlichen Fluoridapplikationen sogar verdreifacht werden konnte. Diese Studie zeigt somit, dass es vor allem mit Fluorid möglich ist, den Prozess der initialen Läsion in kürzerer Zeit umzukehren (Zero et al. 1994).

2.2 Fluorid

2.2.1 Allgemein

Fluor ist ein Spurenelement und gehört zu den Halogenen. Aufgrund seiner Reaktivität kommt es in der Natur fast ausschließlich als Fluorid vor (Löffler et al. 2007). In sehr geringen Konzentrationen ist es biologisch aktiv und wird in „parts per million (ppm)“ angegeben (Fejerskov et al. 1996). Die mit Nahrungsmitteln, Getränken, Medikamenten und während kariesprophylaktischer Maßnahmen aufgenommenen Fluoridmengen werden im Magen-Darm-Trakt bis zu 100% resorbiert und sind damit bioverfügbar.

Aus der Fluoridverteilung im Körper kann man schließen, dass es eine spezielle Affinität zu Zahnhartgewebe und Knochen gibt (Löffler et al. 2007). Dadurch kommt es während der primären Mineralisation und vor allem während der präeruptiven Reifung zur Fluorideinlagerung. Dabei wird Fluorid in das Kristallgitter des Hydroxylapatits eingebaut. Bei frisch durchgebrochenen Zähnen ist die höchste Fluoridkonzentration auf der Schmelzoberfläche vorzu-

finden. Dennoch reicht der präeruptive Fluorideinbau nicht aus, um die Zähne dauerhaft vor kariösen Läsionen zu schützen. Folglich sollten posteruptiv weitere lokale Fluoridierungsmaßnahmen erfolgen, um eine Zunahme der Fluoridkonzentration an der Schmelzoberfläche zu erreichen (Hellwig et al. 2007). Hierfür finden in der Zahnmedizin folgende Fluoridverbindungen Verwendung (Fejerskov et al. 1996):

- anorganische Verbindungen wie z.B. NaF, bei denen die Salze leicht löslich sind und freies Fluorid zur Verfügung stellen
- Monofluorophosphatverbindungen wie z.B. Na_2FPO_3 , bei denen das Fluorid kovalent gebunden ist und erst nach einer Hydrolyse reaktionsfähig ist
- organisch gebundene Fluoride wie Aminfluoride und Fluorsilane.

2.2.2 Kariesprophylaktische Wirkungsweise auf den Schmelz

Man ging früher davon aus, dass die karieshemmende Wirkung von Fluoriden auf dem Einbau in das Kristallgitter des Zahnschmelzes beruht. Neuere Studien konnten zeigen, dass bei lokal applizierten Fluoridpräparaten die gelösten Fluoridionen für die Kariesprävention verantwortlich sind, indem sie die Remineralisation fördern und die Demineralisation hemmen (Fischer et al. 1995).

Durch *in-vitro*-Studien an Haifischzähnen, die mit einem Fluoridgehalt von 32 000 ppm bis zu 99% aus Fluorapatit bestanden, konnte gezeigt werden, dass sie bei der Erzeugung von kariösen Läsionen ähnliche Demineralisationsmuster aufwiesen wie humane Schmelzpräparate mit einem oberflächlichen Fluoridgehalt von 1270ppm. Benetzte man die Proben aber mit geringen Mengen an gelöstem Fluorid, wurde die Demineralisation signifikant gehemmt (Ogaard et al. 1988). Damit haben Ogaard et al. nachgewiesen, dass eine geringe Menge gelöster Fluoridionen über eine deutlich höhere kariesprotektive Wirkung verfügt als ein hoher Fluorapatitanteil im Schmelz. Hauptverantwortlich sollen die auf der Oberfläche der Schmelzkristalle adsorbierten Fluoridionen sein (Fischer et al. 1995). Diese umgeben die Schmelzkristalle wie eine Schutzhülle und verleihen dem Hydroxylapatit fluorapatitähnliche Eigenschaften. Kommt ein kariöses Milieu zustande, besteht bei den umhüllten Kristallen maximaler Demineralisationsschutz. An unbedeckten Bereichen werden die Kristalle partiell oder vollständig aufgelöst, auch wenn im Kristallgitter Fluorapatit eingebaut ist (Hellwig et al. 2007).

Ein weiterer wesentlicher Faktor für die Kariesprävention ist das kalziumfluoridhaltige Präzipitat (CaF_2) auf der Schmelzoberfläche. Es bildet sich nach Anwendung lokaler Fluoridpräparate aus dem Kalzium des Speichels und den Fluoridionen. Bei einem kariösen Angriff werden

aus der CaF_2 -Schicht Fluoridionen freigesetzt (Fischer et al. 1995). Die frei werdenden Fluorid-Ionen erhöhen zum einen die Fluoridkonzentration im Speichel und adsorbieren zum anderen an den Kristalloberflächen (Hellwig et al. 2007).

Das CaF_2 kann somit als pH-gesteuertes Fluorid-Depot betrachtet werden, das bei niedrigem pH-Wert Fluoridionen freisetzt. Eine mögliche Transformation eines Teils des CaF_2 in Fluorapatit kann die Löslichkeitsrate in der Mundhöhle sogar weiter verringern (Ogaard 1990), da Fluorapatit im Gegensatz zu Hydroxylapatit, welches schon bei einem pH-Wert von 5,5 in Lösung geht, erst ab einem pH-Wert von 4,5 aufgelöst werden kann (McCann 1968). Bei beginnender Neutralisation wird demzufolge in Anwesenheit von Fluoridionen als erstes Fluorapatit auf Grund seines geringen Löslichkeitsproduktes wiederhergestellt und die Läsion remineralisiert (Hellwig et al. 2007).

2.2.3 Kariesprophylaktische Wirkungsweise auf die Mikroorganismen der Plaque

Die kariesprophylaktische Wirkung von Fluoriden ist nicht nur auf die Zahnhartsubstanz beschränkt, sondern hat auch Auswirkungen auf die Mikroorganismen.

Je nach Fluoridkonzentration kommt es zur Beeinflussung der metabolischen Aktivität und zur Wachstumshemmung. Die zum Abtöten der Mikroorganismen nötige Fluoridkonzentration wird in der menschlichen Mundhöhle jedoch nicht erreicht (Hellwig et al. 2007). Fluorid kann den Stoffwechsel der Bakterien beeinflussen, indem es unterschiedliche Enzyme der Mikroorganismen hemmt. Die Empfindlichkeit des Bakterienmetabolismus ist pH-abhängig. Bei einem niedrigen pH-Wert liegt Fluorid dissoziiert als H^+ und F^- vor und ist lipophil, dadurch kann es leichter durch die Bakterienmembran diffundieren (Marsh und Martin 2003). Intrazellulär wird durch die Fluoridionen das magnesiumabhängige Enzym Enolase gehemmt, welches in der Glykolyse das 2-Phosphoglycerat zu Phosphoenolpyruvat (PEP) dehydratisiert. Das Fluorid bildet einen Komplex mit Magnesium, entzieht dieses der Enolase und behindert damit die Enzymaktivität. Die Glykolyse wird direkt gehemmt und auch der Zuckertransport indirekt beeinflusst, da orale Streptokokken und andere azidogene Bakterien die Glukose mit Hilfe des PEP-abhängigen Phosphotransferasesystems durch das Phosphorylieren in die Zelle transportieren (Fejerskov et al. 1996).

Durch die Hemmung der Protonen-ATPase können die in die Zelle eintretenden Protonen des dissoziierten Fluorides den pH-Wert des Zytoplasmas erniedrigen, was einen geringeren Protonengradienten für den Transport von Stoffen durch die Membran zur Folge hat. Schlüsselenzyme des Stoffwechsels, die ihr pH-Optimum im neutralen Bereich haben, werden so

inaktiviert (Marsh und Martin 2003). Weiterhin wird die Synthese der Lipoteichonsäure gehemmt und damit die Adhärenz der Bakterien am Hydroxylapatit erschwert.

Des Weiteren wird aufgrund der reduzierten Verfügbarkeit von Glukose-6-Phosphat die intrazelluläre Polysaccharidsynthese gehemmt (Fejerskov et al. 1996). Van Loveren ist der Meinung, dass diese Mechanismen zur Kariesprävention klinisch eine geringere Rolle spielen und dass Fluorid erst in Verbindung mit Kationen wie Sn^{2+} oder Amininen signifikantere antibakterielle Eigenschaften aufweist (Van Loveren 2001).

2.2.4 Toxikologie

Eine Überdosierung von Fluorid kann zu Vergiftungserscheinungen führen. 1916 stellten Black und McKay fest, dass in Gebieten mit erhöhtem Trinkwasserfluoridgehalt häufig weiße Schmelzflecken vorhanden waren (Hellwig et al. 2007). Die Zahnfluorose ist eine der häufigsten Nebenwirkungen einer erhöhten Fluoridzufuhr während der Zahnentwicklung. Durch die Störung der Ameloblasten kommt es zu fleckenförmigen Zahnverfärbungen (Löffler et al. 2007). Nach Thylstrup und Fejerskov werden zehn Grade der Dentalfluorose unterschieden. Sie reichen von weißlichen Verfärbungen bis hin zu braunen Flecken und Hypoplasien (Fejerskov et al. 1996). Sie können bei einer systemischen, chronisch toxischen Fluoridapplikation von mehr als 0,05mg/kg Körpergewicht pro Tag entstehen oder aber auch bei einer einmaligen hohen Überdosierung. Wird eine erhöhte Dosis über Jahre verabreicht, kann es zu Skelettfluorosen kommen (Hellwig et al. 2007). Die sichere toxische Dosis (Certainly Toxic Dose = CTD) wurde von Whitford aus den Erkenntnissen von Hodge und Smith auf 32-64mg Fluorid/kg Körpergewicht für Erwachsene berechnet. Nach Vergiftungen bei Kindern mit tödlichen Folgen wurde die wahrscheinlich toxische Dosis (Probably Toxic Dose = PTD) auf 5mg Fluorid/kg Körpergewicht festgelegt (Whitford 1987).

2.3 Kariesprotektive Wirkung unterschiedlicher lokaler Produkte

2.3.1 Zahnpasten

Die kariesreduzierende Wirkung von fluoridhaltigen Zahnpasten wird von Naujoks auf 20 – 30% eingeschätzt (Naujoks 1983). Dabei lässt sich bei einer Fluoridzugabe von 1000 – 2800ppm ein positives Dosis-Reaktionsverhältnis nachweisen (Stephen 1993). Frei verkäufliche Zahnpasten unterliegen der europäischen Kosmetikverordnung, ihr Fluoridgehalt darf maximal 1500ppm betragen (Bloch-Zupan 2001).

Kinder bis zum 6. Lebensjahr sollen aus toxikologischen Gründen Zahnpasten mit einem Fluoridgehalt von 500ppm verwenden, wobei die Effektivität in Bezug auf die Kariesprävention dafür noch nicht ausreichend belegt ist (Gülzow et al. 2005).

2.3.2 Fluoridgele

Gele haben eine visköse Konsistenz und eignen sich als Trägersubstanz für angereicherte Fluoride (Nolden 1994). Der Fluoridgehalt liegt zwischen 10.000 und 20.000 ppm (Gülzow et al. 2005). Der pH-Wert liegt meistens bei 3–3,5, um eine verbesserte Fluoridaufnahme im Schmelz zu erreichen (Heidemann 2001). In der Literatur wird eine karieshemmende Wirkung mit einem Mittelwert von 22% angegeben, wobei sich diese durch professionelle Applikation deutlich steigern lässt (Hellwig et al. 2007). Bei hoher Kariesaktivität sollte zusätzlich zur Basisfluoridierungsmaßnahme einmal wöchentlich die Verwendung eines Fluoridgels erfolgen (Gülzow et al. 2005).

2.3.3 Fluoridlacke

Lacke enthalten einen hohen Anteil an Naturharzen, damit sie möglichst fest und über eine lange Zeitperiode am Zahn haften. Sie haben einen neutralen pH-Wert (Nolden 1994) und der Fluoridgehalt kann bei bis zu 55.000ppm liegen (Gülzow et al. 2005). Petersson et al. kommen zu dem Ergebnis, dass Lacke eine 30%ige Kariesreduktionsrate aufweisen (Petersson et al. 2004). Bei Kindern und Jugendlichen mit erhöhter Kariesaktivität sollte eine Applikation durch zahnmedizinisches Fachpersonal zweimal jährlich oder auch öfter erfolgen (Gülzow et al. 2005).

2.3.4 Nicht-fluoridhaltige Pasten

Die zurzeit auf dem Markt befindlichen Produkte ohne Fluoride bedienen sich unterschiedlicher Wirkmechanismen. Nachfolgend werden zwei Exemplare näher erläutert:

Das **Tooth Mousse**[®] beinhaltet als Wirkstoff das aus Milchprodukten gewonnene Casein Phosphopeptid (CPP), welches Calcium- und Phosphationen in Form von amorphem Calciumphosphat (ACP) enthält (Recaldent[™] CPP-ACP) (GC Europe 2012). Es ist eine Quelle von bioverfügbaren Kalzium- und Phosphationen, die entlang des Konzentrationsgradienten in die kariöse Läsion diffundieren und diese somit remineralisieren können (Reynolds 2009).

BioRepair[®] enthält Nanokristalle aus Hydroxylapatit. Diese lagern sich auf der Schmelzoberfläche an und sollen somit den Defekt reparieren. Es liegt jedoch dazu nur eine geringe Anzahl an Studien vor (Hahn 2011).

2.4 *In-vitro*-Kariesforschung

Grundsätzlich lassen sich in der *in-vitro*-Kariesforschung zwei Versuchsanordnungen unterscheiden. Zum einen steht die Möglichkeit der Erzeugung von kariösen Läsionen durch chemische Systeme zur Verfügung (Seemann 2005). Dabei wird die Zahnhartsubstanz organischen Säuren, die als Lösungen oder Gele vorliegen, ausgesetzt. Da bei diesem Versuchsaufbau keine Bakterien vorhanden sind, finden chemische Lösungsvorgänge und keine proteolytische Destruktionen der Kollagenmatrix statt (Schiffner und Schmeiser 1995, ten Cate und Duijsters 1982). Dennoch können mit angesäuerten Gelen oder mit Hilfe von mit Kalzium und Phosphat versetzten Demineralisationslösungen Schmelzläsionen erzeugt werden, die von Frühstadien der Schmelzkaries nicht zu unterscheiden sind (Cain et al. 2006, Silverstone 1967). Bei Dentin oder Zement hingegen reichen die physikalisch-chemischen Lösungsvorgänge der angesäuerten Gel-Systeme nicht aus, um eine natürliche Läsion zu erzeugen. Die Kollagenmatrix bleibt von Säure unberührt und kollabiert auf Grund aufgelöster bzw. fehlender kristalliner Strukturen. Die Vorteile dieser chemischen Systeme bestehen in der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, der einfachen Überwachung und der gut zu handhabenden Technik (Phankosol et al. 1985).

Zum anderen stehen biologische Systeme zur Verfügung, bei denen die kariösen Läsionen auf den Stoffwechsel von Bakterien zurückzuführen sind (Seemann 2005). Standardisierte Bedingungen mit kariogenen Mikroorganismen lassen sich mit Hilfe künstlicher Mundhöhlen erzeugen (Schiffner und Schmeiser 1995).

Einfache biologische Systeme bestehen aus einem Nährmedium mit niedermolekularen Kohlenhydraten, in denen kariogene Mikroorganismen (meist *S. mutans*) angezüchtet werden. In dieser Mikroorganismen-Suspension können dann die Zahnhartsubstanzprüfkörper gelagert und dadurch kariesähnliche Läsionen erzeugt werden (Dummer et al. 1982, Gilmour und Edmunds 1998).

Eine komplexe künstliche Mundhöhle ermöglicht eine dauerhafte oder periodische Versorgung des Biofilmes mit Nährstoffen und imitiert die Umgebung eines *in-vivo*-Biotops (Tang et al. 2003). Um kariesähnliche Läsionen zu erzeugen, müssen die Mikroorganismen auf der Zahnhartsubstanzoberfläche einen kariogenen Biofilm bilden. Die stetige Applikation von Bakterien und kohlenhydrathaltigen Substraten fördert dabei die Demineralisation; der künstliche Speichel und der stetige Fluss der Lösungen hemmt die Demineralisation und fördert die Remineralisation (Schiffner und Schmeiser 1995). Der Vorteil dieser Systeme ist die Untersuchung vieler kariogener Faktoren unter kontrollierten Bedingungen. Es können neben dem Wachstum, dem Metabolismus und der Ökologie der Mikroorganismen auch die

Kariogenität verschiedener Nahrungsbestandteile sowie antibakterielle Eigenschaften unterschiedlicher Agenzien erforscht werden (Seemann et al. 2005, Tang et al. 2003).

2.4.1 Methoden der Kariesdiagnostik

Zur reproduzierbaren Quantifizierung der Kariesläsionen stehen heutzutage verschiedene Methoden zur Verfügung; die gängigsten werden nachfolgend näher beschrieben:

- **Die quantitative lichtinduzierte Fluoreszenz (QLF)** ist ein optisches Verfahren zur Kariesdiagnostik. Es ermöglicht nicht nur eine nicht invasive, quantitative und reproduzierbare Verlaufskontrolle initialkariöser Läsionen, sondern auch eine Effektivitätsbeurteilung von Präventionsmaßnahmen. Mit dieser Technik können De- und Remineralisationsvorgänge sowohl *in vitro*, *in situ* als auch *in vivo* beobachtet werden (Charité 2011, Kühnisch und Heinrich-Weltzien 2004). Die Methode der QLF beruht auf der Autofluoreszenz der Zähne. Sobald die Zahnhartsubstanz mit kurzwelligem blauen Licht bestrahlt wird, emittiert das bestrahlte Areal langwelligeres grünes Licht (Inspektor 2011), welches mit Hilfe einer Videokamera detektiert werden kann. Bei initialen Läsionen und der damit einhergehenden Abnahme des Mineralgehaltes zeigt sich ein Verlust der Fluoreszenz (de Josselin de Jong et al. 1995). Diesen Fluoreszenzverlust führen Tranaeus et al. auf die Lichtstreuung und die dadurch entstehende Barriere für das einstrahlende und emittierende Licht in einer kariösen Läsion zurück. Die betroffenen Areale erscheinen demnach dunkler als gesunder Schmelz (Tranaeus et al. 2001), wobei die Intensität der Fluoreszenz stark mit dem Verlust des Mineralgehaltes korreliert (Abb.2.2).

Basierend auf diesem Zusammenhang, erfolgt die Quantifizierung der Läsion durch die Errechnung der Differenz zwischen den Werten der Läsion und gesundem Schmelz (de Josselin de Jong et al. 1995).

Sobald der Unterschied mehr als 5% beträgt, kann von einer frühen kariösen Läsion ausgegangen werden, die von der Software detektiert wird (Sano et al. 2007) und farblich visualisiert werden kann (Abb.2.3 a und b). Es werden insgesamt drei Analyseparameter erhoben (Gmür et al. 2006):

- ΔF (%), definiert als der prozentuale Fluoreszenzverlust der Läsion
- WS-Area (mm^2), definiert als Läsionsfläche
- ΔQ ($\text{mm}^2\%$), definiert als Läsionsvolumen ($\Delta Q = \Delta F \times \text{WS-Area}$).

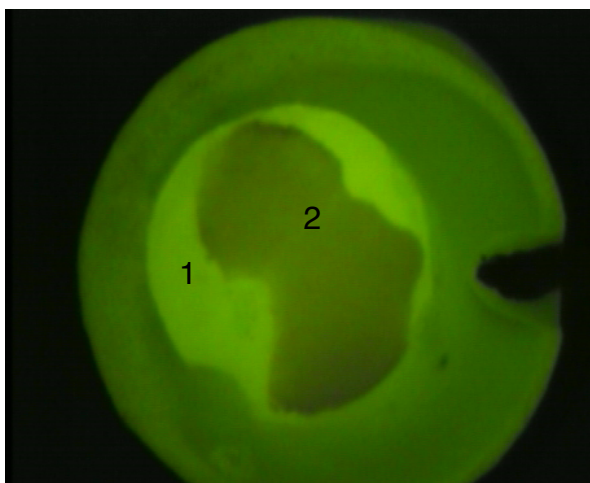


Abb. 2.1 eine mit dem QLFTM - System detektierte Schmelzprobe

1) gesunder Schmelz 2) kariöse Läsion

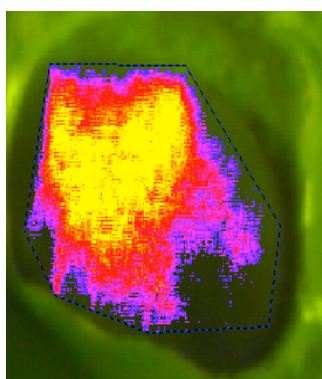


Abb. 2.2a mit QLF in dieser Studie ausgewerteter Prüfkörper

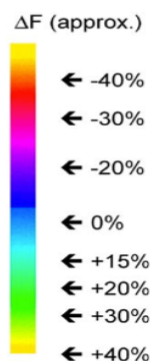


Abb. 2.2b annähernde farbliche Visualisierungsskala (Gmür et al. 2006, S. 194)

- **Die transversale Mikroradiographie (TMR)** beruht darauf, den Mineralisationsgehalt einer Zahnhartsubstanzprobe über die Absorption von Röntgenstrahlen zu quantifizieren. Dazu werden planparallele, senkrecht zur Oberfläche orientierte Schliffpräparate der zu untersuchenden Zahnhartsubstanz in einer Stärke von 80 – 200 μm hergestellt und zusammen mit einer Aluminium-Eichtreppe auf einem hochauflösenden Röntgenfilm monochromatisch bestrahlt. Ist die Dicke der Probe bekannt, kann

man mit den Werten der optischen Dichte des Schmelzes und der Aluminium-Eichtreppe unter Verwendung der Angmarschen Formel auf die Mineralisation schließen (Angmar et al. 1963, Featherstone et al. 1983, Inspektor 2011, Kienel 1994).

- Eine weitere Möglichkeit der *in-vitro*-Kariesdiagnostik bietet das Verfahren der **Mikrohärtemessung**. Der Begriff „Härte“ ist definiert als der mechanische Widerstand, den ein Körper dem Eindringen eines anderen, meist härteren Körpers entgegensetzt. Bei der Mikrohärtemessung wird durch eine Diamantpyramide, deren Prüfgewicht zwischen 0,02 und 2 N liegt, ein Eindruck erzeugt und optisch vermessen. Je nach Grundfläche der Pyramide unterscheidet man die Mikrohärteverfahren nach Vickers oder Knoop. Im Allgemeinen dienen Härtewerte als Maß für andere Eigenschaften des Materials, die nicht ohne weiteres zu bestimmen sind (Kienel 1994), in diesem Fall der Mineralisationsgrad. Diesen Zusammenhang zwischen der Härte der Zahnhartsubstanz und der Mineralisation entdeckten Featherstone et al. 1983 unter Verwendung der TMR als Referenz und erklärten die Mikrohärtemessung als eine geeignete Methode zur qualitativen Untersuchung von De- und Remineralisationen.

3 Material und Methode

3.1 Allgemein

In der vorliegenden Studie wurden drei verschiedene Produkte mit kariespräventiver Wirksamkeit an Schmelzprüfkörpern in einem biologischen Kariesmodell *in vitro* getestet. Das biologische Kariesmodell, welches in Anlehnung an die von Dummer et al. 1982 entwickelte Technik selbst erarbeitet wurde, bestand aus einem Nährmedium mit niedermolekularen Kohlenhydraten, in welches *S. mutans* überimpft wurde. Zusätzlich zu dieser Demineralisationslösung wurden die Schmelzproben in künstlichem Speichel gelagert, der als Remineralisationslösung diente. Mit diesem Modell konnten die alternierenden De- und Remineralisationsvorgänge in der menschlichen Mundhöhle imitiert werden.

3.2 Material

3.2.1 Zähne

Zur Herstellung von Prüfkörpern für diese in-vitro-Studie wurden frisch extrahierte karies- und füllungsfreie humane Zähne verwendet. Die Gewebereste wurden mit Scalern (Feiner Universalscaler S204S7, Hu-Friedy Mfg. Co., Inc., Chicago USA) entfernt. Bis zur Prüfkörperherstellung lagerten sie in steriler 0,9 %iger Natriumchlorid-Lösung (B.Braun AG, Melsungen Deutschland).

3.2.2 Lösungen

3.2.2.1 Demineralisationslösung

Zur Herstellung der Demineralisationslösung wurde als Nährmedium eine sterilisierte Glucose-Bouillon verwendet, in die Bakterien überimpft wurden. Der Tabelle 3.1 kann die genaue Zusammensetzung der Bouillon entnommen werden.

Bei den eingesetzten Bakterien handelte es sich um Streptokokken des Stammes Clarke 1924 DSM 20523. Bezogen wurde dieser Bakterienstamm von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Braunschweig, Deutschland).

Tabelle 3.1 Zusammensetzung der Glucose-Bouillon (10 Liter)

Glucose-Bouillon	10 Liter
NaCl (6404, Merck KGaA, Darmstadt Deutschland)	50g
Pepton aus Fleisch (7214, Merck KGaA, Darmstadt Deutschland)	100g
Fleischextrakt trocken (3979, Merck KGaA, Darmstadt Deutschland)	100g
Glucose (8342, Merck KGaA, Darmstadt Deutschland)	100g
Aqua dest.	10 l
NaOH zur Einstellung eines pH- Wertes von 7,2	6ml

3.2.2.2 Remineralisationslösung

Als Remineralisationslösung ist künstlicher Speichel verwendet worden, der von der Apotheke des Klinikums der Georg-August-Universität Göttingen zur Verfügung gestellt wurde. Die Zusammensetzung ist aus der Tabelle 3.2 zu entnehmen.

Tab. 3.2 Zusammensetzung des künstlichen Speichels

Künstlicher Speichel	NRF 7,5	50 g Lösung
Sorbit		1,5050g
KCl		0,0600g
NaCl		0,0425g
Magnesiumchlorid x 6 H ₂ O		0,0025g
Calciumchlorid x 2 H ₂ O		0,0075g
di-Na-monohydrogenphosphat x 12 H ₂ O		0,1250g
Carmellose-Natrium (7 MF PH)		0,2500g
Gereinigtes Wasser		ad 50,0000g
Konserviert mit: 0,1% Sorbinsäure		

3.2.3 Testprodukte

Im Rahmen der Studie wurden drei Produkte mit kariespräventiver Wirksamkeit getestet. Es folgt eine kurze Beschreibung der einzelnen Testsubstanzen. Die Tabelle 3.3 dient zur allgemeinen Übersicht der wichtigsten kariesprotektiven Wirkstoffe der einzelnen Produkte; dabei wird nicht auf die Art der Fluoridverbindungen eingegangen.

- **Colgate Total®**

Die Zahnpasta **Colgate Total®** (Colgate-Palmolive Co, New York USA) beinhaltet die zur Kariesprotektivität empfohlene Menge Natriumfluorid (1450ppm). Weiterhin ist Triclosan als bakteriostatischer Wirkstoff hinzugesetzt.

- **Fluor Protector Gel®**

Ein Produkt mit gleich hoher Fluoridkonzentration ist das **Fluor Protector Gel®** (Ivoclar Vivadent AG, Schaan Liechtenstein). Es beinhaltet neben 1450ppm Kaliumfluorid sowohl eine Calcium- und Phosphatquelle als auch Xylit für die Kariesvorsorge.

- **Tooth Mousse®**

Tooth Mousse® (GC Corporation, Tokio Japan) ist das einzige Testprodukt ohne Fluoridverbindungen. Als prophylaktischen Wirkstoff enthält diese wasserbasierte Crème bioverfügbares Calcium und Phosphat in Form von Recaldent CPP-ACP (Casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate); davon sind in 100g GC Tooth Mousse® 10% enthalten.

Tab. 3.3 Wichtigste kariesprotektive Wirkstoffe der verwendeten Produkte

Gruppe	Fluorid- verbindungen	Calcium/ Phosphat	Xylit	Triclosan	Fluorid- gehalt (ppm)
Colgate Total®	X			X	1450
Fluor Protector Gel®	X	X	X		1450
Tooth Mousse®		X			–

3.3 Methode

3.3.1 Herstellung der Schmelzproben

Um standardisierte Prüfkörper herzustellen, wurden die Zähne in die Halterung des Exakt-Trennschleifgerätes (Band System 300/310, EXAKT Advanced Technologies GmbH, Nordstedt Germany) eingespannt. Bei ausreichender Wasserkühlung, mittlerer Geschwindigkeit der Bandsäge (Stufe 4,5) und der Belastung des Schlittens mit 70g wurden die Wurzeln von der Zahnkrone abgetrennt (Abb. 3.1)



Abb. 3.1 Abtrennung der Wurzeln von der Zahnkrone durch ein Trennschleifgerät

Anschließend wurden die Zahnkronen ein weiteres Mal in das Schleifgerät eingespannt und es erfolgte bei gleicher Wasserkühlung, Bandgeschwindigkeit und Schlittenbelastung eine Separierung der Zahnkrone in mesio-distaler Richtung (Abb. 3.2).



Abb. 3.2 Separierung der Zahnkrone in mesio-distaler Richtung mit Hilfe des Trennschleifgerätes

Die dabei entstandenen Kronenhälften wurden mit der planen Fläche mit Hilfe eines Sekundenklebers (Loctite 420 Sofortklebstoff, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf Deutschland) und eines chemisch härtenden Kunststoffes (Technovit 4071, Hereaus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau Deutschland) auf einer Plexiglasplatte (Objektträger Plexiglas Art.-Nr. 404150, patho-service GmbH, Oststeinbek Deutschland) befestigt, um sie in die Tischbohrmaschine (T.I.P. Technische Industrie Produkte, Waibstadt Deutschland) einzuspannen. Mit einem Diamant-Hohlbohrer (Dr. Heinemann Diamond Tools & Parts GmbH, Rastede Deutschland) wurden bei ausreichender Wasserkühlung Schmelz-Dentin-Proben mit einem Durchmesser von 5mm ausgestanzt. Die Entnahme erfolgte zentral und senkrecht aus der Fläche (Abb. 3.3 und 3.4).

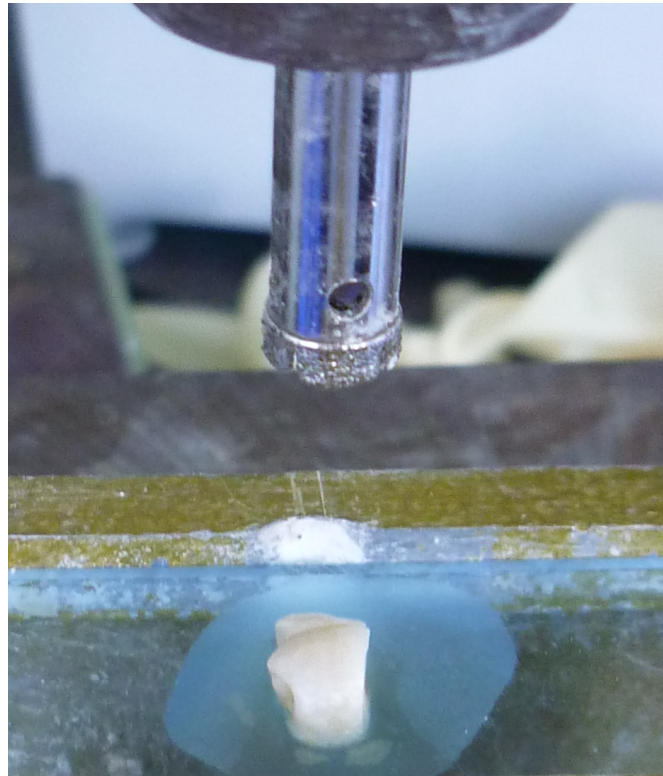


Abb. 3.3 Ausstanzen der Schmelzprobe mit dem Diamant-Hohlbohrer



Abb. 3.4 Schmelz-Dentin-Probe mit einem Durchmesser von 5mm

Weiterhin wurden Silikonformen für das Einbetten mit Hilfe von 12-Well-Platten (Cat.-No. 665 180, Greiner Bio-One, Frickenhausen Deutschland) und Silaplast Futur (Dentax Dental, Ettlingen Deutschland) hergestellt. In diesen Silikonformen wurden die Proben in einen chemisch härtenden Kunststoff (Technovit 4071, Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau Deutschland) eingebettet. Um die Schmelzseite frei von Kunststoff zu halten, wies diese während des Einbettens zum Boden der Silikonform.

Mit Hilfe eines Poliergerätes (Roto Pol-35, Struers GmbH, Willich, Deutschland) erfolgte anschließend die Politur der Prüfkörperoberfläche, um eine planparallele Oberflächenausrichtung zu erreichen.

tung zum Einbettkunststoff zu erreichen und des Weiteren eine gleiche Oberflächenrauigkeit aller Prüfkörper zu gewährleisten.

Mit einem Mikroskop (Motic SMZ-168, Motic Group CO., LTD., Hong Kong) wurden die Oberflächen der nun fertigen Prüfkörper auf mögliche Dentinexponation überprüft. Ungeeignete Prüfkörper wurden verworfen. Um bei der Messung die Prüfkörper reproduzierbar positionieren zu können, wurden sie mit einer Kerbe gekennzeichnet.

Insgesamt wurden 65 Schmelzprüfkörper hergestellt, die randomisiert einer von 5 Gruppen zugeteilt wurden (Tab. 3.4). Die Prüfkörper wurden abschließend mit einem wasserfesten Stift markiert, um sie eindeutig und reproduzierbar bei den QLF- Messungen zuordnen zu können.

Tab. 3.4 Zuteilung der Prüfkörper und Produkte der jeweiligen Gruppe

Gruppe	Anzahl d. Prüfkörper	Produktzuteilung
A	15	Fluor Protector Gel [®]
B	15	Tooth Mousse [®]
C	15	Colgate Total [®]
D	15	Positivkontrolle
E	5	Negativkontrolle

Bis zum Beginn der Versuchsphase wurden die Prüfkörper in 0,9%iger NaCl-Lösung gelagert. Die Lösung wurde dabei regelmäßig gewechselt, um Bakterienwachstum zu vermeiden.

3.3.2 Vorversuche

Um innerhalb der Demineralisationsphasen während eines Versuchstages eine annähernd gleiche Konzentration an *Streptococcus mutans* in der Demineralisationslösung zu gewährleisten, wurde in einem Vorversuch eine Testlösung angesetzt, um das Wachstum zu beobachten; Zunächst wurden die eingesetzten Bakterien vorkultiviert. Dazu wurden sie auf eine Blutagarplatte (COS, bioMérieux SA, Marcy l'Etoile France) überimpft und bei 36,7 °C in einem Brutraum bebrütet. Nach 48 Stunden waren die einzelnen Kolonien eindeutig zu sehen (Abb. 3.5) und für das weitere Vorgehen am besten zu handhaben, da man sie einzeln abzählen konnte.

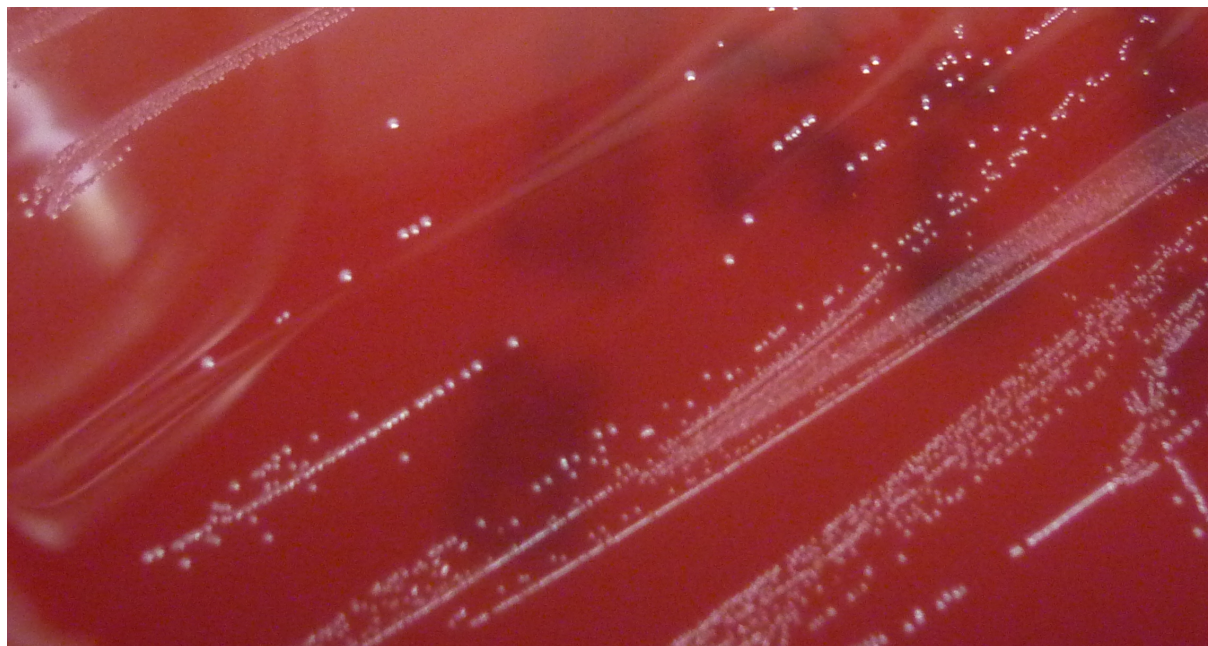


Abb. 3.5 Blutagarplatte mit *Streptococcus mutans* nach 48 Std.

Im nächsten Schritt wurden in einen mit 500ml Glucose-Bouillon befüllten Erlenmeierkolben 10 Kolonien *S. mutans* von der 48 Stunden alten Blutagarplatte überimpft. Der Erlenmeierkolben wurde mit Alufolie und Parafilm „M“ (Pechiney Plastic Packaging, Inc., Chicago USA) luftdicht verschlossen und in einem Inkubationsschüttler (CERTOMAT[®] H, Sartorius BBI Systems GmbH, Göttingen Deutschland) bei 36,7°C und 115 U/min inkubiert.

Mit Hilfe eines Spektralphotometers (Biophotometer, Eppendorf AG, Hamburg Deutschland) wurde die optische Dichte (OD) der Bakteriensuspension mit einer Wellenlänge von 600nm zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Die einzelnen Messwerte wurden in eine Grafik übertragen (Abb. 3.6).

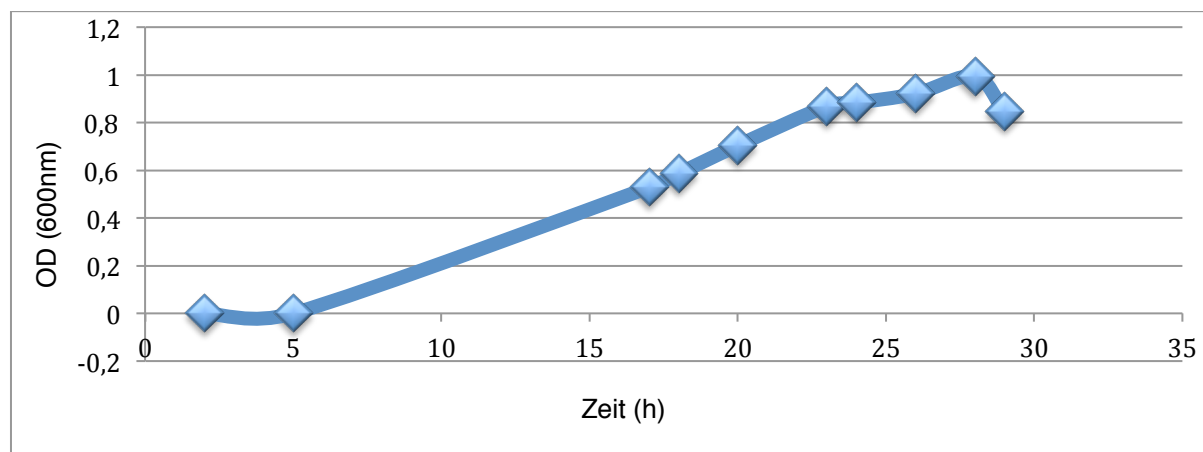


Abb. 3.6 Darstellung der Wachstumskurve der *S. mutans* – Monokultur durch Messung der optischen Dichte (OD) bei 600nm über die Zeit

Aus der Wachstumskurve geht hervor, dass nach ca. 23 Stunden ein limitiertes Wachstum einsetzte, welches nach einer stationären Phase nach 28 Stunden in eine beginnende Absterbephase überging. Die Konsequenz dieser Wachstumskurve für die Versuchsphase war, dass eine 23 Stunden alte Streptokokkensuspension für den fünf Stunden dauernden Versuchstag verwendet wurde. Der pH-Wert betrug in dieser Phase 4,5.

Analog der Vorgehensweise beim Vorversuch erfolgte die Herstellung der Demineralisationslösungen während der Versuchsphase. Zusätzlich wurde vor jedem Versuchstag bei 600 nm die optische Dichte mit Hilfe des Spektralphotometers gemessen und eine Kontrolle auf eine neue Blutagarplatte ausgestrichen; diese wurde wiederum nach Kolonienbildung auf eine mögliche Fremdkontamination überprüft (s. Tabelle 8.2 im Anhang).

3.3.3 Applikation der Testprodukte

Um die Produkte ohne Einfluss anderer kariesprotektiver Wirkstoffe zu untersuchen, wurden sie in dieser Studie nicht immer nach der Gebrauchsanweisung der Hersteller verwendet. Bei **Fluor Protector Gel**[®] (Gruppe A) und **Colgate Total**[®] (Gruppe C) stimmte die Anwendung mit der Herstellerangabe überein; **Tooth Mousse**[®] (Gruppe B) wurde, entgegen der Empfehlung es als zusätzliche Maßnahme zum Zähneputzen mit Vermeidung des Ausspülens zu benutzen, wie Zahnpasta verwendet. Zur Applikation der Testsubstanzen wurden 2-ml-Einmalspritzen (B. Braun AG, Melsungen Deutschland) verwendet, um eine definierte Menge von 0,1ml des jeweiligen Produktes auf jeden Prüfkörper aufzutragen. Die Produkte wirkten 2 Minuten ein und wurden anschließend mit sterilisiertem Aqua dest. abgespült.

3.3.4 Versuchszyklen

Der Ablauf eines Versuchstages untergliederte sich in folgende Abschnitte:

3.3.4.1 Pastenapplikation:

Zu Beginn jeden Versuchstages erfolgte zunächst die Produktapplikation mit zweiminütiger Einwirkzeit und anschließendem Abspülen mit sterilisiertem Aqua dest. Bei den Gruppen D und E (Kontrollgruppen) wurden keine Produkte appliziert.

3.3.4.2 Lagerung:

In 5 Schraubdeckeldosen (neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH, Heidelberg, Deutschland) für die Gruppen A – E sind jeweils 20 ml künstlicher Speichel eingefüllt und die Prüfkörper nach der Pastenapplikation darin gelagert worden. Die Schraubdeckeldosen be-

fanden sich für eine Stunde im Gaspacktopf mit einem Anaerobierpad im Brutraum bei 36,7 °C.

3.3.4.3 Bakterienkultur:

Bei der 23 Stunden zuvor angesetzten Demineralisationslösung (Streptokokkensuspension), erfolgten zunächst eine Zelldichtemessung und ein Abstrich zur Kontrolle der Reinheit. Anschließend wurden 20ml der Suspension in autoklavierte Schraubdeckeldosen (neoLab Mige Laborbedarf-Vertriebs GmbH, Heidelberg, Deutschland) für die Gruppen A-D verteilt. In den Behälter der Gruppe E (Negativkontrolle) wurden 20 ml der Glucose-Bouillon ohne *S. mutans* abgefüllt.

3.3.4.4 Zyklen:

Die folgenden De- und Remineralisationsabläufe wurden dreimal täglich wiederholt. Dabei stellten die Streptokokkensuspension die Demineralisation bzw. Nahrungsaufnahme und der künstliche Speichel die Remineralisation zwischen den Nahrungsaufnahmen dar.

3.3.4.4.1 Demineralisation:

Nach einer Stunde in der Remineralisationslösung wurden die Prüfkörper mit Aqua dest. abgespült und in die Demineralisationslösung umgebettet. Es folgte eine Lagerung für weitere 60 Minuten im Gaspacktopf mit einem Anaerobierpad im Brutraum bei 36,7 °C.

3.3.4.4.2 Remineralisation:

Nach der Demineralisation lagerten die Prüfkörper wieder eine Stunde in künstlichem Speichel zur Remineralisation (ebenfalls im Gaspacktopf mit einem Anaerobierpad im Brutraum bei 36,7 °C).

3.3.4.5 Pastenapplikation:

Nach der letzten Lagerung in dem künstlichen Speichel wurden alle Prüfkörper mit Aqua dest. abgespült. Die Pasten der Gruppen A-C wurden erneut aufgetragen, mit Aqua dest. abgespült und in frischem künstlichen Speichel über Nacht (15 Stunden) gelagert.

Anhand der Abbildung 3.7 lässt sich das zuvor beschriebene Studiendesign in Form eines Flussdiagrammes nachvollziehen.

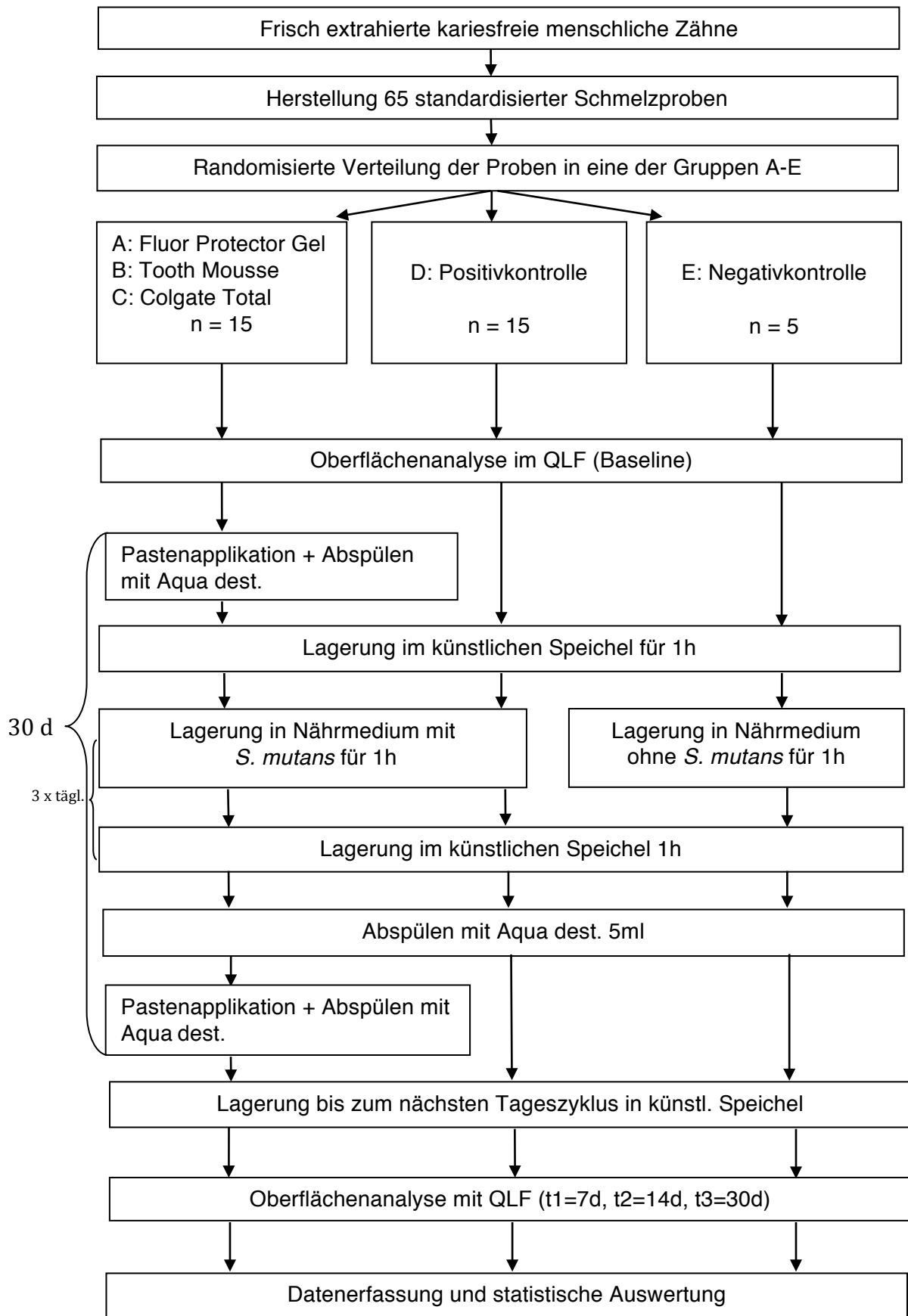


Abb. 3.7 Flussdiagramm des Studiendesigns

3.3.5 Quantitative lichtinduzierte Fluoreszenzmessung mit QLF™

Die Auswertung der *in-vitro*-Demineralisationen wurde mit dem QLF™ - System (Inspektor Research Systems BV, Amsterdam, Niederlande) durchgeführt. Das integrierte Auflichtfluoreszenzmikroskop detektierte mit einer integrierten Kamera die Prüfkörper, die anschließend mit dem lizenzierten Software-Programm Inspektor™ Pro Software (Version 2.0.0.43) ausgewertet worden sind (Abb. 3.8). Im Folgenden wird das Vorgehen näher beschrieben.

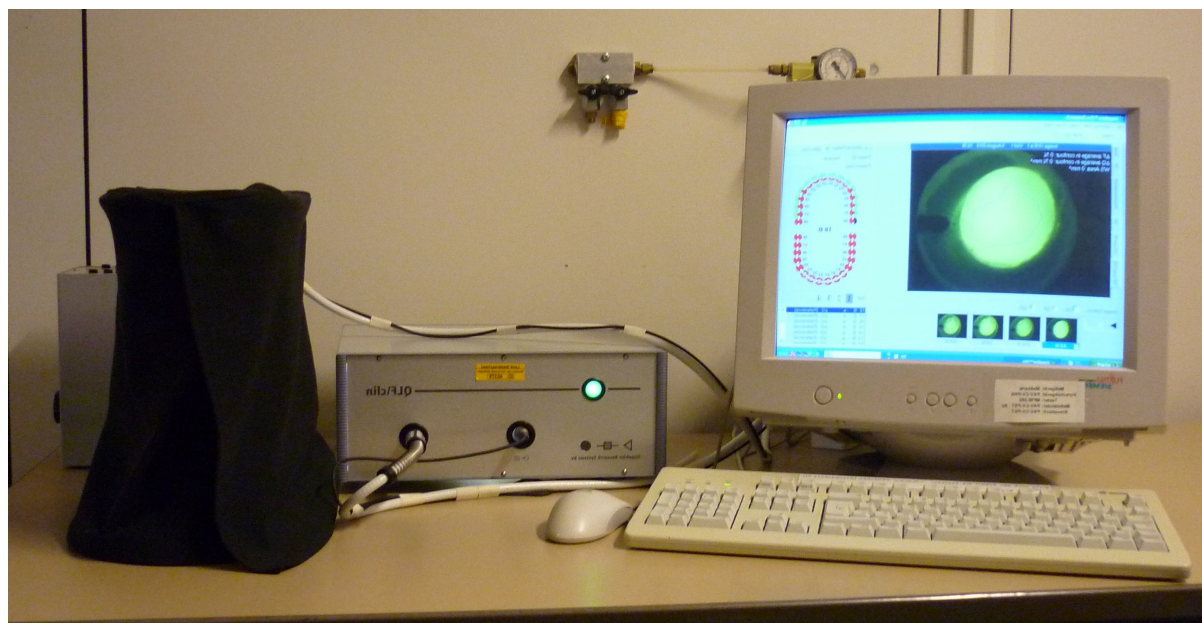


Abb. 3.8 gesamtes QLF™ - Equipment mit Software

Vor der eigentlichen Versuchsphase erfolgte eine Baseline-Messung. Um die Eigenfluoreszenz der Prüfkörper zu verhindern, wurde der Raum mit dem QLF™-Equipment abgedunkelt. Anschließend wurden die Prüfkörper aus der NaCl-Lösung entnommen und getrocknet.

Die Prüfkörper jeder Gruppe wurden nacheinander auf den Objektträger unter die Kamera gelegt; mit Hilfe der Kerbe konnte die Position bei den nachfolgenden Messungen repositioniert werden. Die Aufnahmen wurden in der Datenbank der QLF-Software gespeichert und stellten die Ausgangssituation bzw. die Baseline dar.

Während der Versuchsphase wurden am siebenten, vierzehnten und dreißigsten Tag Oberflächenanalysen vorgenommen. Im Unterschied zur Baseline-Messung lagerten die Prüfkörper vorher im künstlichen Speichel; daher wurden sie vor der Messung mit sterilisiertem Aqua dest. abgespült. Auf dem Objektträger wurden sie gemäß der Baseline-Messung repositioniert und fokussiert, bis die Software jeweils den entsprechenden Prüfkörper identifizierte und, sobald eine Korrelation von mehr als 98% bestand, den Selbstauslöser aktivierte. Da-

nach wurden die Prüfkörper wieder in künstlichem Speichel gelagert.

Nach der letzten Messung konnte mit Hilfe der Software die Veränderung über die Zeit untersucht werden. In dieser Studie wurden die Parameter der prozentualen Fluoreszenzabnahme ($\Delta F\%$) und die Läsionsausdehnung als White-Spot-Fläche (mm^2) zur Untersuchung der Karies ausgewertet.

3.3.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der von QLF ermittelten Fluoreszenz (ΔF) und der White-Spot-Fläche (mm^2) erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Statistik der Georg-August-Universität Göttingen.

Es wurden der Einfluss der Zeit, der Produkte und deren Wechselwirkung auf diese beiden Parameter mit der 2-faktoriellen Varianzanalyse untersucht. Im Vorfeld wurden die Daten aufgrund der schiefen Verteilung durch ihre Mittelränge ersetzt. Sobald ein global signifikanter Effekt festgestellt werden konnte, wurden weitere Paarvergleiche mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test vorgenommen. Dabei wurde $\alpha = 5\%$ für alle globalen Tests als Signifikanzniveau festgelegt; d.h. es besteht eine Signifikanz, sobald der p-Wert $< 0,05$ liegt. Für die Paarvergleiche wurde die Signifikanz als das nach Bonferroni korrigierte Niveau von α (α dividiert durch die jeweilige Testanzahl) definiert. Weiterhin wurden die Parameter der White-Spot-Fläche und der prozentualen Fluoreszenzabnahme auf Korrelationen untersucht. Die Analysen wurden mit den lizenzierten Software-Programmen SAS (SAS Institute Version 9.2) und Statistica (StatSoft Version 9) ausgeführt.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt mittels Boxplots. Das Grundschema eines Boxplots beinhaltet den Medianwert mit dem oberen und unteren Quartil, die 50% der Daten umfassen. Die Maximum- und Minimumwerte werden mit den Whiskers dargestellt.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der prozentualen Fluoreszenzabnahme

4.1.1 Allgemein

Bei den nachfolgenden Ergebnissen der statistischen Auswertung ließen sich signifikante Einflüsse der Produkte, der Zeit und deren Wechselwirkung auf die Fluoreszenz feststellen (p -Wert < 0.001) (Tab. 4.1). Bei den einzelnen Gruppen war die Abnahme der Fluoreszenz unterschiedlich stark ausgeprägt. Dieses wird in weiteren Kapiteln näher erläutert. Die ausgeprägteste Veränderung war nach 30 Tagen vorhanden. Die Abbildung 4.1 zeigt mit Hilfe der Boxplots die prozentuale Fluoreszenzabnahme aller fünf Gruppen über die vier Messzeitpunkte.

Tab. 4.1 Einflussfaktoren der prozentualen Fluoreszenzabnahme und deren p -Werte

Parameter	Faktor	p -Wert	Interpretation
prozentuale Fluoreszenzabnahme	Gruppe	<0.001	signifikant
	Zeit	<0.001	signifikant
	Gruppe*Zeit	<0.001	signifikant

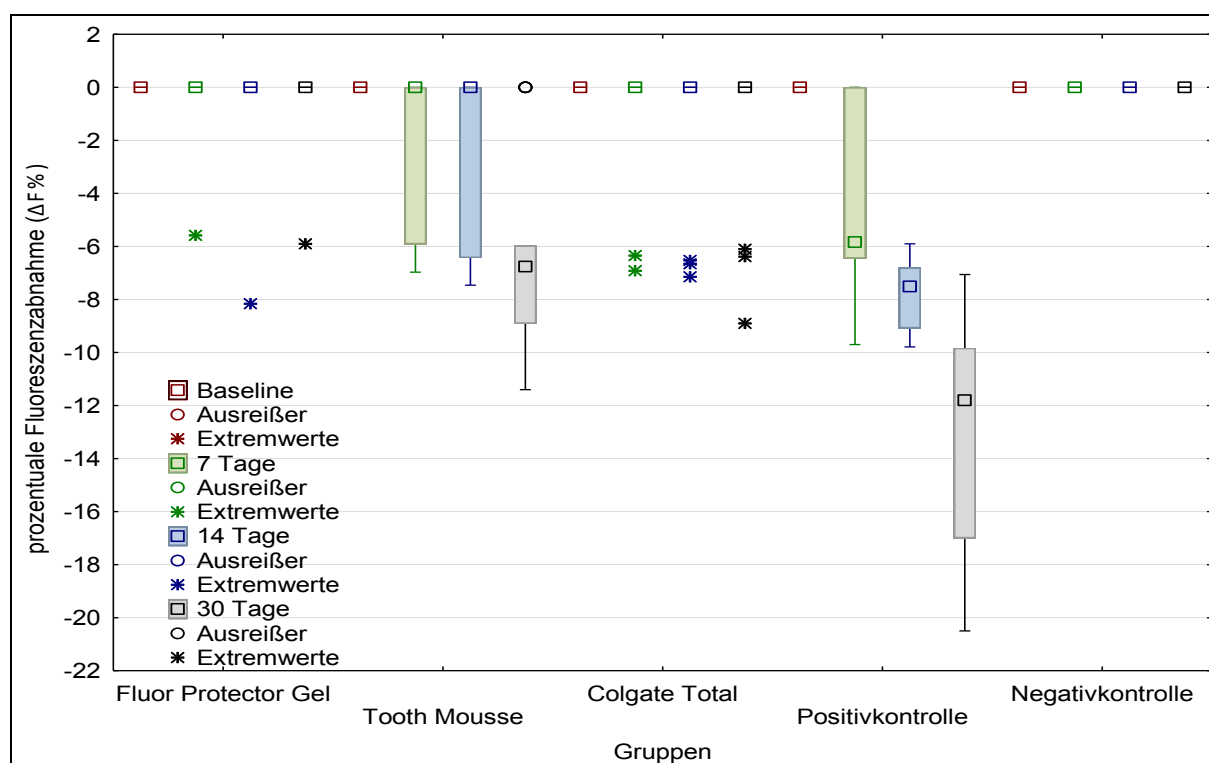
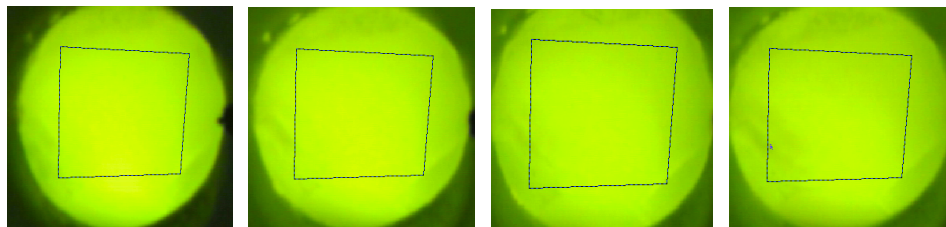
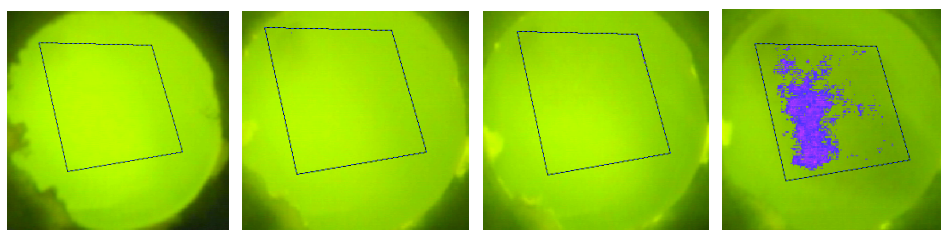


Abb. 4.1 Boxplots der prozentualen Fluoreszenzabnahme jeder Gruppe über die vier Zeitpunkte

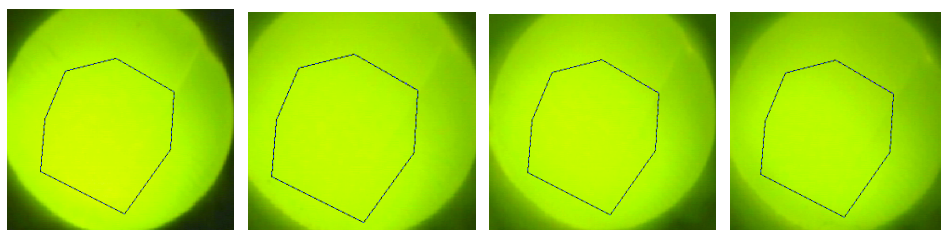
Die nachfolgende Abbildung 4.2 zeigt die Auswertung der Fluoreszenz einzelner Gruppen durch das QLF™ – System zu jedem der 4 Messzeitpunkte. Aus jeder Gruppe wurde exemplarisch ein Prüfkörper ausgewählt.



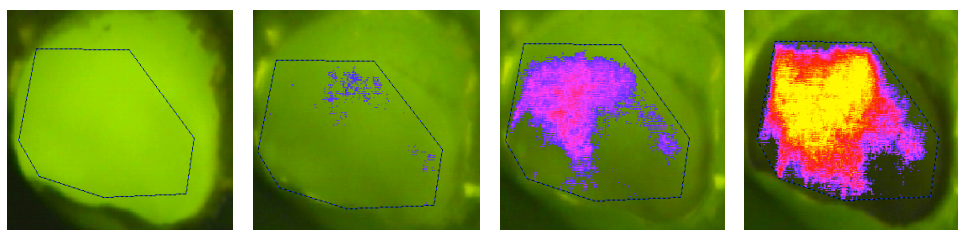
Fluor Protector Gel®



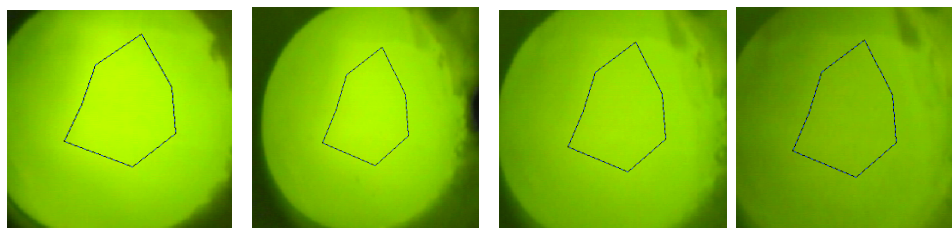
Tooth Mousse®



Colgate Total®



Positivkontrolle



Negativkontrolle

Abb. 4.2 ausgewertete Prüfkörper jeder Gruppe über die vier Messzeitpunkte

4.1.2 Abnahme der prozentualen Fluoreszenz der einzelnen Gruppen über die Zeit

Bei der Betrachtung der Ergebnisse über den gesamten Zeitraum konnte bei den Gruppen von **Fluor Protector Gel®**, **Colgate Total®** und der **Negativkontrolle** zu keinem Zeitpunkt eine Fluoreszenzabnahme festgestellt werden. Sowohl die Medianwerte als auch die Interquartilsabstände wichen nicht von der Baseline-Messung ab (Median: 0.00); damit gab es über die Zeit keinen signifikanten Unterschied bei diesen Gruppen (Tab. 4.2).

Tab. 4.2 Prozentuale Fluoreszenzabnahme aller Gruppen über die vier Zeitpunkte. Alle Werte stellen die Differenz zur Baseline dar

Produkt	Zeit	Median	Interquartilsabstände	Spannweite	Signifikanz
Fluor Protector Gel®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	0.56 nicht signifikant
	7d	0.00	0.00-0.00	-5.59-0.00	
	14d	0.00	0.00-0.00	-8.16-0.00	
	30d	0.00	0.00-0.00	-5.91-0.00	
Tooth Mousse®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	<0.01 signifikant
	7d	0.00	-5.91-0.00	-6.97-0.00	
	14d	0.00	-6.43-0.00	-7.46-0.00	
	30d	-6.76	-8.91-(-5.97)	-11.40-0.00	
Colgate Total®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	0.22 nicht signifikant
	7d	0.00	0.00-0.00	-6.92-0.00	
	14d	0.00	0.00-0.00	-7.15-0.00	
	30d	0.00	0.00-0.00	-8.90-0.00	
Positivkontrolle	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	<0.01 signifikant
	7d	-5.84	-6.45-0.00	-9.70-0.00	
	14d	-7.51	-9.08-(-6.80)	-9.79-(-5.90)	
	30d	-11.80	-17.00-(-9.83)	-20.50-(-7.06)	
Negativkontrolle*	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	-
	7d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	
	14d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	
	30d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	

*) aufgrund der Null-Werte keine Statistik möglich

Im Gegensatz dazu konnte bei **Tooth Mousse®** ein signifikanter Verlust der Fluoreszenz (p-Wert: < 0.01) über die vier Messzeitpunkte ermittelt werden. Während der Medianwert zu den Messzeitpunkten nach 7 und 14 Tagen noch nicht von der Baseline abwich, lag nach 30 Tagen ein Median von -6.76 (Interquartilsabstand: -8.91 – (-5.97)) vor (Tab. 4.2) und der p-Wert war im Vergleich zur Baseline signifikant (p-Wert: 0.012) (Tab. 4.3).

Auch die **Positivkontrolle** zeigte eine signifikante Abnahme der Fluoreszenz (p-Wert: <0.01) (Tab. 4.2). Bereits nach 7 Tagen konnte ein deutlicher Verlust der Fluoreszenz festgestellt werden (Median: -5.84 und Interquartilsabstand: -6.45 – 0.00). Diese Abnahme der Fluoreszenz setzte sich kontinuierlich bis zur letzten Messung fort. Nach 30 Tagen wurde die größte Fluoreszenzabnahme (Median -11.80 und Interquartilsabstand -17.00 – (-9.83)) und ein signifikanter Unterschied (p-Wert: 0.004) zur Baseline ermittelt (Tab. 4.3).

Die Veränderung beider Gruppen nach 30 Tagen zur Baseline lässt sich aus der Abbildung 4.3 entnehmen.

Tab. 4.3 Paarvergleich der prozentualen Fluoreszenzabnahme (p adjustiert nach Bonferroni)

Gruppe	Zeitpunkt	p-Wert	Interpretation
Tooth Mousse®	Baseline vs. 30 Tage	0.012	signifikant
Positivkontrolle	Baseline vs. 30 Tage	0.004	signifikant

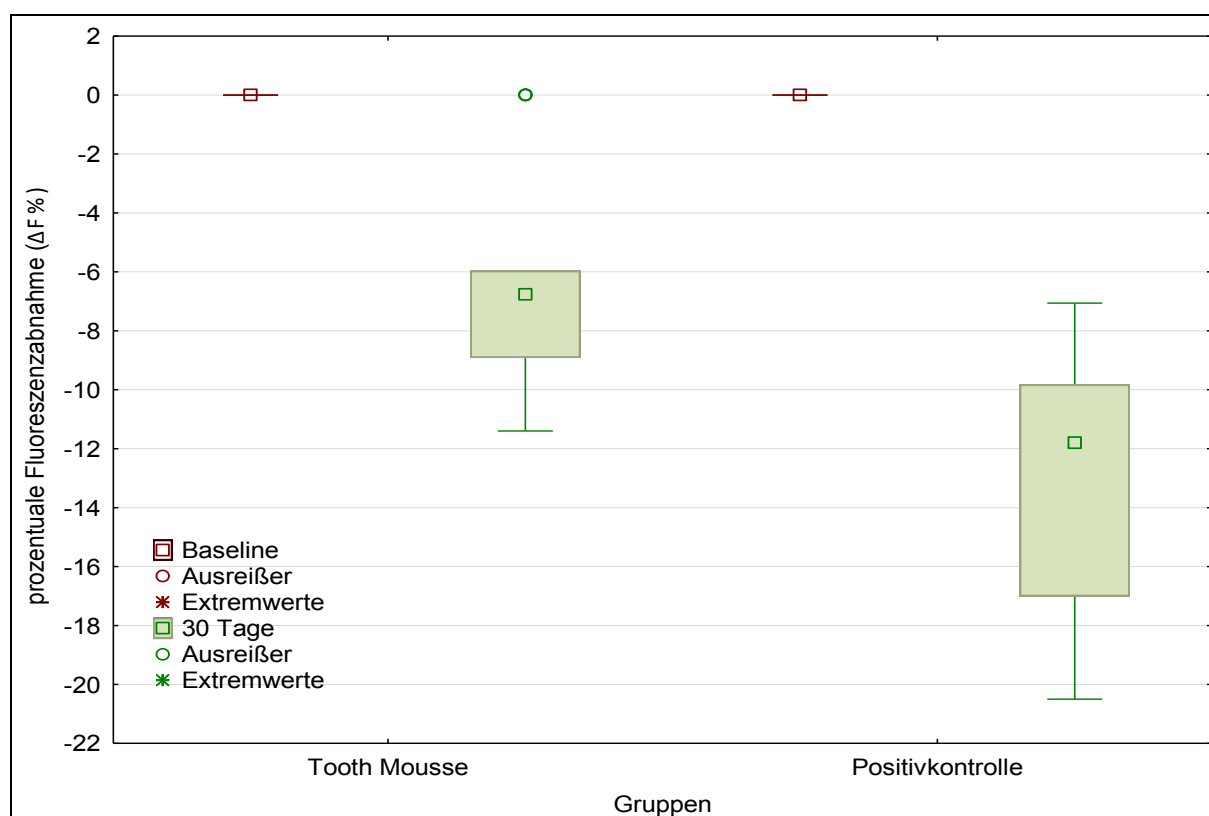


Abb. 4.3 Darstellung der prozentualen Fluoreszenzabnahme bei der Gruppe von Tooth Mousse® und der Positivkontrolle nach 30 Tagen im Vergleich zur Baseline mit Hilfe von Boxplots

4.1.3 Vergleich der Produktgruppen mit den Kontrollgruppen über die Zeit

Die einzelnen Testprodukte wiesen nach 30 Tagen signifikant geringere Abnahmen der prozentualen Fluoreszenz im Vergleich zu der **Positivkontrolle** auf. Die p-Werte der Paarvergleiche zwischen den Produktgruppen und der Positivkontrolle lagen unter 0.05.

Im Vergleich zu der **Negativkontrolle** konnten bei allen Produktgruppen nach 30 Tagen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der prozentualen Fluoreszenzabnahme festgestellt werden. Darüber hinaus wiesen **Fluor Protector Gel[®]** und **Colgate Total[®]** identische Medianwerte und Interquartilsabstände wie die Negativkontrolle auf (Median: 0.00 und Interquartilsabstand: 0.00 – 0.00). Bei **Tooth Mousse[®]** lag der Median nach 30 Tagen bei -6.76 und unterschied sich damit von dem Median der Negativkontrolle, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (p-Wert: 0.08) (Tab. 4.4 Abb. 4.4).

Tab. 4.4 Vergleich der Fluoreszenzabnahme zwischen den Produktgruppen und den Kontrollen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)

Zeitpunkt	Paarvergleich	p-Wert adj.	Interpretation
Nach 30 Tagen	Fluor Protector Gel [®] vs. Positivkontrolle	0.0012	signifikant
	Fluor Protector Gel [®] vs. Negativkontrolle	1.0000	nicht signifikant
	Tooth Mousse [®] vs. Positivkontrolle	0.0012	signifikant
	Tooth Mousse [®] vs. Negativkontrolle	0.08	nicht signifikant
	Colgate Total [®] vs. Positivkontrolle	0.012	signifikant
	Colgate Total [®] vs. Negativkontrolle	1.0000	nicht signifikant
	Positivkontrolle vs. Negativkontrolle	0.012	signifikant

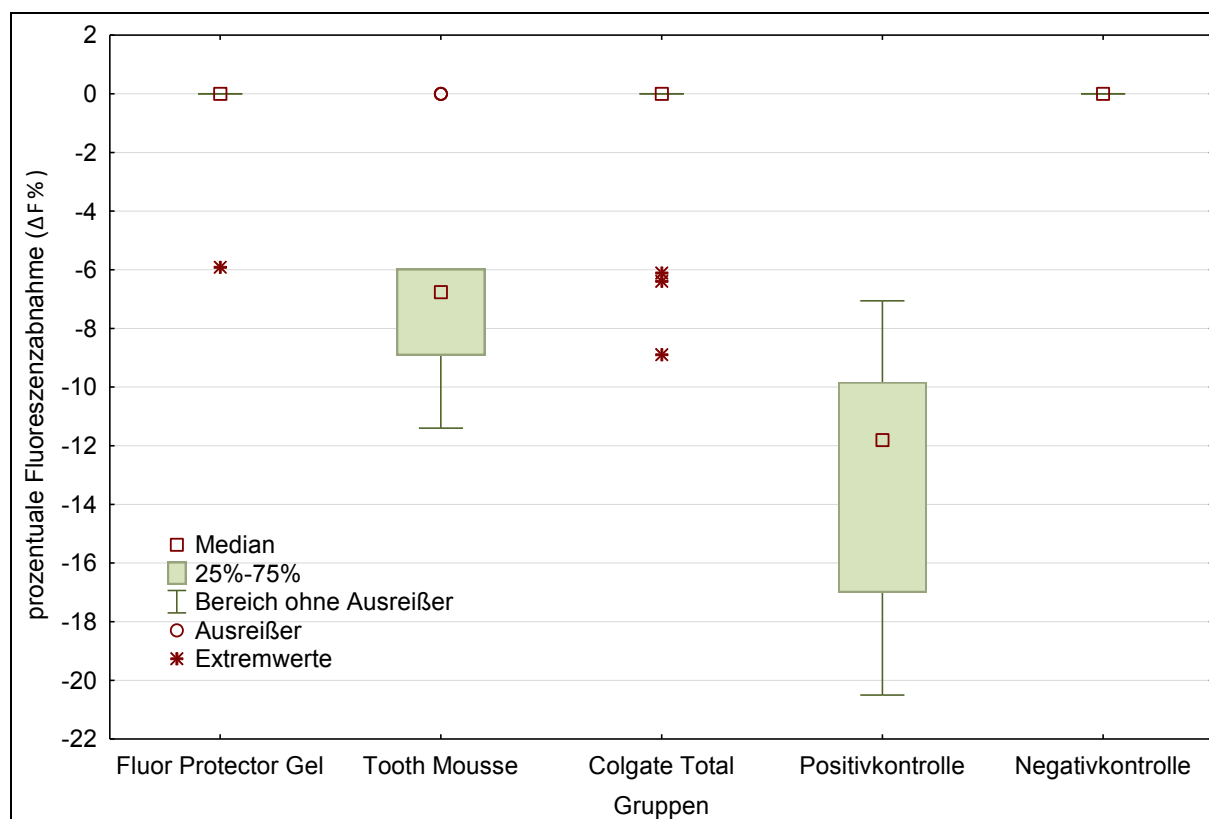


Abb. 4.4 Darstellung der prozentualen Fluoreszenzabnahme aller Gruppen nach 30 Tagen mit Hilfe von Boxplots

4.1.4 Vergleich der Produkte untereinander über die Zeit

Nach 30 Tagen konnte beim Vergleich von **Fluor Protector Gel**[®] mit **Colgate Total**[®] kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der prozentualen Fluoreszenzabnahme festgestellt werden (p-Wert: 1.000).

Demgegenüber zeigte sich bei **Tooth Mousse**[®] sowohl bei dem Vergleich mit Fluor Protector Gel[®] als auch bei dem Vergleich mit Colgate Total[®] eine signifikant größere Abnahme der prozentualen Fluoreszenz. Im Vergleich zum Fluor Protector Gel[®] betrug der p-Wert 0.0012, bei der Gegenüberstellung zu Colgate Total[®] lag er bei 0.012. Tooth Mousse[®] wies damit unter den Produktgruppen die deutlichste Abnahme der prozentualen Fluoreszenz auf (Median: -6.76 und Interquartilsabstand: -8.91 – (-5.97)). Die nachstehende Tabelle 4.5 zeigt die erstellten Paarvergleiche der Produktgruppen nach 30 Tagen.

Tab. 4.5 Paarvergleiche der prozentualen Fluoreszenzabnahme unter den Produktgruppen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)

Zeitpunkt	Paarvergleich	p-Wert adj.	Interpretation
Nach 30 Tagen	Fluor Protector Gel [®] vs. Tooth Mousse [®]	0.0012	signifikant
	Fluor Protector Gel [®] vs. Colgate Total [®]	1.0000	nicht signifikant
	Tooth Mousse [®] vs. Colgate Total [®]	0.012	signifikant

4.2 Ergebnisse der White-Spot-Fläche

4.2.1 Allgemein

Bei der statistischen Auswertung der White-Spot-Fläche ließ sich eine Veränderung über die Zeit feststellen, die nach 30 Tagen signifikant war. Weiterhin waren unter den Gruppen signifikante Unterschiede vorhanden und auch die Wechselwirkung zwischen der Zeit und den Produkten hatte Einfluss auf die Fläche der Läsionen. In der Abbildung 4.5 lässt sich die Entwicklung der kariösen Läsionen über die vier Messzeitpunkte bei den einzelnen Gruppen nachvollziehen.

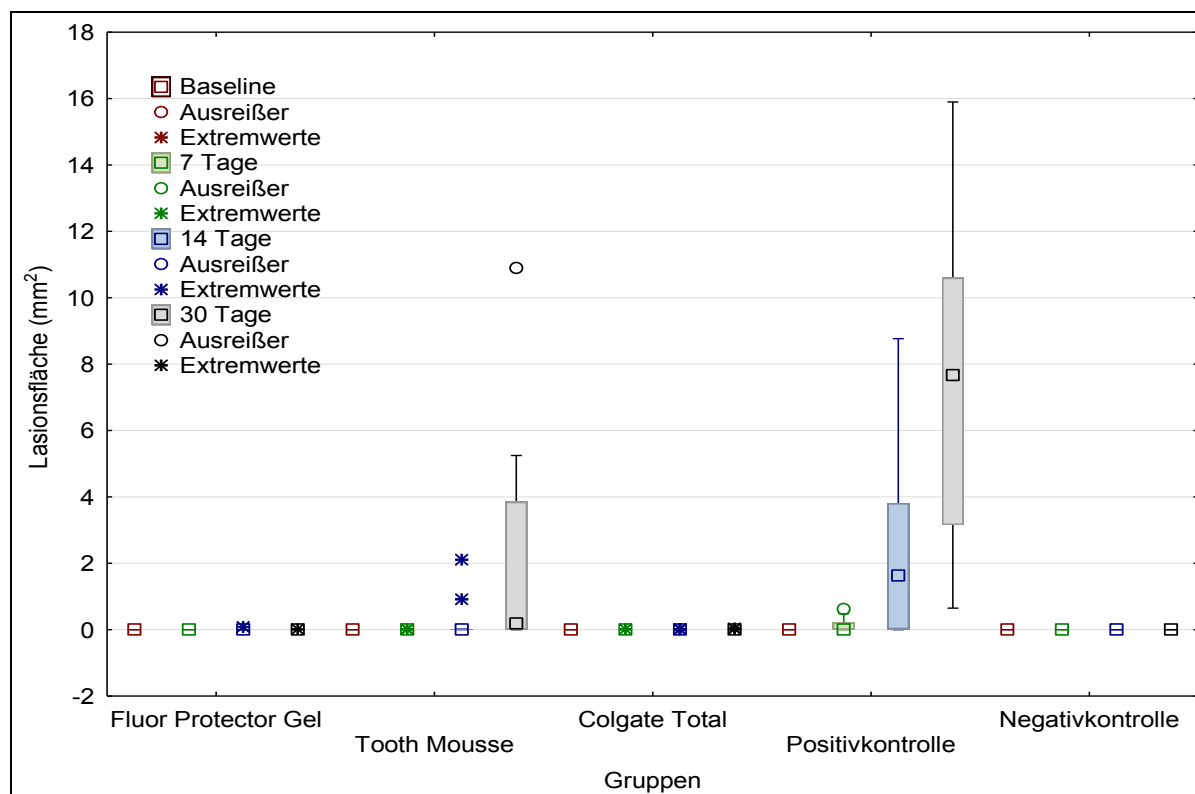


Abb. 4.5 Darstellung der Entwicklung der White-Spot-Fläche über die Zeit in den einzelnen Gruppen mit Hilfe der Boxplots

4.2.2 Zunahme der White-Spot-Fläche der einzelnen Gruppen über die Zeit

Über alle vier Messzeitpunkte konnte bei den Gruppen von **Fluor Protector Gel®**, **Colgate Total®** und der **Negativkontrolle** keine Entstehung einer White-Spot-Fläche festgestellt werden. Sowohl die Medianwerte als auch die Interquartilsabstände wichen über die Zeit nicht von der Baseline-Messung ab und betragen somit zu jedem Zeitpunkt 0.00 (Interquartilsabstand: 0.00 – 0.00). Nur bei der Spannweite ließen sich geringfügige Veränderungen bei den Gruppen von Fluor Protector Gel® und Colgate Total® feststellen (Tab. 4.6).

Tab. 4.6 Läsionsflächen aller Gruppen über die vier Zeitpunkte. Alle Werte stellen die Differenz zur Baseline dar.

Produkt	Zeit	Median	Interquartilsabstände	Spannweite	Signifikanz
Fluor Protector Gel®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	0.56 nicht signifikant
	7d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	
	14d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.08	
	30d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.01	
Tooth Mousse®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	<0.01 signifikant
	7d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.01	
	14d	0.00	0.00-0.01	0.00-2.11	
	30d	0.19	0.01-3.85	0.00-10.90	
Colgate Total®	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	0.3575 nicht signifikant
	7d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.01	
	14d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.01	
	30d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.04	
Positivkontrolle	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	<0.01 signifikant
	7d	0.00	0.00-0.21	0.00-0.62	
	14d	1.63	0.02-3.81	0.00-8.77	
	30d	7.67	3.16-10.60	0.65-15.90	
Negativkontrolle*	Baseline	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	-
	7d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	
	14d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	
	30d	0.00	0.00-0.00	0.00-0.00	

*) aufgrund der Null-Werte keine Statistik möglich

Indessen war bei der Gruppe von **Tooth Mousse®** nach 30 Tagen eine signifikante Zunahme der Läsionsfläche zu beobachten (p-Wert: 0.012) (Tab. 4.7). Eine wahrnehmbare Veränderung des Medianwertes war erst nach der letzten Messung mit einem Wert von 0.19 mm² erkennbar (Tab. 4.6). Davor wich er nicht von der Baseline ab.

Die Gruppe der **Positivkontrolle** zeigte über die vier Messzeitpunkte eine kontinuierliche Zunahme der Läsionsfläche, deren Median nach 30 Tagen 7.67 mm² (Interquartilsabstand 3.16 – 10.60 mm²) betrug (Tab. 4.6). Die Signifikanz gegenüber der Baseline war mit einem p-Wert von 0,004 deutlich zu erkennen (Tab. 4.7). Die Boxplots in der Abbildung 4.6 zeigen die Unterschiede bei diesen beiden Gruppen zwischen der Baseline und der Messung nach 30 Tagen.

Tab. 4.7 Paarvergleich der Läsionsfläche zum Zeitpunkt der Baseline und nach der letzten Messung (p adjustiert nach Bonferroni)

Gruppe	Paarvergleich	p-Wert	Interpretation
Tooth Mouth®	Baseline vs. 30 Tage	0.012	signifikant
Positivkontrolle	Baseline vs. 30 Tage	0.004	signifikant

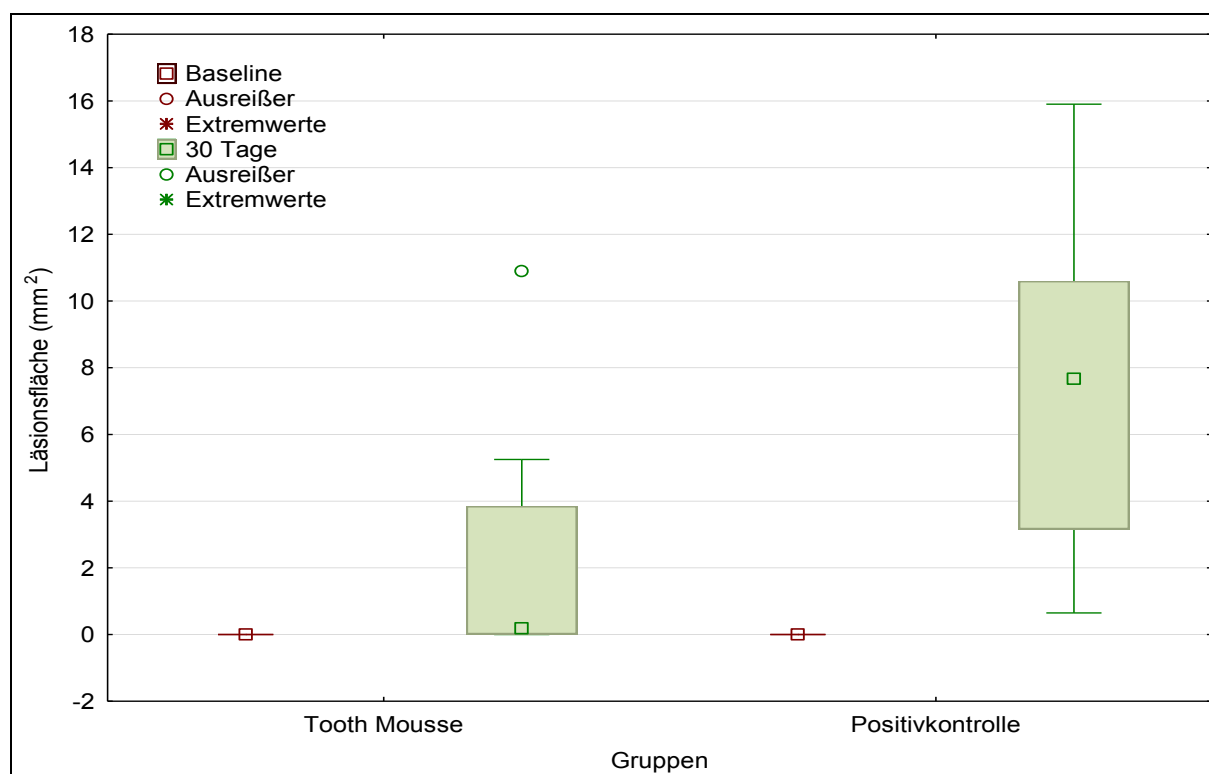


Abb. 4.6 Vergleich der Läsionsflächen bei der Gruppe von Tooth Mousse® und der Positivkontrolle nach 30 Tagen zur Baseline

4.2.3 Vergleich der Produkte mit den Kontrollgruppen über die Zeit

Bei allen Testprodukten bildete sich nach 30 Tagen eine signifikant geringere Läsionsfläche im Vergleich zur **Positivkontrolle**. Die p-Werte der Gegenüberstellungen lagen unter 0.05. Im Vergleich zur **Negativkontrolle** konnten bei den einzelnen Produktgruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der White-Spot-Fläche vermerkt werden (Tab. 4.8).

Weiterhin lagen die Medianwerte und Interquartilsabstände bei den Gruppen von **Fluor Protector Gel[®]** und **Colgate Total[®]** bei Null. Die Werte stimmten somit mit der Negativkontrolle überein (Median: 0.00 und Interquartilsabstand: 0.00 – 0.00). **Bei Tooth Mousse[®]** erhöhte sich der Median auf 0.19 mm² (Interquartilsabstand: 0.01 – 3.85) (Tab. 4.6), unterschied sich aber trotzdem signifikant von der Positivkontrolle. Zur Negativkontrolle lässt sich ein starker Unterschied vermuten (Abb. 4.7), dieser ist aber statistisch nicht signifikant (p-Wert: 0.096) (Tab. 4.8).

Tab. 4.8 Vergleich der Läsionsfläche zwischen den Produktgruppen und den Kontrollen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)

Zeitpunkt	Parameter	Paarvergleich	p-Wert adj.	Interpretation		
Nach 30 Tagen	White-Spot Fläche	Fluor Protector Gel [®] vs. Positivkontrolle	0.0012	signifikant		
		Fluor Protector Gel [®] vs. Negativkontrolle	1.0000	nicht signifikant		
		Tooth Mousse [®] vs. Positivkontrolle	0.0108	signifikant		
		Tooth Mousse [®] vs. Negativkontrolle	0.096	nicht signifikant		
		Colgate Total [®] vs. Positivkontrolle	0.0012	signifikant		
		Colgate Total [®] vs. Negativkontrolle	1.0000	nicht signifikant		
		Positivkontrolle vs. Negativkontrolle	0.012	signifikant		

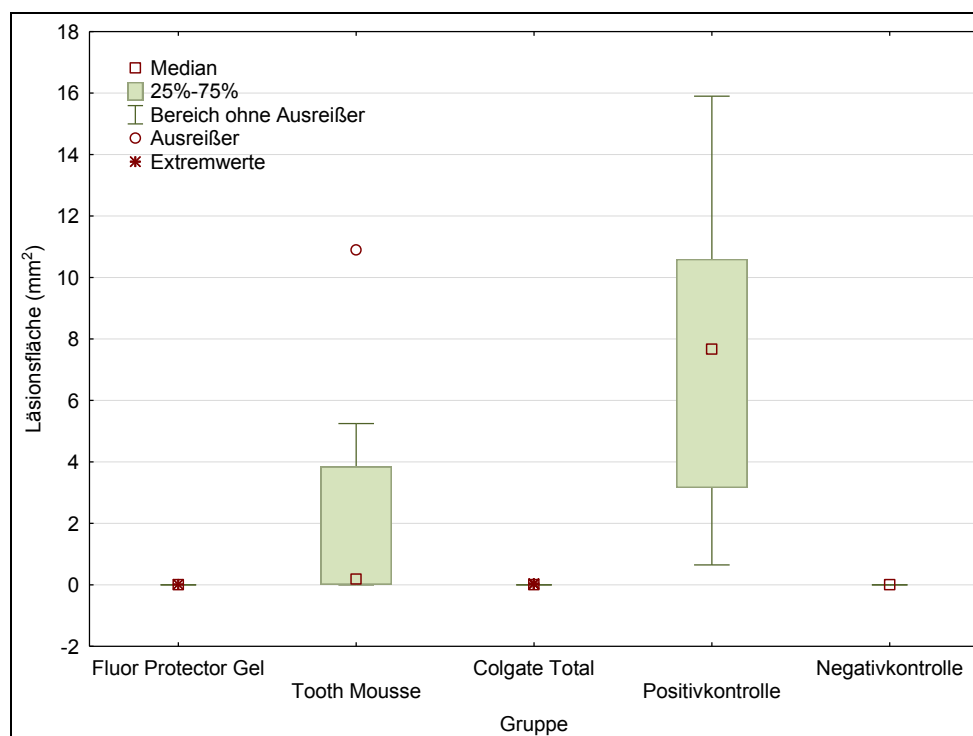


Abb. 4.7 Darstellung der White-Spot-Flächen aller Gruppen nach 30 Tagen mit Hilfe von Boxplots

4.2.4 Vergleich der Produkte untereinander über die Zeit

Nach einem Zeitraum von 30 Tagen konnte beim Vergleich von **Fluor Protector Gel**[®] mit **Colgate Total**[®] kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Läsionsfläche festgestellt werden (p-Wert: 1.000).

Hingegen zeigte sich bei **Tooth Mousse**[®] sowohl bei dem Vergleich mit Fluor Protector Gel[®] als auch bei dem Vergleich mit Colgate Total[®] eine signifikant größere Zunahme der White-Spot-Fläche. Der p-Wert betrug jeweils 0.0012. Tooth Mousse[®] wies damit unter den Produktgruppen die deutlichste Zunahme der Läsionsfläche auf (Median: 0.19 und Interquartilsabstand: 0.01 – 3.85). Die nachstehende Tabelle 4.9 zeigt die erstellten Paarvergleiche der Produktgruppen nach 30 Tagen.

Tab. 4.9 Paarvergleiche der prozentualen Fluoreszenzabnahme unter den Produktgruppen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)

Zeitpunkt	Parameter	Paarvergleich	p-Wert adj.	Interpretation
Nach 30 Tagen	White-Spot Fläche	Fluor Protector Gel [®] vs. Tooth mousse [®]	0.0012	signifikant
		Fluor Protector Gel [®] vs. Colgate Total [®]	1.0000	nicht signifikant
		Tooth Mousse [®] vs. Colgate Total [®]	0.0012	signifikant

4.3 Korrelation

Nach der Auswertung der statistischen Ergebnisse der prozentualen Fluoreszenzabnahme und der White-Spot-Fläche wurden diese Merkmale auf einen möglichen linearen Zusammenhang überprüft (Abb. 4.8).

Betrachtet man die Korrelation dieser Merkmale unabhängig von Gruppe und Zeitpunkt, ergab der Test einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von $r = -0,7431$. Der Koeffizient ist deutlich kleiner als Null, infolgedessen besteht durchaus ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Merkmalen. Das ergab auch der Steigers Z-Test mit der Nullhypothese $r = 0$ ($p = <0,0001$). Da jedoch $|r| < 1$ ist, besteht kein vollständiger linearer Zusammenhang zwischen den Merkmalen. Der Zusammenhang lässt sich durch die negative Regressionsgerade $y = -0,2572 - 0,3849x$ beschreiben und ist somit gegensinnig, d.h. je höher der Verlust der prozentualen Fluoreszenz, desto größer ist die Läsionsfläche. Der Determinationskoeffizient $r^2 = 0,5522$ besagt, dass ca. 55% der Varianz der White-Spot-Fläche durch das Modell der Regressionsgeraden vorhergesagt werden können, die anderen 45% sind durch nicht im Modell berücksichtigte Einflüsse und Zufallsstreuung bedingt. Somit ist ein enger Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen vorhanden.

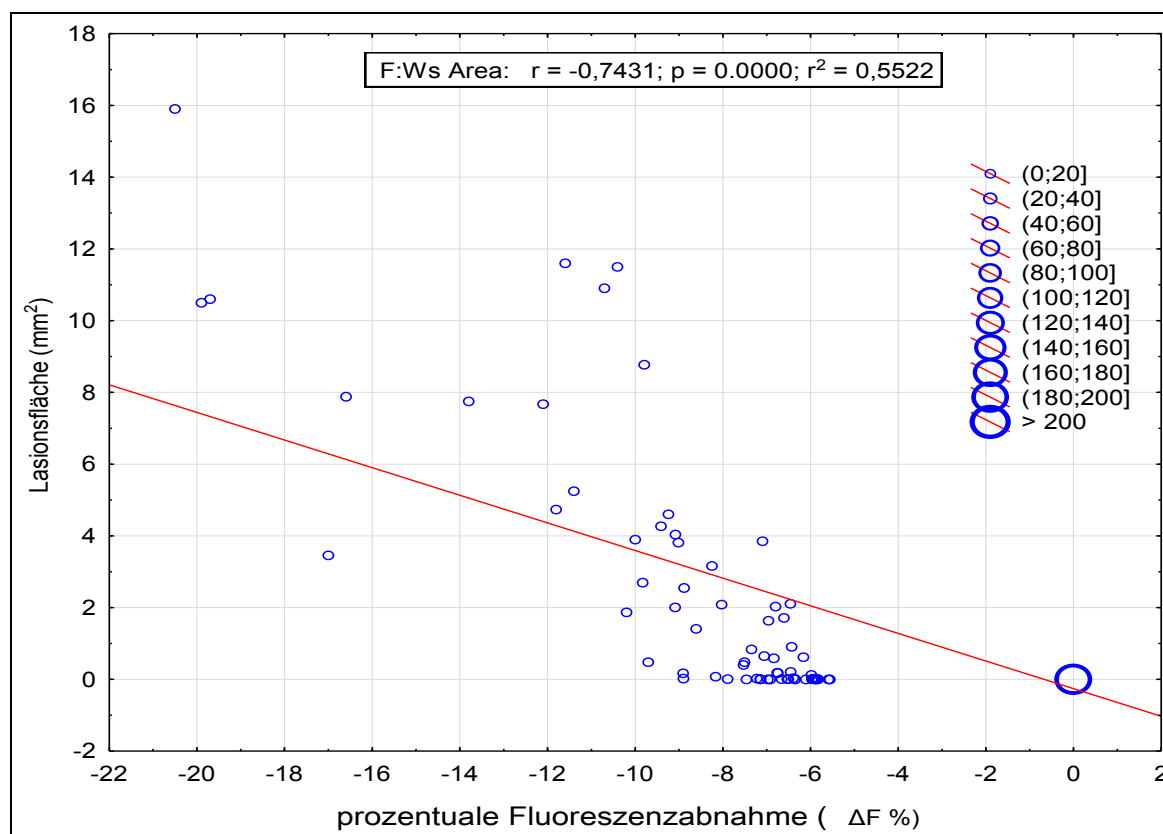


Abb. 4.8 Korrelation der Läsionsfläche (mm^2) und der prozentualen Fluoreszenzabnahme (ΔF %) aller Gruppen unabhängig von der Zeit

Die Zusammenhänge der prozentualen Fluoreszenzabnahme und der White-Spot-Fläche unterschieden sich leicht zwischen den Gruppen. Bei Fluor Protector Gel[®], Colgate Total[®] und der Positivkontrolle war die Korrelation höher als bei Tooth Mousse[®] ($r^2 \sim 0,3$). Die einzelnen Werte lassen sich der Tabelle 4.10 entnehmen.

Tab. 4.10 Korrelations- und Determinationskoeffizienten der sechs Gruppen unabhängig von der Zeit

Gruppe	Fluor Protector Gel [®]	Tooth Mousse [®]	Colgate Total [®]	Positivkontrolle	Negativkontrolle
r	-0,7610	-0, 5827	-0,7057	-0,7882	—*)
r²	0,5792	0,3395	0,4908	0,6212	—*)

*) aufgrund der Null-Werte keine Statistik möglich

4.4 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Prozentualer Fluoreszenzverlust

- Es gab signifikante Einflüsse der Produkte, der Zeit und deren Wechselwirkung auf die prozentuale Fluoreszenzabnahme.
- Bei den Gruppen von **Fluor Protector Gel**[®], **Colgate Total**[®] und der **Negativkontrolle** konnte zu keinem Zeitpunkt eine Fluoreszenzabnahme festgestellt werden (Median: 0.00).
- Die **Positivkontrolle** hatte den größten prozentualen Fluoreszenzverlust (Median: -11.80%).
- Von den Produkten zeigte **Tooth Mousse**[®] die größte Abnahme der Fluoreszenz (Median: -6.76%); diese unterschied sich signifikant von **Fluor Protector Gel**[®] (Median: 0.00) und **Colgate Total**[®] (Median: 0.00).

Läsionsflächen

- Es gab signifikante Einflüsse der Produkte, der Zeit und deren Wechselwirkung auf die Läsionsfläche.
- Bei den Gruppen von **Fluor Protector Gel**[®], **Colgate Total**[®] und der **Negativkontrolle** konnte zu keinem Zeitpunkt eine Zunahme der Läsionsfläche festgestellt werden (Median: 0.00) .
- Bei der Gruppe von **Tooth Mousse**[®] hat die Läsionsfläche kontinuierlich zugenommen (Median 0.19 mm²).
- Die **Positivkontrolle** hatte über die Zeit die größten Läsionsflächen: Nach 30 Tagen lag der Median bei 7.67mm².
- Beim Vergleich der Gruppen untereinander war **Tooth Mousse**[®] signifikant schlechter als **Fluor Protector Gel**[®] und **Colgate Total**[®]. Bei beiden betrug der Median 0.00.

Korrelation

- Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen den Parametern der prozentualen Fluoreszenzabnahme und der Läsionsfläche.
- Er ist jedoch nicht vollständig linear.

5 Diskussion

5.1 Materialien

5.1.1 Humaner vs. boviner Schmelz

Die Probengewinnung in dieser Studie erfolgte aufgrund der Reproduzierbarkeit und Anwendbarkeit auf die Praxis aus extrahierten, kariesfreien humanen Zähnen der zweiten Dentition. Diese sind am besten für die *in-vitro*-Forschung geeignet, bedingen aber eine gewisse Limitation durch ihre eingeschränkte Verfügbarkeit und die geringe Menge an Zahnhartsubstanz (Esser et al. 1998). Des Weiteren gibt Mellberg (1992) zu bedenken, dass die unterschiedliche Herkunft der Zähne zu starken Abweichungen bezüglich des Alters und des Mineralisationsgrades führt. Diese Umstände könnten zu erhöhten Variationsbreiten bei den Ergebnissen und somit zu methodischen Problemen führen. Seemann et al. (2005) konnte jedoch nachweisen, dass bei Versuchen an 30 humanen Schmelzproben in einer künstlichen Mundhöhle keine signifikanten Unterschiede bei der Läsionstiefe entstanden sind.

Eine in der Literatur beschriebene und gut erforschte Alternative in der Kariesforschung ist die Substitution der humanen durch bovine Zahnhartsubstanz. Der bovine Schmelz hat den Vorteil, dass er in großen Mengen zeitnah verfügbar ist, eine große, relativ flache Oberfläche besitzt und in der Zusammensetzung homogener ist als humaner Schmelz. Diese Eigenschaften würden zu besser reproduzierbaren experimentellen Ergebnissen führen (Mellberg 1992). Trotz der sehr starken Ähnlichkeit zwischen den beiden Zahnhartsubstanzen (Esser et al. 1998) wurde in Studien nachgewiesen, dass boviner Schmelz nicht so kariesresistent ist wie der menschliche. Weiterhin kann die Oberflächenpolitur von Rinderschmelz zu ausgeprägteren Demineralisationserscheinungen führen (Kielbassa et al. 2002). Verantwortlich dafür könnte die höhere Porosität im Vergleich zum menschlichen Schmelz sein. Eine kariöse Läsion entsteht bei einer Probe aus bovinem Schmelz dreimal so schnell wie in humanem (Featherstone und Mellberg 1981). Da diese Tatsache in der vorliegenden Studie zur möglichen Verfälschung von Ergebnissen geführt hätte, wurde auf die Substitution verzichtet.

5.1.2 Produkte und ihre Anwendung

Für die vorliegende Arbeit wurden drei unterschiedliche Produkte gewählt, die der Patient selbstständig bei der häuslichen Prophylaxe anwenden kann.

Die Zahnpasta Colgate Total[®] von Colgate-Palmolive diene dabei als Referenz unter den Produkten. Mit 1450 ppm Natriumfluorid enthält sie die empfohlene Menge an Fluorid, da Prophylaxemittel mit >1500ppm nicht mehr unter die Kosmetikverordnung fallen und in der EU nicht frei verkäuflich sind. Als therapeutischer Zusatz ist die antibakterielle Substanz Triclosan enthalten, die zum Teil auf Grund der Bioakkumulation kontrovers diskutiert wird (Gängler et al. 2005). Es konnte in Studien nachgewiesen werden, dass der Zusatz von Triclosan zu einer 16,6%igen Kariesreduktion im Vergleich zu reinen fluoridhaltigen Zahnpasten führt (Mann et al. 2001). Triclosan hemmt den bakteriellen Stoffwechsel und senkt so die Plaqueaktivität. Lorenz et al. (2002) bezeichnen die Verbindung von Triclosan mit dem Copolymer, der in Colgate Total[®] enthalten ist, als Goldstandard.

Das Produkt Fluor Protector Gel[®] von Ivoclar Vivadent ist ein neues Produkt. Der Fachliteratur sind darüber noch keine Studien zu entnehmen. Laut Hersteller ist es ein kariesprotektives Gel, welches auch anstelle von Zahnpasta zur täglichen Prophylaxe geeignet ist. Der Fluoridgehalt entspricht den Werten von Colgate Total[®] (1450 ppm); weiterhin sind die kariessprophylaktischen Mineralien Calcium und Phosphat enthalten. Als therapeutischer Zusatz dient der Zuckeraustauschstoff Xylit, durch den der Selektionsvorteil der Mutans-Streptokokken entfällt, da sie diesen Stoff nicht fermentieren können (Gängler et al. 2005). Es konnte nachgewiesen werden, dass die Kombination von Xylit und Fluorid in Zahnpasten zu signifikant höherer Remineralisation führt als Fluorid alleine (Sano et al. 2007).

Die auf Wasser basierende Crème Tooth Mousse[®] der Firma GC ist das einzige Produkt in dieser Studie, welches keinen Fluoridzusatz enthält. Laut Hersteller soll es ergänzend nach dem Zähneputzen angewendet werden. Als Wirkstoff dient hier das aus der Milch stammende Kasein Phosphopeptid, welches Calcium und Phosphat in bioverfügbarer (amorpher) Form enthält (Recaldent[™] CPP-ACP). In der Literatur wird es als remineralisationsfördernd beschrieben (Zero 2009); wirkungsvoller erscheint es aber in Verbindung mit Fluoriden (Kumar et al. 2008).

Um die Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden alle Produkte zweimal täglich auf die Prüfkörper appliziert. Da eine mögliche Intervention anderer Produkte vermieden werden sollte, wurde das Tooth Mousse[®], entgegen der Gebrauchsanweisung des Herstellers, wie eine Zahnpasta angewendet. Kumar et al. (2008) konnten zeigen, dass dieses Produkt auch als Verwendung in Form einer Zahnpasta eine höhere Remineralisationsrate zeigt als eine fluoridhaltige Zahnpasta mit 1100 ppm.

5.2 Methodik

5.2.1 Aussagekraft der *in-vitro*-Forschung

In der Kariesforschung ist es heutzutage vor allem aus ethischen Gründen etabliert, auf *in-vitro*-Modelle zurückzugreifen. Die Unabhängigkeit von der Compliance und individueller Einflüsse der Patienten ermöglicht eine präzise Standardisierung, einen kontrollierten Versuchsaufbau und die Variation gewünschter Parameter in Studien. Nachteilig ist jedoch, dass diese Untersuchungen eine eingeschränkte Aussagekraft haben und in ihren Ergebnissen nicht immer auf klinische Bedingungen übertragen werden können. Strenggenommen besteht die Gültigkeit der Resultate nur unter definierten Laborbedingungen. Es ist daher meistens notwendig, die gewonnenen Ergebnisse kritisch zu betrachten und zusätzlich durch *in-vivo*-Untersuchungen zu legitimieren, denn nur dadurch kann die Dynamik und die Gesamtheit der physiologischen Abläufe erfasst werden (Krukemeyer und Spiegel 2005).

5.2.2 Kritische Betrachtung des biologischen Kariesmodells

Der *in-vitro*-Kariesforschung stehen komplexe künstliche Mundhöhlen zur Verfügung, die eine Untersuchung vieler kariogener Faktoren, einzelner Vorgänge und vor allem deren Zusammenspiel ermöglichen. Nachteilig ist jedoch neben der kostspieligen Apparatur die schwierige Handhabung dieser Modelle. Es ist eine intensive Einweisung nötig, um eine fehlerfreie Anwendung und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten.

Das in der vorliegenden Studie verwendete Kariesmodell wurde in Anlehnung an die von Dummer et al. entwickelte Demineralisationstechnik erarbeitet. Es ist ein biologisches Kariesmodell, welches darauf beruht, kariöse Läsionen durch Einlegen der Prüfkörper in Nährlösungen mit kariogenen Bakterien zu erzeugen (Dummer et al. 1982, Gilmour und Edmunds 1998). In den meisten Studien wird bei einfachen biologischen Modellen eine Monokultur aus *S. mutans* verwendet, da dieser Keim in Verbindung mit Schmelzkaries gebracht wird bzw. als Haupterreger gilt (Gilmour und Edmunds 1998, Marsh und Martin 2003, Schiffner und Schmeiser 1995). Um die Anzahl variabler Parameter so gering wie möglich zu halten, wurde auch in dieser Studie eine *S. mutans*-Monokultur gezüchtet. Dieser Aspekt führt jedoch zu einer sehr starken Vereinfachung des Mundhöhlenbiotopes.

Shu et al. (2000) konnten nachweisen, dass ein Biofilm aus mehreren kariespathogenen Bakterien einen niedrigeren pH-Wert hat und aggressiver ist als Monobiofilme.

In dieser Studie lag der Fokus nicht auf einer detailgenauen Wechselwirkung und Erforschung einzelner Bakterien, sondern auf der Etablierung eines einfachen bakteriellen *in-vitro*-Modells in der Arbeitsgruppe zur zuverlässigen Erzeugung von kariösen Läsionen.

Um *in-vitro* die natürlicherweise mehrmals stattfindende Sequenz von De- und Remineralisation zu simulieren, wurde das von ten Cate und Duijsters (1982) entwickelte pH-Cycling angewendet. Mit dieser Methode konnten die täglichen Nahrungsaufnahmen imitiert werden. Die Prüfkörper wurden dreimal täglich für jeweils eine Stunde der Demineralisationslösung ausgesetzt, den Rest der Zeit wurden sie in einer Remineralisationslösung aus künstlichem Speichel bei einem pH-Wert von 7,5 gelagert. Der verwendete Speichel sollte dem natürlichen möglichst ähnlich sein, jedoch war er auf Grund der fehlenden Muzine nicht identisch. ten Cate et al. (2006) haben in einer späteren Studie die Wirkung von unterschiedlich konzentrierten Fluoridzahnpasten mit Hilfe des pH-Cyclings getestet. Bei Fluoridkonzentrationen bis 1500ppm sah das Studiendesign täglich sechs Demineralisationszyklen (jeweils 30min.) vor. Damit wurden die menschlichen Essgewohnheiten realistischer dargestellt als in der hier vorliegenden Studie.

Weiterhin ist zu diskutieren, ob das Kariesmodell im Vergleich zu *in-situ* oder *in-vivo* Studien zu aggressiv war. Als Parameter stehen dafür die während der Versuchsphase ermittelte durchschnittliche optische Dichte der Kultur ($OD_{600} = 0,9$) und der pH-Wert ($pH = 4,5$) zur Verfügung. Bei chemischen Modellen schwankt der pH-Wert der Demineralisationslösung in der Literatur zwischen 3,9 – 5,0 (Cain et al. 2006, Hegde und Moany 2012, Spiguel et al. 2009, ten Cate 2008). Für biologische Modelle lassen sich in der Literatur diesbezüglich keine vergleichbaren Angaben finden; auch der Vergleich mit der optischen Dichte war nicht möglich. Laut der Stephan-Kurve kann bei kariesaktiven Menschen innerhalb weniger Minuten nach dem Verzehr kariogener Nahrung der pH-Wert auf 4,5 absinken, steigt dann jedoch kontinuierlich an und erreicht erst nach 30-60 Minuten seinen Ausgangszustand (Hellwig et al. 2007). In dem erarbeiteten Modell lagen die Prüfkörper 60 Minuten in der Demineralisationslösung mit einem kontinuierlichen pH-Wert von 4,5. Dieses könnte zu ausgeprägteren kariösen Läsionen geführt haben als in der natürlichen Mundhöhle.

Die Versuchsphase erfolgte über einen durchgehenden Zeitraum von 30 Tagen und wurde, da es eine longitudinale Studie war, nur für die QLF-Messungen unterbrochen. In dieser Zeit sind die Prüfkörper 2x/tägl. mit den zu testenden Produkten behandelt worden. In der Literatur sind pH-Cycling-Zeiträume zwischen 6 und 28 Tagen beschrieben (Kumar et al. 2008, Seemann et al. 2005, Spiguel et al. 2009, ten Cate et al. 2006), wobei die meisten davon chemische Kariesmodelle darstellen, deren Studiendesign und Ergebnisse mit biologischen Modellen nur unter Vorbehalt zu vergleichen sind. Des Weiteren sind die Prüfkörper in diesen Studien über mehrere aufeinanderfolgende Stunden in der Demineralisationslösung gelagert und damit die täglich mehrmals alternierenden De- und Remineralisationsvorgänge vernachlässigt worden. In einem biologischen Modell von Seemann et al. (2005) sind die

Prüfkörper sehr häufig den De- und Remineralisationsvorgängen ausgesetzt worden. Sie ließen diese alternierend 5 Minuten mit der Demineralisationslösung und danach 15 Minuten mit der Remineralisationslösung beträufeln. Dieses Regime entspricht weniger dem natürlichen Tagesablauf.

Rückblickend betrachtet kennzeichnet sich das im Rahmen dieser Studie entstandene *in-vitro*-Kariesmodell durch seine einfache Handhabung und gute Reproduzierbarkeit.

Trotz starker Vereinfachung der intraoralen Situation ist es zum Testen von kariesprophylaktischen Mitteln geeignet, da die Entstehung kariöser Läsionen nachgewiesen werden konnte. Unbeachtet bleibt dabei jedoch der Einfluss des mechanischen Abriebes, da bei diesem Studiendesign kein Putzsimulator benutzt worden ist. Weiterhin ist zu bedenken, dass durch die planparallele Politur keine durchgehend gleiche Schmelzdicke gewährleistet werden konnte. Diese Problemstellung sollte zukünftig ausgearbeitet werden.

5.2.3 Quantitative lichtinduzierte Fluoreszenz

Die quantitative lichtinduzierte Fluoreszenz wurde auf Grund ihrer nichtinvasiven Kariesdiagnostik für dieses Studiendesign gewählt; dadurch ist die Durchführung einer longitudinalen Studie ermöglicht worden.

Die Validierung der QLF für die Langzeitkontrolle und Erfassung initialer Kariesläsionen wurde bereits mit Hilfe anderer Studien durchgeführt (de Josselin de Jong et al. 1995, Gmür et al. 2006, Pretty et al. 2003). Für die Bewertung der Läsionen wurden die von der QLF bestimmbaren Parameter, die prozentuale Fluoreszenzabnahme ($\Delta F\%$) und die Fläche der initialen Läsion (WS-Area in mm^2), angewandt. In der Literatur konnte bereits eine starke Korrelation ($r=0,77$) zwischen der prozentualen Fluoreszenzabnahme und dem Mineralisationsverlust (ΔZ), der durch die transversale Mikroradiographie (TMR) gemessen wird, beschrieben werden (Ando et al. 2001, Gmür et al. 2006, Shi et al. 2001). Die TMR gilt nach wie vor als „Goldstandard“ bei der Messung der Demineralisation, sie ermöglicht jedoch kein Kariesmonitoring auf Grund ihrer destruktiven Methode. Über die Läsionsfläche gibt es keine spezifischen Studien.

Das Potential der QLF stellen die beliebig oft durchführbaren Messungen dar, da keine Strahlenbelastung besteht. Dadurch wird die Effektivitätsbeurteilung von Präventionsmaßnahmen ermöglicht. In der Praxis lassen sich die Patienten durch die digitale Bilddokumentation und objektive Auswertung besser motivieren (Kühnisch und Heinrich-Weltzien 2004).

Bei der Auswertung der Prüfkörper für diese Studie sind allerdings die sensible Technik, die schwierige Handhabung und die zum Teil noch nicht ganz ausgereifte Software negativ auf-

gefallen. Wissenschaftlich belegt ist die Anwendbarkeit zur Kariesdiagnostik nur an Glattflächen. An Okklusalfächen wurden noch nicht genug Studien durchgeführt und an den Approximalfächen ist das Kariesmonitoring technisch noch nicht möglich (Kühnisch und Heinrich-Weltzien 2004). Somit ergibt sich eine Limitation beim Gebrauch in der Praxis.

Wenn die Schwächen der Software und die technische Sensibilität verringert werden, wäre diese Methode eine klinische Ergänzungsmöglichkeit zur visuellen Detektion der Glattflächenkaries und zur Motivation der Patienten. Nach wie vor kann die QLF aber die für die Detektion der Approximalkaries notwendigen röntgenologischen Bissflügelaufnahmen nicht ersetzen und bleibt damit zunächst der Wissenschaft vorbehalten.

5.3 Ergebnisse

Das Ziel dieser Studie war es, zum einen ein einfaches und zuverlässiges *in-vitro*-Kariesmodell zu etablieren und zum anderen verschiedene kariespräventive Mittel auf ihre Effektivität zu untersuchen. Es wurden dazu die durch die QLF gemessenen Parameter (prozentuale Fluoreszenzabnahme und Läsionsfläche) der Kontroll- und Produktgruppen statistisch ausgewertet und auf deren Korrelation untersucht.

Als Indikator zur Bewertung des Kariesmodells dienten in dem Versuchsaufbau die beiden Kontrollgruppen. Die Prüfkörper der Positivkontrolle wurden ohne kariesprophylaktischen Schutz der Demineralisationslösung ausgesetzt. Die Prüfkörper der Negativkontrolle befanden sich während der Demineralisationsphase in der bakterienfreien Nährlösung. Nach dem 30-tägigen Versuchsdurchlauf entstanden bei den Prüfkörpern der Positivkontrolle deutliche kariöse Läsionen mit einer Fläche von bis zu 15mm^2 . Die prozentuale Fluoreszenz erlitt einen Verlust von maximal 20%. Demgegenüber zeigte die Negativkontrolle keine Veränderungen an der Oberfläche. Auch in anderen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass nur bei Kontrollgruppen, die mit der infizierten Lösung beträufelt wurden, sowohl ein Biofilm als auch kariöse Läsionen beobachtet werden konnten (Seemann et al. 2005). Aus diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass es bei der gewählten Versuchsanordnung gelungen ist, kariöse Läsionen zu erzeugen.

Bei den Produktgruppen lässt sich generell ein signifikanter Einfluss der Substanz, der Zeit und deren Wechselwirkung auf die Fluoreszenz und die Läsionsfläche feststellen. Alle Produkte unterschieden sich signifikant von der Positivkontrolle; demzufolge besaßen diese generell eine kariesprophylaktische Wirkung, die allerdings unterschiedlich stark ausgeprägt war.

Den Gruppen von Colgate Total® und Fluor Protector Gel® konnte in diesem Versuchsdesign ein sehr guter Schutz vor kariösen Läsionen nachgewiesen werden. Nach einem Zeitraum von 30 Tagen unterschieden sich die Medianwerte nicht von der Negativkontrolle. Bei Colgate Total® war lediglich die Spannweite der Messwerte etwas ausgeprägter. Die guten kariesprotektiven Eigenschaften dieser Produkte könnten auf den Zusatz von therapeutischen Mitteln wie Triclosan und Xylit zurückzuführen sein. In der Literatur konnte bereits nachgewiesen werden, dass fluoridierte Zahnpasten mit zusätzlichen protektiven Mitteln signifikant besser vor Karies schützen als fluoridierte Zahnputzmittel ohne weitere prophylaktische Bestandteile (Mann et al. 2001, Sano et al. 2007).

Tooth Mousse® hatte unter den Versuchsbedingungen die geringste kariesprophylaktische Wirkung. Über die Versuchszeit entstanden deutlich größere Läsionen als bei den beiden anderen Produkten. Weiterhin war eine große Differenz zur Negativkontrolle zu erkennen; sie war jedoch nicht stark genug, um statistisch signifikant zu sein. Es wäre zu überprüfen, wie es sich nach einem längeren Zeitraum verhält. Eine andere *in-vitro*-Studie konnte zeigen, dass Tooth Mousse® eine gewisse remineralisierende Wirkung auf humanen Schmelz besitzt (Hegde und Moany 2012). Yengopal und Mickenautsch (2009) konnten in einer Metaanalyse ähnliche Ergebnisse vorweisen. *In situ* ließ sich bei Läsionen nach Benetzung mit CPP-ACP eine signifikant höhere Remineralisation feststellen als bei Kontrollprüfkörpern. Die genannten Studien führen jedoch keine Vergleiche von Tooth Mousse® mit anderen remineralisierenden Produkten durch. In der hier vorliegenden Arbeit war die Wirkung im Vergleich zu fluoridhaltigen Produkten wie Fluor Protector Gel® und Colgate Total® signifikant geringer. Kumar et al. (2008) konnten in ihrer Studie nachweisen, dass die Verwendung von Tooth Mousse® in Verbindung mit Fluoriden zu besserem Schutz vor Demineralisationen führt. Mittlerweile ist das entsprechende Produkt GC Tooth Mousse Plus® mit 900ppm Fluorid auf dem Markt erschienen. Dennoch fehlen evidenzbasierte Studien, um die klinischen Vorteile von CPP-ACP (in Pasten) mit und ohne Fluorid nachzuweisen. Die Ergebnisse von vorhandenen klinischen Studien sind nicht ausreichend, um den Gebrauch von CPP-ACP als alternative Remineralisationsstrategie zu unterstützen. Der kariesprophylaktische Goldstandard bleibt nach wie vor das Fluorid (Zero 2009).

Des Weiteren ist anzumerken, dass in dieser Studie kein Vergleich mit einem Produkt erfolgte, das nur Fluorid als kariesprotektives Mittel beinhaltet; damit wären eine genauere Einstufung und ein besserer Vergleich der Wirkung der verwendeten Produkte möglich gewesen. Auch die Gegenüberstellung mit anderen Studien hätte dadurch gezielter durchgeführt werden können.

Allgemein zeigten die prozentuale Fluoreszenzabnahme und die Fläche der Läsion eine starke Korrelation, die allerdings nicht vollkommen linear war und sich auch unter den Produkten unterschied. Man könnte daraus schlussfolgern, dass noch andere Faktoren einen Einfluss auf die Ergebnisse hatten. Es wäre durchaus plausibel, dass die Sensibilität der Technik dabei eine Rolle gespielt hat, da es nicht möglich war, das Streulicht gänzlich zu eliminieren. Des Weiteren besitzen die Produkte möglicherweise eine gewisse Eigenfluoreszenz. Ando et al. konnten nachweisen, dass die Ergebnisse von den Einfallswinkel der Strahlen abhängig sind (Ando et al. 2004). Dieser Faktor wurde durch das planparallele Beschleifen der Prüfkörper eliminiert.

Weitere Studien zur Korrelation dieser Parameter sind noch nicht veröffentlicht. Es sollten Untersuchungen in dieser Richtung erfolgen, um anschaulichere Aussagen treffen zu können. Ebenfalls waren bei den Ergebnissen beider Parameter gruppenintern starke Variationsbreiten zu erkennen. Dieses könnte auf Unterschiede der Prüfkörper bezüglich des Alters, Mineralisationsgrades und der Schmelzdicke zurückzuführen sein.

5.4 Allgemeine Schlussfolgerung

1. Das entwickelte *in-vitro*-Modell ermöglicht die Erzeugung kariöser Läsionen.
2. Sowohl die Zeit als auch die Zusammensetzung kariesprophylaktischer Produkte haben signifikanten Einfluss auf die Entstehung einer kariösen Läsion.
3. Die getesteten Produkte bieten einen effektiven Kariesschutz, jedoch sind die Mittel mit Fluoridzusatz (Fluor Protector Gel[®] und Colgate Total[®]) signifikant besser als diejenigen ohne Fluorid (Tooth Mousse[®]).

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, ein einfaches und zuverlässiges biologisches *in-vitro*-Kariesmodell zu etablieren und darüber hinaus verschiedene kariespräventive Mittel auf ihre Effektivität zu untersuchen.

Dazu wurden 65 Prüfkörper aus extrahierten, kariesfreien humanen Zähnen hergestellt und randomisiert in 5 Gruppen eingeteilt (A – E mit einer Anzahl von n=15 bzw. n=5). Als Demineralisationslösung für dieses biologische *in-vitro*-Kariesmodell wurde eine *S. mutans* - Nährlösung verwendet. Zur Remineralisation wurde künstlicher Speichel benutzt. Über die Versuchszeit von 30 Tagen wurden die Gruppen dreimal täglich einem De- und Remineralisationszyklus ausgesetzt. Dabei dauerten sowohl die De- als auch die Remineralisation jeweils eine Stunde an. Bis zum nächsten Morgen (15 Stunden) blieben sie in dem künstlichen Speichel. Drei dieser Gruppen wurden mit unterschiedlichen kariesprotektiven Produkten (Colgate Total®, Fluor Protector Gel® und Tooth Mousse®) behandelt. Als Positivkontrolle dienten die Prüfkörper, die der Bakterienlösung ohne kariesprophylaktische Mittel ausgesetzt worden waren. Die Negativkontrolle lagerte in der nicht-infizierten Lösung. Sowohl vor Beginn der Versuchsphase als auch nach jeweils 7, 14 und 30 Tagen erfolgte eine Auswertung der Oberfläche mit Hilfe der quantitativen lichtinduzierten Fluoreszenz (QLF). Als Parameter wurden die prozentuale Fluoreszenzabnahme ($\Delta F\%$) und die Fläche der Läsionen (mm^2) herangezogen.

Die statistische Auswertung zeigte über die Zeit bei der Positivkontrolle eine stetige Abnahme der prozentualen Fluoreszenz und Vergrößerung der Läsionsfläche. Bei der Negativkontrolle konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Die Produktgruppen wiesen statistisch erst nach 30 Tagen signifikante Unterschiede auf. Die größte Abnahme der Fluoreszenz (Median = -6,76 %) und die Entwicklung beträchtlicher Läsionsflächen (bis zu 10,9 mm^2) über die Versuchszeit war in der mit Tooth Mousse® behandelten Gruppe zu beobachten. Bei Colgate Total® und Fluor Protector Gel® entstanden keine signifikanten Unterschiede zur Negativkontrolle (p-Wert > 0,05).

Diese Ergebnisse zeigen, dass es mit dem eingesetzten *in-vitro*-Modell möglich war, kariöse Läsionen zu erzeugen. Weiterhin konnten kariespräventive Substanzen erfolgreich untersucht und getestet werden. Das Fazit der statistischen Auswertung bekräftigte ebenfalls die Leitlinien der heute gültigen Fluoridierungsmaßnahmen: Die regelmäßige Anwendung fluoridierter kariespräventiver Produkte für den Schutz vor kariösen Demineralisationen ist unabdingbar.

Ausblickend sollten diese Ergebnisse, die aus einer *in-vitro*-Studie entstanden sind, durch weitere Untersuchungen mit einer größeren Produktauswahl validiert werden. Weiterhin ist es wünschenswert, dass dieses Modell in Zukunft zu einem multibakteriellen Biofilm-Modell weiterentwickelt wird, um die Ergebnisse auf orale Verhältnisse übertragen und verifizieren zu können; dennoch bleibt eine *in-vivo*-Studie unentbehrlich.

7 Literaturverzeichnis

Ando M, van Der Veen MH, Schemehorn BR, Stookey GK (2001): Comparative study to quantify demineralized enamel in deciduous and permanent teeth using laser- and light-induced fluorescence techniques. *Caries Res* 35, 464-70

Ando M, Eckert GJ, Stookey GK, Zero DT (2004): Effect of imaging geometry on evaluating natural white-spot lesions using quantitative light-induced fluorescence. *Caries Res* 38, 39-44

Angmar B, Carlstrom D, Glas JE (1963): Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res* 8, 12-23

Axelsson P, Lindhe J (1978): Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 5, 133-51

Bloch-Zupan A (2001): Is the fluoride concentration limit of 1,500 ppm in cosmetics (EU guideline) still up-to-date? *Caries Res* 35 Suppl 1, 22-5

Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung:
Zahnärztliche Versorgung 2011 Daten & Fakten. BZÄK und KZBV, o.O. 2011

Cain K, Hicks J, English J, Flaitz C, Powers JM, Rives T (2006): In vitro enamel caries formation and orthodontic bonding agents. *Am J Dent* 19, 187-92

Charité – Universitätsmedizin Berlin

http://kons-paro.charite.de/forschung/themen_technologien/qlf/ (12/2011)

de Josselin de Jong E, Sundstrom F, Westerling H, Tranaeus S, ten Bosch JJ, Angmar-Mansson B (1995): A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Res* 29, 2-7

Dummer PM, Edmunds DH, Green RM (1982): Demineralisation of human enamel by *Streptococcus mutans* NCTC 10832 using a sequential batch culture technique. *Caries Res* 16, 193-6

Esser M, Tinschert j, Marx R (1998): Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *Dtsch Zahnärztl Z* 53, 713-17

Featherstone JD, Mellberg JR (1981): Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 15, 109-14

Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J (1983): Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 17, 385-91

Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA: Fluoride in Dentistry. 2. Auflage, Munksgaard, Copenhagen 1996

Fischer C, Lussi A, Hotz P (1995): kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. Schweiz Monatsschr Zahnmed 105, 311-7

Franke G, Baume LJ (1976): Klassifizierung epidemiologischer Studien über Zahnkaries und Definitionen verwandter Begriffe. Int Dent J 26, 73-95

Gängler P, Hoffmann T, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M: Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. 2. Auflage, Thieme Stuttgart, 2005

GC Europe N.V

<http://www.gceurope.com/products/detail.php?id=112> (10/2012)

Gilmour AS, Edmunds DH (1998): The polarized light microscopic appearance of caries-like lesions adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. J Oral Rehabil 25, 929-39

Gmür R, Giertsen E, van der Veen MH, de Josselin de Jong E, ten Cate JM, Guggenheim B (2006): In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. Clin Oral Investig 10, 187-95

Gülzow H-J, Hellwig E, Hetzer G: Leitlinie "Fluoridierungsmaßnahmen". DGZMK, o.O. 2005

Gustafsson BE, Quensel CE, Lanke LS, Lundqvist C, Grahn H, Bonow BE, Krasse B (1954): The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. Acta Odontol Scand 11, 232-64

Hahn P (2011): Aktuelle Entwicklungen in der Kariesprophylaxe
Neue Optionen beim Einsatz präventiver Maßnahmen. DFZ - DER FREIE ZAHNARZT 55, 54-61

Hegde MN, Moany A (2012): Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. J Conserv Dent 15, 61-7

Heidemann D: Amalgamfreie Füllungstherapie. Urban & Fischer, München 2001

Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. 4. Auflage, Urban und Fischer, München 2007

Holmen L, Thylstrup A, Ogaard B, Kragh F (1985): A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo. Caries Res 19, 355-67

Inspektor Research Systems BV

<http://www.inspektor.nl/> (12/2011)

Keyes PH (1962): Recent advances in dental caries research. *Bacteriology. Int dent J* 12, 443-64

Kidd EAM, Fejerskov O (2004): What Constitutes Dental Caries? Histopathology of Carious Enamel and Dentin Related to the Action of Cariogenic Biofilms. *J Dent Res* 83, C35-C38

Kielbassa A, Wbras K, H. M-L (2002): Microradiographic studies on demineralization of bovine and human enamel. *Caries Res* 36, 178

Kienel G: Vakuumbeschichtung 3 -Anlageautomatisierung, Meß- und Analysetechnik-. VDI-Verlag GmbH, Düsseldorf 1994

Klimm W: Kariologie. Hanser, München 1997

Klinger HG, Wiedemann W (1985): Grenzen der Remineralisierbarkeit initialer Karies. *Dtsch Zahnarztl Z* 40, 16-22

König KG: Karies und Parodontopathien – Ätiologie und Prophylaxe. Thieme Stuttgart, New York 1987

Krukemeyer MG, Spiegel H-U: Chirurgische Forschung. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart 2005

Kühnisch J, Heinrich-Weltzien R (2004): Quantitative light-induced fluorescence (QLF)--a literature review. *Int J Comput Dent* 7, 325-38

Kumar VL, Itthagaran A, King NM (2008): The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J* 53, 34-40

Larsen MJ, Fejerskov O (1987): Remineralization from a clinical point of view. *Dtsch Zahnarztl Z* 42, S91-4

Loesche WJ (1986): Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50, 353-80

Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC: Biochemie und Pathobiochemie. 8. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2007

Lorenz K, Netuschil L, Noak B, Brex M, Hoffmann T (2002): Zeitdauer der antibakterielle Wirkung Triclosan-haltiger Zahnpasten in vivo. *Dtsch Zahnarztl Z* 57, 279-82

Mann J, Vered Y, Babayof I, Sintes J, Petrone ME, Volpe AR, Stewart B, De Vizio W, McCool JJ, Proskin HM (2001): The comparative anticaries efficacy of a dentifrice containing 0.3% triclosan and 2.0% copolymer in a 0.243% sodium fluoride/silica base and a dentifrice containing 0.243% sodium fluoride/silica base: a two-year coronal caries clinical trial on adults in Israel. *J Clin Dent* 12, 71-6

Marsh P (2004): Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 38, 204-11

Marsh P, Martin MV: Orale Mikrobiologie. Thieme, Stuttgart 2003

McCann HG (1968): The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. *Arch Oral Biol* 13, 987-1001

Mellberg JR (1992): Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71 Spec No, 913-9

Miller WD: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen Erkrankungen, welche durch dieselben hervorgerufen werden. Thieme, Leipzig 1898

Naujoks R (1983): Effizienz und Ökonomie der Anwendungsformen von Fluoriden: Zahnpasten. *Dtsch Zahnärztl Z* 38, S61-4

Nolden R: Zahnerhaltungskunde. 6. Auflage, Thieme, Stuttgart 1994

Ogaard B (1990): Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. *J Dent Res* 69 Spec No, 813-9; discussion 820-3

Ogaard B, Rolla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J (1988): Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96, 209-11

Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, Gordon HA, Luckey TD (1954): Use of the Germfree Animal Technic in the Study of Experimental Dental Caries: I. Basic Observations on Rats Reared Free of All Microorganisms. *J Dent Res* 33, 147-174

Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ (1986): Ultrastructure of the intact surface zone of white spot and brown spot carious lesions in human enamel. *J Oral Pathol* 15, 28-35

Petersson LG, Twetman S, Dahlgren H, Norlund A, Holm AK, Nordenram G, Lagerlof F, Soder B, Kallestal C, Mejare I, Axelsson S, Lingstrom P (2004): Professional fluoride varnish treatment for caries control: a systematic review of clinical trials. *Acta Odontol Scand* 62, 170-6

Phankosol P, Ettinger RL, Hicks MJ, Wefel JS (1985): Histopathology of the initial lesion of the root surface: an in vitro study. *J Dent Res* 64, 804-9

Pretty IA, Pender N, Edgar WM, Higham SM (2003): The in vitro detection of early enamel de- and re-mineralization adjacent to bonded orthodontic cleats using quantitative light-induced fluorescence. *Eur J Orthod* 25, 217-23

Reynolds EC (2009): Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res* 21, 25-9

Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R: Orale Mikrobiologie und Immunologie. Quintessenz, Berlin 2004

Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P (2007): Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel in vitro. *J Oral Sci* 49, 67-73

Schiffner U, Schmeiser R (1995): Eine Methode zur bakteriellen Erzeugung von Wurzelkaries in einer Künstlichen Mundhöhle. *Dtsch Zahnarztl Z* 50, 45-48

Schroeder HE: Pathobiologie oraler Strukturen. 3. Auflage, Karger, Basel 1997

Seemann R: Untersuchungen zur Kariesprävention in einem biofilmbasierten In-vitro-Modell – Validierung an Beispielen innovativer Präventionsmaßnahmen nach Monoinfektion mit *Streptococcus mutans*. Med. Habil.-Schr. Berlin 2005

Seemann R, Bizhang M, Kluck I, Loth J, Roulet JF (2005): A novel in vitro microbial-based model for studying caries formation--development and initial testing. *Caries Res* 39, 185-90

Shi XQ, Tranaeus S, Angmar-Mansson B (2001): Comparison of QLF and DIAGNOdent for quantification of smooth surface caries. *Caries Res* 35, 21-6

Shu M, Wong L, Miller JH, Sissons CH (2000): Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. *Arch Oral Biol* 45, 27-40

Sifri CD (2008): Healthcare epidemiology: quorum sensing: bacteria talk sense. *Clin Infect Dis* 47, 1070-6

Silverstone LM (1967): Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. *Caries Res* 1, 260-74

Silverstone LM, Johnson NW, Hardie JM, Williams RAD: Dental Caries Aetiology, Pathology and Prevention. 1. Auflage, The Macmillan Press Ltd, London 1981

Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KM, Delbem AC (2009): Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-/remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res* 43, 302-7

Stephen KW (1993): Dentifrices: recent clinical findings and implications for use. *Int Dent J* 43, 549-53

Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP (2003): Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. *J Dent* 31, 161-71

ten Cate JM (2008): Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Aust Dent J* 53, 281-5

ten Cate JM, Duijsters PP (1982): Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 16, 201-10

ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ (2006): The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res* 40, 136-41

Tranaeus S, Al-Khateeb S, Bjorkman S, Twetman S, Angmar-Mansson B (2001): Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning. *Eur J Oral Sci* 109, 71-5

Van Loveren C (2001): Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. *Caries Res* 35 Suppl 1, 65-70

Vasil ML (2003): DNA microarrays in analysis of quorum sensing: strengths and limitations. *J Bacteriol* 185, 2061-5

Whitford GM (1987): Fluoride in dental products: safety considerations. *J Dent Res* 66, 1056-60

Yengopal V, Mickenautsch S (2009): Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand* 67, 321-32

Zero D (2009): Recaldent--evidence for clinical activity. *Adv Dent Res* 21, 30-4

Zero D, Fu J, Scott-Anne K, Proskin H (1994): Evaluation of Fluoride Dentifrices Using a Short-term Intraoral Remineralization Model (Abstr 1363). *J Dent Res* 73, 272

8 Tabellarischer Anhang

8.1 Einzelmesswerte der QLF – Messung (ΔF und WS-Area)

8.1.1 Fluor Protector Gel[®]

$\Delta F\%$		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,00	0,00	0,00
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	0,00	0,00
4		0,00	0,00	0,00	0,00
5		0,00	0,00	0,00	0,00
6		0,00	0,00	0,00	0,00
7		0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,00
9		0,00	0,00	0,00	0,00
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	0,00	0,00	-5,91
12		0,00	-5,59	-8,16	0,00
13		0,00	0,00	0,00	0,00
14		0,00	0,00	0,00	0,00
15		0,00	0,00	0,00	0,00

WS - Area		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,00	0,00	0,00
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	0,00	0,00
4		0,00	0,00	0,00	0,00
5		0,00	0,00	0,00	0,00
6		0,00	0,00	0,00	0,00
7		0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,00
9		0,00	0,00	0,00	0,00
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	0,00	0,00	0,01
12		0,00	0,00	0,08	0,00
13		0,00	0,00	0,00	0,00
14		0,00	0,00	0,00	0,00
15		0,00	0,00	0,00	0,00

8.1.2 Tooth Mousse®

$\Delta F\%$		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,00	0,00	-5,97
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	-7,46	-8,91
4		0,00	-6,51	0,00	-8,03
5		0,00	0,00	0,00	0,00
6		0,00	-5,95	-6,43	-11,40
7		0,00	0,00	0,00	-6,61
8		0,00	0,00	0,00	-5,98
9		0,00	-6,97	0,00	-6,76
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	-5,91	-7,23	-7,09
12		0,00	0,00	-6,46	-10,70
13		0,00	0,00	-5,83	-10,00
14		0,00	0,00	0,00	-6,74
15		0,00	0,00	-5,56	-6,84

WS - Area		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,00	0,00	0,01
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	0,00	0,17
4		0,00	0,01	0,00	2,08
5		0,00	0,00	0,00	0,00
6		0,00	0,01	0,91	5,25
7		0,00	0,00	0,00	1,71
8		0,00	0,00	0,00	0,12
9		0,00	0,00	0,00	0,19
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	0,00	0,02	3,85
12		0,00	0,00	2,11	10,90
13		0,00	0,00	0,01	3,90
14		0,00	0,00	0,00	0,18
15		0,00	0,00	0,00	0,59

8.1.3 Colgate Total®

$\Delta F\%$		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	-6,35	-6,53	-8,90
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	-7,15	-6,39
4		0,00	0,00	0,00	0,00
5		0,00	-6,92	0,00	0,00
6		0,00	0,00	0,00	0,00
7		0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,00
9		0,00	0,00	0,00	0,00
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	0,00	0,00	-6,11
12		0,00	0,00	-6,66	0,00
13		0,00	0,00	0,00	0,00
14		0,00	0,00	0,00	0,00
15		0,00	0,00	0,00	0,00

WS - Area		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,01	0,01	0,02
2		0,00	0,00	0,00	0,00
3		0,00	0,00	0,01	0,04
4		0,00	0,00	0,00	0,00
5		0,00	0,00	0,00	0,00
6		0,00	0,00	0,00	0,00
7		0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,00
9		0,00	0,00	0,00	0,00
10		0,00	0,00	0,00	0,00
11		0,00	0,00	0,00	0,00
12		0,00	0,00	0,01	0,00
13		0,00	0,00	0,00	0,00
14		0,00	0,00	0,00	0,00
15		0,00	0,00	0,00	0,00

8.1.4 Positivkontrolle

$\Delta F\%$		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	-5,87	-9,01	-19,70
2		0,00	-9,70	-9,08	-12,10
3		0,00	0,00	-7,14	-13,80
4		0,00	-5,94	-9,41	-16,60
5		0,00	0,00	-6,80	-11,60
6		0,00	-5,56	-7,35	-10,20
7		0,00	-7,53	-9,09	-17,00
8		0,00	0,00	-8,61	-19,90
9		0,00	-5,84	-6,96	-9,24
10		0,00	-7,89	-6,35	-8,25
11		0,00	-5,56	-7,51	-9,83
12		0,00	-6,16	-9,79	-20,50
13		0,00	-6,45	-8,88	-11,80
14		0,00	0,00	-5,93	-7,06
15		0,00	0,00	-5,90	-10,40

WS - Area		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
1		0,00	0,00	3,81	10,60
2		0,00	0,48	4,04	7,67
3		0,00	0,00	0,00	7,75
4		0,00	0,01	4,27	7,88
5		0,00	0,00	2,03	11,60
6		0,00	0,00	0,84	1,87
7		0,00	0,40	2,01	3,46
8		0,00	0,00	1,41	10,50
9		0,00	0,00	1,63	4,60
10		0,00	0,01	0,00	3,16
11		0,00	0,00	0,48	2,70
12		0,00	0,62	8,77	15,90
13		0,00	0,21	2,55	4,73
14		0,00	0,00	0,01	0,65
15		0,00	0,00	0,02	11,50

8.1.5 Negativkontrolle

$\Delta F\%$		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
	1	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00

WS - Area		Baseline	7 Tage	14 Tage	30 Tage
Prüfkörper					
	1	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00

8.2 Tägliche Kontrollen der optischen Dichte und Reinheit der Bakterienkultur

Versuchstag	Optische Dichte (nach 23h)	Reinkultur (ja/nein)
1	1.334	ja
2	0.734	ja
3	0.846	ja
4	1.077	ja
5	0.934	ja
6	0.854	ja
7	0.897	ja
8	0.880	ja
9	1.000	ja
10	1.053	ja
11	0.914	ja
12	1.034	ja
13	0.905	ja
14	0.843	ja
15	0.808	ja
16	0.835	ja
17	0.878	ja
18	0.780	ja
19	0.898	ja
20	0.928	ja
21	0.994	ja
22	0.820	ja
23	0.854	ja
24	1.014	ja
25	0.824	ja
26	0.783	ja
27	0.883	ja
28	0.868	ja
29	0.586	ja
30	0.856	ja

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 3.1 Zusammensetzung der Glucose-Bouillon (10 Liter)	17
Tab. 3.2 Zusammensetzung des künstlichen Speichels	17
Tab. 3.3 wichtigste kariesprotektive Wirkstoffe der verwendeten Produkte	18
Tab. 3.4 Zuteilung der Prüfkörper und Produkte der jeweiligen Gruppe	22
Tab. 4.1 Einflussfaktoren der prozentualen Fluoreszenzabnahme und deren p-Werte.....	29
Tab. 4.2 Prozentuale Fluoreszenzabnahme aller Gruppen über die vier Zeitpunkte. Alle Werte stellen die Differenz zur Baseline dar	31
Tab. 4.3 Paarvergleich der prozentualen Fluoreszenzabnahme (p adjustiert nach Bonferroni)	32
Tab. 4.4 Vergleich der Fluoreszenzabnahme zwischen den Produktgruppen und den Kontrollen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni).....	33
Tab. 4.5 Paarvergleiche der prozentualen Fluoreszenzabnahme unter den Produktgruppen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)	35
Tab. 4.6 Läsionsflächen aller Gruppen über die vier Zeitpunkte. Alle Werte stellen die Differenz zur Baseline dar.	37
Tab. 4.7 Paarvergleich der Läsionsfläche zum Zeitpunkt der Baseline und nach der letzten Messung (p adjustiert nach Bonferroni)	38
Tab. 4.8 Vergleich der Läsionsfläche zwischen den Produktgruppen und den Kontrollen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni).....	39
Tab. 4.9 Paarvergleiche der prozentualen Fluoreszenzabnahme unter den Produktgruppen nach 30 Tagen (p adjustiert nach Bonferroni)	41
Tab. 4.10 Korrelations- und Determinationskoeffizienten der sechs Gruppen unabhängig von der Zeit	42

8.4 **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 2.1 eine mit dem QLF TM - System detektierte Schmelzprobe	14
Abb. 2.2a vom QLF in dieser Studie ausgewerteter Prüfkörper	14
Abb. 2.2b annähernde farbliche Visualisierungsskal (Gmür et al. 2006, S. 194).....	14
Abb. 3.1 Abtrennung der Wurzeln von der Zahnkrone durch ein Trennschleifgerät.....	19
Abb. 3.2 Separierung der Zahnkrone in mesio-distaler Richtung mit Hilfe des Trennschleifgerätes.....	20
Abb. 3.3 Ausstanzen der Schmelzprobe mit dem Diamant-Hohlbohrer	21
Abb. 3.4 Schmelz-Dentin-Probe mit einem Durchmesser von 5mm	21
Abb. 3.5 Blutagarplatte mit <i>Streptococcus mutans</i> nach 48 Std.....	23
Abb. 3.6 Darstellung der Wachstumskurve der <i>S. mutans</i> – Monokultur durch Messung der optischen Dichte (OD) bei 600nm über die Zeit	23
Abb. 3.7 Flussdiagramm des Studiendesigns	26
Abb. 3.8 gesamtes QLF TM - Equipment mit Software	27
Abb. 4.1 Boxplots der prozentualen Fluoreszenzabnahme jeder Gruppe über die vier Zeitpunkte.....	29
Abb. 4.2 ausgewertete Prüfkörper jeder Gruppe über die vier Messzeitpunkte	30
Abb. 4.3 Darstellung der prozentualen Fluoreszenzabnahme bei der Gruppe von Tooth Mousse und der Positivkontrolle nach 30 Tagen im Vergleich zur Baseline mit Hilfe von Boxplots.....	32
Abb. 4.4 Darstellung der prozentualen Fluoreszenzabnahme aller Gruppen nach 30 Tagen mit Hilfe von Boxplots.....	34
Abb. 4.5 Darstellung der Entwicklung der White-Spot-Fläche über die Zeit in den einzelnen Gruppen mit Hilfe der Boxplots	36
Abb. 4.6 Vergleich der Läsionsflächen bei der Gruppe von Tooth Mousse und der Positivkontrolle nach 30 Tagen zur Baseline	38
Abb. 4.7 Darstellung der White-Spot-Flächen aller Gruppen nach 30 Tagen mit Hilfe von Boxplots.....	40
Abb. 4.8 Korrelation der Läsionsfläche (mm ²) und der prozentualen Fluoreszenzabnahme (ΔF %) aller Gruppen unabhängig von der Zeit	42

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Rainer F. Mausberg für die Überlassung dieses interessanten Themas. Besonders bedanken möchte ich mich beim Herrn PD Dr. Ziebolz für die umfassende und engagierte Betreuung während des Entstehungsprozesses dieser Dissertation.

Weiterhin geht mein Dank an Frau Hoch und das Team vom Labor für die Einführung in die Geräte und Labortätigkeiten.

Der mikrobiologischen Abteilung der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. Uwe Groß) und deren Mitarbeitern möchte ich für die zur Verfügung gestellten Räumlichkeiten, Laborplätze und Materialien danken, ohne die diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen wäre.

Dr. Jung, Simon Schneider, Hans-Joachim Helms, Thomas Asendorf und David Ellenberger aus der Abteilung der medizinischen Statistik bin ich zu großem Dank verpflichtet für die außerordentliche Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Tessa Kroker danke ich für die gemeinsame Zeit, die langen Abende im Labor und in der Bibliothek und vor allem für die gegenseitige Motivation!