

Aus der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Silberdiaminfluorid, Chlorhexidin und
Natriumfluorid auf die Progression von Wurzelkaries in-vitro

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Felix Arno Robert Schulze

aus Berlin

Datum der Promotion: 06.03.2020

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

Publikation 1: G. Göstemeyer, F. Schulze, S. Paris, F. Schwendicke: Arrest of root caries lesions via sodium fluoride, chlorhexidine and silver diamine fluoride in vitro; MDPI Materials, 2017

Publikation 2: G. Göstemeyer; F. Schulze; S. Paris; F. Schwendicke: Arretierung von Wurzelkaries durch Natriumfluorid, Chlorhexidin und Silberdiaminfluorid in-vitro; Wissenschaftlicher Vortrag auf der 30. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung (DGZ) in Leipzig, 2016

Inhaltsverzeichnis

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ABBILDUNGSVERZEICHNIS | 5 |
| TABELLENVERZEICHNIS | 6 |
| ABSTRACT (ENGLISH) | 7 |
| ABSTRAKT (DEUTSCH)..... | 8 |
| 1 EINLEITUNG | 9 |
| 2 LITERATURÜBERSICHT | 10 |
| 2.1 Kariesentstehung allgemein | 10 |
| 2.2 Wurzelkaries..... | 14 |
| 2.3 Epidemiologie der Wurzelkaries | 15 |
| 2.4 Therapieoptionen..... | 17 |
| 2.4.1 Beeinflussung des Biofilms..... | 18 |
| 2.4.1.1 Chlorhexidin..... | 18 |
| 2.4.1.2 Silberionen | 19 |
| 2.4.2 Beeinflussung der De- und Remineralisation..... | 20 |
| 2.4.2.1 Fluorid | 20 |
| 2.4.3 Kombination aus Biofilm- und De-/ Remineralisationsbeeinflussung..... | 22 |
| 2.5 In-vitro-Modelle zur Kariessimulation..... | 23 |
| 3 MATERIAL UND METHODEN | 27 |
| 3.1 Übersicht | 27 |
| 3.2 Herstellung der Probenblöcke | 29 |
| 3.3 Vorbereitung des Silberdiaminfluorid-Probenblocks..... | 30 |
| 3.4.1 Aufbau der Inkubationskammer..... | 31 |
| 3.4.2 Ablauf der Bakterieninkubation | 33 |
| 3.5 Behandlung der Probenoberflächen | 34 |
| 3.6 Mundmodellphase | 34 |
| 3.7 Analysemethoden | 37 |
| 3.7.1 Berechnung der koloniebildenden Einheiten | 37 |
| 3.7.2 Herstellung von Zahnschliffen, Herstellung von mikroradiographischen Aufnahmen | 38 |
| 3.7.3 Sonderfall Silberdiaminfluorid bei der mikroradiographischen Analyse..... | 40 |

| | |
|----------------------------------------------------|----|
| 3.8 Statistische Analyse..... | 41 |
| 4 ERGEBNISSE..... | 42 |
| 4.1 Mineralverlust | 42 |
| 4.2 Läsionstiefe | 43 |
| 4.3 Koloniebildende Einheiten T ₀ | 45 |
| 4.4 Koloniebildende Einheiten T ₁ | 46 |
| 5 DISKUSSION | 49 |
| 5.1 Diskussion der Methodik | 49 |
| 5.1.1 Versuchsdurchführung | 49 |
| 5.1.2 Medien und Kariesmodell | 51 |
| 5.1.3 Methodik der Analyse | 52 |
| 5.2 Diskussion der Ergebnisse..... | 54 |
| 6 SCHLUSSFOLGERUNG | 60 |
| 7 LITERATURVERZEICHNIS | 61 |
| 8 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG | 72 |
| 9 LEBENSLAUF | 74 |
| 10 ANHANG..... | 75 |
| 10.1 Medien..... | 75 |
| 10.2 Vorversuche..... | 77 |
| 10.2.1 Zeiten..... | 77 |
| 10.2.2 Silbergehalt der Proben | 79 |
| 11 DANKSAGUNG..... | 81 |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 1: Die drei Hauptfaktoren der Kariesätiologie nach Keyes | 10 |
| Abbildung 2: Darstellung der ökologischen Plaquehypothese | 11 |
| Abbildung 3: Stephan-Kurve | 12 |
| Abbildung 4: Chemische Reaktion des Demineralisationsprozesses | 13 |
| Abbildung 5: Hemmung der Demineralisation bei Anwesenheit von Fluorid | 21 |
| Abbildung 6: Verbesserte Remineralisation durch Fluorideinfluss | 22 |
| Abbildung 7: Ablauf des Hauptversuchs | 27 |
| Abbildung 8: Grafische Darstellung der Aufteilung der Probenflächen über die Dauer des Versuchs bis zur Auswertung | 28 |
| Abbildung 9: Herstellung der Probenblöcke | 30 |
| Abbildung 10: Grafischer Aufbau der Inkubationskammer | 32 |
| Abbildung 11: Ablauf der Bakterieninkubation | 33 |
| Abbildung 12: Grafischer Aufbau der Mundmodelle | 35 |
| Abbildung 13: Mundmodell Kontrollgruppe | 35 |
| Abbildung 14: Ablauf der Mundmodellphase aller Gruppen | 36 |
| Abbildung 15: die Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-5} und 10^{-7} in der CHX-Gruppe | 37 |
| Abbildung 16: Röntgenröhre mit daran befestigter TMR-Kamera | 38 |
| Abbildung 17: Grafische Darstellung der Bestimmung von ΔZ und der LD | 40 |
| Abbildung 18: Formel zur Berechnung des korrigierten ΔZ in der SDF-Gruppe | 40 |
| Abbildung 19: Box-and-whiskers-plots zur Darstellung des Mineralverlustes bei T_1 | 43 |
| Abbildung 20: Box-and-whiskers-plots Darstellung der Läsionstiefen-Werte mit den jeweiligen Quartilen und Medianwerten | 45 |
| Abbildung 21: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T_0 | 46 |
| Abbildung 22: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T_1 | 47 |
| Abbildung 23: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T_0 in Gegenüberstellung zu T_1 | 48 |
| Abbildung 24: Zustand nach 48-stündiger Lagerung in „Buskes“-Lösung | 78 |
| Abbildung 25: TMR-Bild nach 48 Stunden Demineralisation, 24 Stunden Inkubationszeit und 6 Tagen Mundmodellphase | 79 |
| Abbildung 26: Frakturfläche der Proben | 80 |

TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Tabelle 1: Wurzelkariesprävalenz | 16 |
| Tabelle 2: Verwendete Substanzen | 28 |
| Tabelle 3: Mineralverlust ΔZ bei T ₁ | 42 |
| Tabelle 4: TMR-Läsionstiefe bei T ₁ | 44 |
| Tabelle 5: Bakterielle Kontamination in KBE..... | 47 |
| Tabelle 6: MRS-Bouillon | 75 |
| Tabelle 7: DMM (modified Defined Mucine Medium) | 76 |

ABSTRACT (ENGLISH)

Objectives: The present study compared the arrest of root carious lesions by application of chlorhexidine (CHX) and silver diamine fluoride (SDF) varnishes and/or sodium fluoride rinses (NaF) *in vitro*.

Methods: Acetic acid and a continuous-culture *Lactobacillus rhamnosus* biofilm model were used to induce artificial root caries lesions in 100 bovine dentin samples. One quarter of each induced lesion was excavated and baseline dentinal bacterial counts assessed by determination of Colony-Forming-Units (CFU) per μg dentin. Samples were allocated to one of four treatment groups (n=25/group): (1) untreated control, (2) 38 % SDF or (3) 35 % CHX varnish, each applied once, plus 500 ppm daily NaF rinse in the subsequent lesion progression phase and (4) daily NaF rinses only. Samples were re-transferred to the biofilm model and submitted to a second cariogenic challenge. After 6 days, the other three-quarters of each lesion were used to assess bacterial counts and microradiographic mineral loss (ΔZ).

Results: ΔZ did not differ significantly between SDF (median [25th/75th percentiles]: 7206 [5389/8082]), NaF (6704 [4507/9574]) and control (9082 [7859/9782] vol.% $\times\mu\text{m}$) ($p < 0.05$ /Kruskal-Wallis test). CHX significantly reduced ΔZ (3385 [2447/4496]) compared with all other groups ($p < 0.05$). Bacterial numbers did not differ significantly between control (1451 [875/2644] CFU/ μg) and NaF (750 [260/1401]) ($p > 0.05$). SDF significantly reduced bacterial counts (360 [136/1166]) compared with control ($p < 0.05$). CHX significantly reduced bacterial counts (190 [73/517]) compared with all other groups ($p < 0.05$).

Conclusions: CHX varnish plus regular NaF rinses arrested root carious lesions most effectively *in vitro*.

Clinical relevance: Root carious lesions might be managed using CHX varnish and NaF rinses. Such management might be especially valuable if regular effective tooth brushing is not possible.

ABSTRAKT (DEUTSCH)

Ziel der Studie: Diese Untersuchung hatte das Ziel, den Effekt von Silberdiaminfluorid (SDF), Chlorhexidin (CHX) und/oder Natriumfluoridspülung (NaF) auf die Arretierung von Wurzelkaries in-vitro zu vergleichen.

Methode: Bei 100 bovinen Dentinproben wurde eine künstliche Wurzelkaries mithilfe von Essigsäure und nachfolgender Bakterieninkubation mit *Lactobazillus rhamnosus* (LGG) erzeugt. Ein Viertel der exponierten Probenoberfläche wurde exkaviert und die koloniebildenden Einheiten/μg (KBE) im Dentin bestimmt. Die Proben wurden in 4 Gruppen aufgeteilt (n=25/Gruppe). Gruppe 1: 38 % SDF, Gruppe 2: 35 % CHX-Lack Gruppe 3: unbehandelte Kontrollgruppe, jeweils mit Applikation von täglicher 500 ppm NaF-Spülung in der Mundmodellphase, Gruppe 4: Kontrollgruppe ohne NaF-Spülung. Die Proben wurden in einem Biofilmmodel erneut einem kariogenen Milieu ausgesetzt. Nach 6 Tagen wurde an der restlichen Probenoberfläche der Mineralverlust über Mikroradiografie (ΔZ) und die KBE bestimmt.

Ergebnisse: Bei ΔZ zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen SDF (median [unteres/oberes Quartil]: 7206 [5389/8082]), NaF (6704 [4507/9574]) und der Kontrollgruppe (9082 [7859/9782]) ($p > 0.05$ /Kruskal-Wallis Test). CHX reduzierte signifikant ΔZ (3385 [2447/4496]) verglichen mit allen anderen Gruppen ($p < 0.05$). Die KBE unterschieden sich nicht signifikant zwischen der Kontrollgruppe (1451 [875/2644]) and NaF (750 [260/1401]) ($p > 0.05$). SDF reduzierte die KBE (360 [136/1166]) verglichen mit der Kontrollgruppe ($p < 0.05$). CHX reduzierte die KBE (190 [73/517]) verglichen mit allen anderen Gruppen ($p < 0.05$).

Schlussfolgerung: CHX-Lack in Verbindung mit NaF-Spülung arretiert am erfolgreichsten eine Wurzelkaries in-vitro.

Klinische Relevanz: Wurzelkariesläsionen könnten mit CHX-Lack und NaF-Spülungen behandelt werden. Dies Möglichkeit könnte besonders in klinischen Situationen angewandt werden, in denen Zähneputzen nicht oder nur eingeschränkt möglich ist.

1 EINLEITUNG

Die verbesserte zahnmedizinische Versorgung in Industriestaaten führt zu der positiven Entwicklung, dass Senioren oft bis in das hohe Lebensalter ihre eigenen Zähne behalten können. Die erhaltenen Zähne unterliegen jedoch im höheren Alter einem erhöhten Risiko, an Wurzelkaries zu erkranken. So führen pathologische Faktoren wie Fehlbelastungen, falsche Putztechniken oder Parodontitis, aber auch physiologischer, altersbedingt parodontaler Abbau zu Rezessionen der Gingiva, wodurch Wurzelentin freigelegt wird (1). Dieses ist im Vergleich zu Schmelz anfälliger für Demineralisation und bakterielle Adhäsion und damit für die Entstehung von Karies (2). In Verbindung mit einer verminderten Effektivität selbstständig durchgeführter Mundhygienemaßnahmen, sowie reduziertem Speichelfluss, der unter anderem durch die kombinierte Einnahme verschiedener Medikamente auftritt (3), entstehen bei älteren Menschen oftmals Kariesläsionen an der Wurzeloberfläche. Insbesondere bei pflegebedürftigen Senioren bestehen häufig große Einschränkungen, sie einer zahnärztlichen Behandlung zuzuführen. Neben restaurativen Therapieoptionen, die mit einem hohen apparativen Aufwand verbunden sind (4) (5), werden für diese Patienten daher vor allem Optionen gewünscht, die eine schnelle und einfache Behandlung mit reduziertem zahnärztlichen Equipment erlauben und gegebenenfalls auch von speziell geschultem Pflegepersonal durchgeführt werden können. Ziel der Studie war es daher, den Effekt von drei solchen non-invasiven und einfach anzuwendenden Therapieoptionen auf das Vorschreiten einer künstlich induzierten Wurzelkaries zu untersuchen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Kariesentstehung allgemein

Karies wird heute als multifaktorielle Erkrankung angesehen. Im Venn-Diagramm von Keyes wird die zur Kariesentstehung notwendige Wechselwirkung der drei Faktoren Substrat, Mikroorganismen und Zahn dargestellt (Abbildung 2.1).

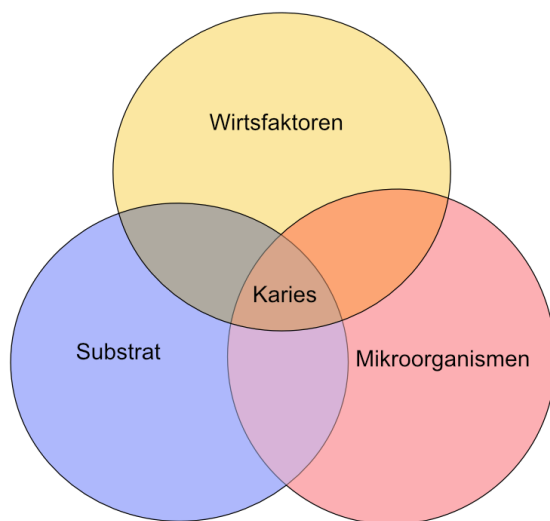


Abbildung 2.1: Die drei Hauptfaktoren der Kariesätiologie nach Keyes (1962) (6).

Die lange vorherrschende Theorie, nach der Karies eine rein bakterielle Infektionskrankheit (und damit ansteckend) ist, kann als nicht mehr zeitgemäß bezeichnet werden. Die spezifische Plaquehypothese besagt, dass eine Infektion mit *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) zu Kariesläsionen führt. Sie basiert unter anderem auf Studien von Keyes aus den 1960er Jahren, in denen nur jene Hamster, die vorher mit *S. mutans* infiziert wurden, bei kariogener Ernährung eine Karies entwickelten (7).

Die neuere ökologische Plaquehypothese (8) ist die derzeit am weitesten akzeptierte Theorie zur Entstehung von Karies. Nach dieser ist die Karies eine multifaktoriell bedingte Erkrankung, bei der die häufige Zufuhr von fermentierbaren Kohlenhydraten den entscheidenden Faktor bei der Ätiologie und Pathogenese einer Karies darstellt. Bei übermäßigem Konsum führen fermentierbare Kohlenhydrate zu einer Verschiebung von der physiologischen bakteriellen Flora

innerhalb eines physiologischen oralen Biofilms zu einem pathologischen Biofilm mit vorwiegend kariogenen Bakterien (Abbildung 2.2).

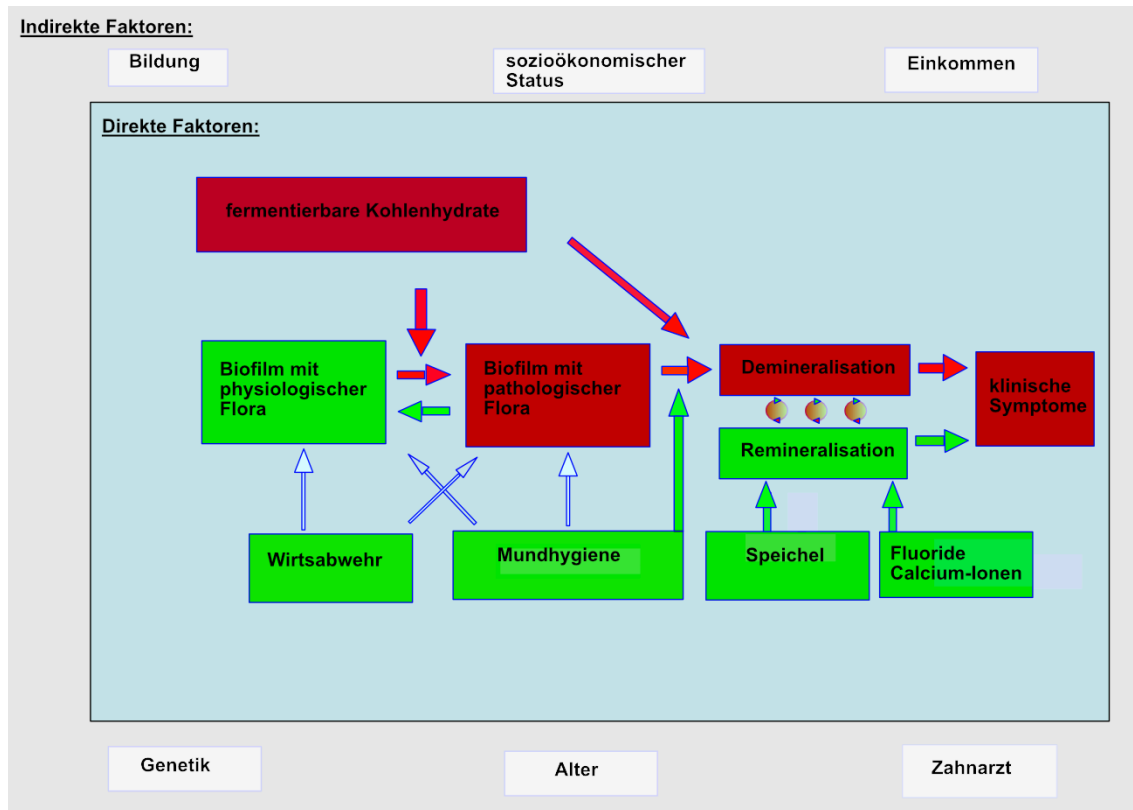


Abbildung 2.2: Darstellung der ökologischen Plaquehypothese (Abbildung modifiziert nach Paris et al. (2012) (9)). Es wird erkennbar, dass sich unter dem Einfluss fermentierbarer Kohlenhydrate ein ursprünglich physiologischer Biofilm in einen pathologischen Biofilm wandeln kann. Grün dargestellte Faktoren wie Mundhygiene und Fluoride wirken dagegen protektiv.

Der Begriff „Biofilm“ wurde von dem Mikrobiologen J. William Costerton geprägt, der damit eine strukturierte Gemeinschaft von Mikroorganismen beschrieb, die selbst eine Matrix aus Polymeren produzieren, in dieser leben und an eine inerte oder lebende Oberfläche angeheftet sind (10). Ein Biofilm kann durch eine oder durch mehrere Spezies gebildet werden. Durch die metabolische Aktivität dieser Bakterien kommt es zur Bildung von Säuren, also dem Anstieg des Wasserstoffionengehalts (H^+). Während in einem physiologischen Biofilm kariogene Bakterien nur eine untergeordnete Rolle spielen, führt das durch die Bakterien selber verursachte saure

Milieu zu einer Selektion, da kariogene Bakterien (z.B. *S. mutans*, *Laktobazillen*) im Gegensatz zu vielen anderen Spezies auch in einer sauren Umgebung überlebensfähig sind. Durch die Verdrängung harmloser Bakterien entsteht somit über einen gewissen Zeitraum ein pathologischer Biofilm, der sich vor allem aus azidogenen (säurebildenden) und azidurischen (säuretoleranten) Bakterienspezies zusammensetzt (11).

Ein Säureangriff nach Kohlenhydratzufuhr führt zu einer charakteristischen Änderung (Stephan-Kurve) des pH-Wertes der Plaque, bei dem es zunächst zu einem steilen Abfall, gefolgt von einer langsamen Wiederherstellung des Ausgangswertes kommt (Abbildung 2.3) (12).

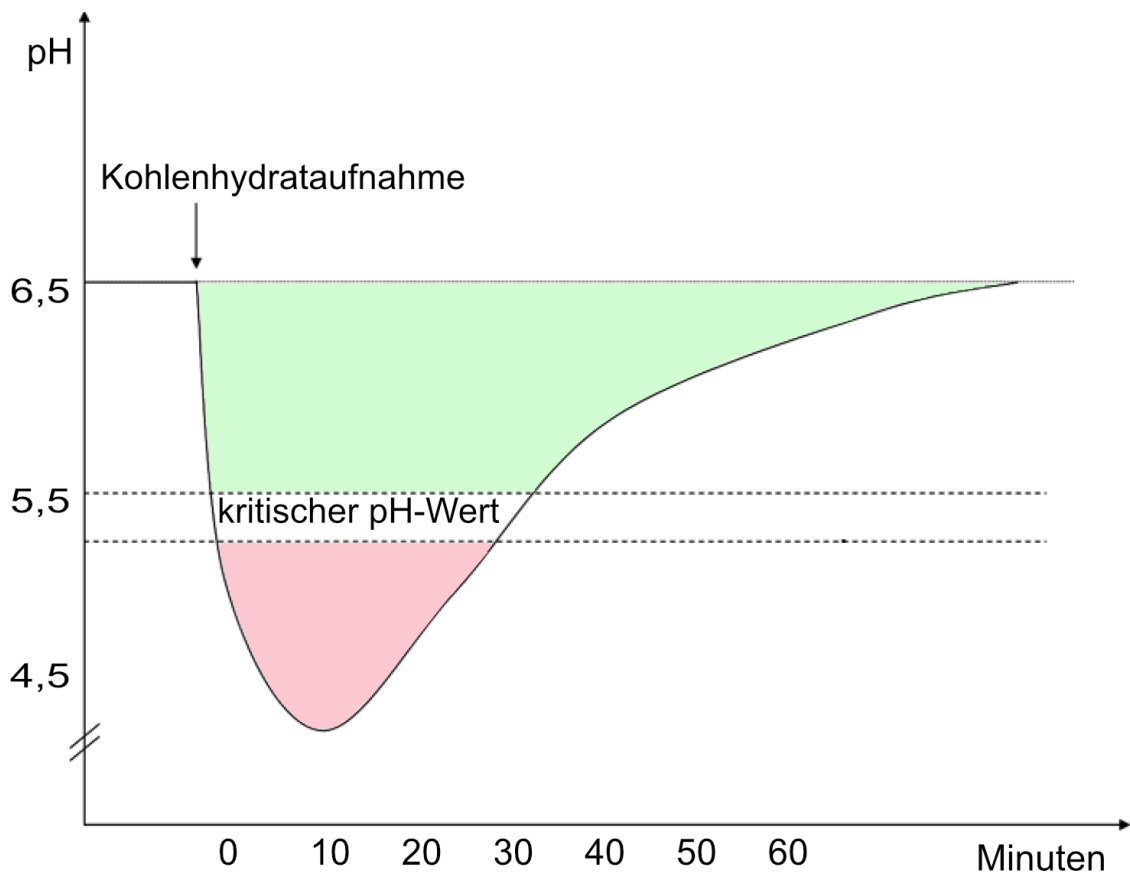


Abbildung 2.3: Charakteristische pH-Wert Änderung in der Plaque nach Mahlzeiten: rascher Abfall und langsames wieder Ansteigen (Stephan-Kurve). (Abbildung modifiziert nach (13))

Kalziumphosphat, eine Form des Hydroxylapatits (HAP), ist ein Grundbaustein der Zahnhartsubstanz und besteht primär aus Calcium- (Ca^{2+}) und Phosphationen. Wird Kalziumphosphat in eine wässrige Lösung gegeben, kommt es zu einer je nach pH-Wert variierenden Löslichkeit. Bei neutralem pH-Wert ist die Plaqueflüssigkeit für Hydroxylapatit übersättigt. Da gleich viele Ionen in Lösung gehen, wie sich in die Zahnhartsubstanz einlagern, bleibt die Netto-Ionenmenge gleich und ein stabiler Zustand stellt sich ein. Bei sinkendem pH-Wert unter einen kritischen Bereich (bei Schmelz 5,5, bei Dentin 6,2) und somit steigendem Gehalt an Wasserstoffionen (H^+) verbinden sich diese mit freien Phosphationen (PO_4^{3-}) aus dem Speichel zu Hydrogenphosphat (HPO_4^{2-}), Dihydrogenphosphat (H_2PO_4^-) und Phosphorsäure (H_3PO_4) (Abbildung 2.4). Da der Speichel dadurch für Phosphationen untersättigt ist, kommt es durch das Herauslösen dieser Ionen aus dem Schmelz zum Auflösen von Hydroxylapatit.

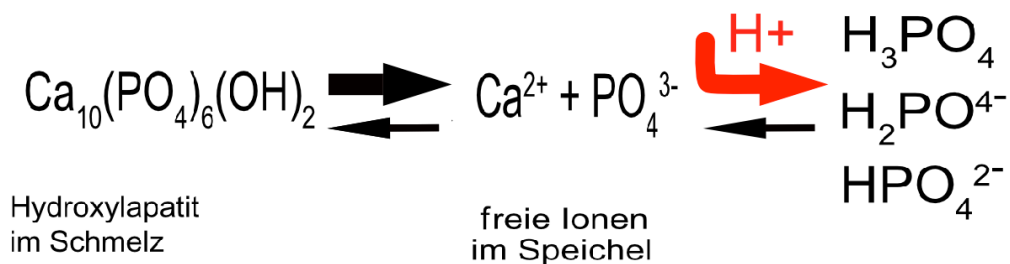


Abbildung 2.4: Chemische Reaktion des Demineralisationsprozesses

Nach beendeter Verstoffwechslung des Zuckers durch die Bakterien führen mehrere Faktoren wieder zu einem langsamen Anstieg des pH-Werts auf Normalniveau. Von besonderer Bedeutung sind dabei die Funktionen des Speichels. Neben der Spülfunktion, durch die kariogenes Substrat und Säuren verdünnt werden, sorgt auch die Pufferwirkung des Speichels für eine Erhöhung des pH-Wertes nach Nahrungsaufnahme. Der wichtigste Puffer zur Neutralisation von Säuren bei niedrigem pH-Wert und hoher Speichelfließrate ist der Bikarbonatpuffer (14). Hydrogenkarbonat (HCO_3^-) bildet mit Wasserstoffionen (H^+) die schwache Kohlensäure (H_2CO_3), die in Wasser (H_2O) und Kohlendioxid (CO_2) zerfällt. Dadurch bleibt der pH-Wert nach Zugabe einer Säure in einem konstanten Bereich, der Wirkungsbereich (Pufferbereich) des Bikarbonatpuffers liegt dabei

zwischen 5,1 und 7,1 (15). Nach Anstieg des pH-Wertes über den kritischen Wert kommt es durch die nun bestehende Übersättigung an Hydroxylapatit zu einem Ausfällen dieses Hydroxylapatits an der Zahnoberfläche und dadurch zu einem Remineralisationseffekt der Kariesläsion (16). Häufige Zwischenmahlzeiten lassen keine ausreichend langen Remineralisationsphasen bei neutralem pH-Wert zu, ein Überwiegen der Demineralisation gegenüber Remineralisation führt schließlich zu einer fortschreitenden Kariesläsion.

Eine Reihe direkter Faktoren kann vor der Entstehung von Karies schützen. Neben der schützenden Funktionen des Speichels lässt sich auch durch die Wirkung von Fluoriden die Demineralisationsperiode abschwächen (17) (s. Kapitel 2.4.2.1). Wirtsabwehr und Mundhygiene hemmen Wachstum und Stoffwechselaktivität des Biofilms und damit die Säureproduktion (18). Andere Faktoren wie der sozioökonomische Status, das Alter und der Zahnarzt des Individuums sind zwar keine direkten Faktoren, können aber als indirekte Faktoren die Kariesentstehung beeinflussen (9) (Abbildung 2.2, Seite 11).

2.2 Wurzelkaries

Wurzelkaries unterscheidet sich in der Ätiopathogenese nicht grundlegend von einer Karies an einer anderen Stelle des Zahnes. Der in der ökologischen Plaquehypothese beschriebene Mechanismus mit Bildung eines pathologischen Biofilms aufgrund häufigen Zuckerkonsums ist auch die Voraussetzung für die Entstehung von Kariesläsionen im Wurzelbereich. Damit sich Karies an der Wurzeloberfläche bilden kann, muss die bei jüngeren Patienten meist durch Knochen und Gingiva bedeckte Zahnwurzel zur Mundhöhle exponiert sein. Die Hauptursachen für das Freiliegen der Wurzeloberfläche bei älteren Menschen sind der physiologische Knochenabbau sowie pathologische Faktoren wie Bruxismus, Parodontitis und falsche Putztechniken (1).

Während der kritische pH-Wert, der zu einer Demineralisation führen kann, bei Zahnschmelz 5,5-5,2 beträgt, liegt dieser für Wurzelentin mit 6,0-6,8 höher (2, 19). Dies ist neben dem unterschiedlichen Aufbau der Zahnhartsubstanzen unter anderem durch einen höheren Grad an Unreinheiten im Kristallgitter der Hydroxylapatitkristalle im Vergleich zu Schmelz zu erklären. So besteht Zahnschmelz zu ca. 96 Gewichtsprozent (Gew.%) aus Hydroxylapatit, während Dentin zu ca. 70 Gew.% aus Hydroxylapatit besteht und kürzere und im Durchmesser kleinere Apatitkristalle enthält (20). Durch den niedrigeren Gehalt der anorganischen Substanz schreitet Karies im Wurzelbereich schneller voran als Karies im Zahnschmelz. Die durch Karies im Dentin

freigelegte organische Matrix wird durch bakterielle Proteasen angegriffen. Dabei wird die Kollagenstruktur irreversibel verändert, wodurch die Bindung von Apatitkristallen an das Kollagen erschwert oder verhindert und in Folge die Fähigkeit der Remineralisation negativ beeinflusst wird (21). Während sich die zugrundeliegenden Prinzipien der Kariesentstehung bei Schmelz und Dentin gleichen, ist das Wurzelentin also deutlich empfindlicher für Demineralisationen als Zahnschmelz (22).

2.3 Epidemiologie der Wurzelkaries

In den Industrienationen hat Wurzelkaries eine hohe Prävalenz. Diese wird in Zukunft wahrscheinlich noch weiter ansteigen (23), da die verbesserte zahnmedizinische Versorgung, gesundheitliche Aufklärung und ein Rückgang von Rauchern zu einer Situation führen, in der unabhängig von Faktoren wie Bildung, Schichtzugehörigkeit und Einkommen -zusammengefasst unter dem Begriff des sozioökonomischen Status- mehr Zähne mit potentiell exponierten Wurzeloberflächen im Alter erhalten werden können (24). Der demographische Wandel führt gleichzeitig zu einer älter werdenden Bevölkerung (25, 26). Während im Jahr 2013 5,4% der Bevölkerung 80 Jahre und älter war, wird im Jahr 2050-2060 mit einem Anteil dieser Altersgruppe von ca. 13 % gerechnet (27).

Um einen Überblick über die aktuelle Mundgesundheit der Bevölkerung in Deutschland zu erhalten, bietet sich ein Blick in die fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) von 2014 an. Dabei lässt sich durch den generellen Rückgang von Karies und parodontalen Erkrankungen über alle Bevölkerungsgruppen hinweg ein positiver Trend aufgrund des Erfolges der präventiven Strategien der letzten Jahre verzeichnen (28). Gleichzeitig wird aber ein in Zukunft erhöhter Behandlungsbedarf erwartet. Mit dem Begriff „Morbiditykompression“ wird dabei der Effekt beschrieben, dass einem Erkrankungsbeginn heute mehr gesunde Lebensjahre vorausgehen. So sank in Deutschland bei jüngeren Erwachsenen im Alter von 35-44 Jahren die Wurzelkariesprävalenz von 22,1 % im Jahre 1997 (DMS III) auf 11,8 % bei der DMS V. Bei jüngeren Senioren zwischen 65- und 74 liegt der Anteil von Personen mit mindestens einer kariösen Wurzeloberfläche bei 28 % (28). Damit ist seit der Erhebung von 2005 (DMS IV), bei der dieser Wert noch 45 % betrug, ein deutlicher Rückgang zu verzeichnen. Diese Altersgruppe besitzt zudem immer häufiger ihre eigenen Zähne: 1997 (DMS III) war noch jeder vierte (24,8 %)

jüngere Senior zahnlos, heute ist es nur noch jeder achte (12,4 %). Dementsprechend behalten sie auch im Durchschnitt fünf eigene Zähne mehr als noch im Jahr 1997 (DMS III: 10,4 vs. DMS V: 16,9 Zähne) (28). Die Gruppe der jüngeren Senioren hat damit 2005 einen ähnlichen Mundgesundheitsstatus erreicht wie die Gruppe der Erwachsenen im Jahr 1997.

Bei der Gruppe der älteren Senioren (75- bis 100-Jährige) haben 26 % mindestens eine kariöse oder gefüllte Wurzeloberfläche. Dabei gibt es sowohl geschlechts- wie ortsspezifische Unterschiede der Wurzelkariesprävalenz. So sind Männer häufiger von Wurzelkaries betroffen als Frauen (31,0 % zu 22,8 %), während die Prävalenz in Ostdeutschland deutlich geringer ausfällt als in Westdeutschland (18,4 % zu 27,9 %). Der soziale Status scheint dagegen eine untergeordnete Rolle zu spielen (Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1: Wurzelkariesprävalenz (prozentualer Anteil der Patienten mit mindestens einer Wurzelkariesläsion) bei älteren Senioren (75- bis 100-Jährige) in Deutschland, spezifiziert nach Ost-/Westdeutschland, männlich/weiblich und dem Sozialstatus (28)

| | Gesamt | Deutschland | | Geschlecht | | Sozialstatus | | |
|--------------|--------|-------------|--------|------------|----------|--------------|--------|--------|
| | | West | Ost | männlich | weiblich | niedrig | mittel | hoch |
| Wurzelkaries | 26,0 % | 27,9 % | 18,4 % | 31,0 % | 22,8 % | 25,5 % | 25,1 % | 30,3 % |

Während die Wurzelkariesprävalenz beschreibt, wie viele Personen einer Bevölkerungsgruppe an einer Wurzelkaries erkrankt sind, ohne dabei die Anzahl der erkrankten Zahnoberflächen zu berücksichtigen, spezifiziert der Root-Caries Index (RCI) das Verhältnis von Wurzelkariesläsionen zu der Anzahl der freiliegenden Wurzeloberflächen (29). Anhand dieses Index wird erkennbar, dass bei der Gruppe der älteren Senioren im Mittel 16,4 % aller freiliegenden Wurzeloberflächen kariös oder gefüllt sind. Auch hier haben Menschen in Ostdeutschland mit 7,3 % gegenüber Menschen in Westdeutschland mit 18,7 % einen wesentlich niedrigeren RCI, sowie Männer im Vergleich zu Frauen einen leicht erhöhten RCI (16,7 % zu 16,0 %). Bei älteren Senioren mit Pflegestufe beträgt der RCI 26,4 % und ist damit im Vergleich zu Menschen ohne Pflegestufe deutlich erhöht (28). Menschen mit Pflegebedarf weisen eine schlechtere Zahn- und Mundgesundheit auf als die gesamte Altersgruppe der älteren Senioren (75-

100-Jährige) (28). Schon jetzt werden 822.000 Pflegebedürftige in Deutschlands Pflegeheimen versorgt (30). Häufig herrscht dort ein knappes Zeitregiment, sodass die notwendigen Mundhygienemaßnahmen durch das pflegende Personal nicht konsequent angewendet werden können (31). Zudem ist das Personal in zahnmedizinischen Belangen oft schlecht geschult (32) und die Verfügbarkeit zahnmedizinischer Betreuung in Pflegeheimen meist eingeschränkt (33). Das kann in Verbindung mit verschlechterten manuellen und geistigen Fähigkeiten der Bewohner, welche das Zähneputzen erschweren oder unmöglich machen, zu einer Karies begünstigenden Situation führen (34). So können 29,8 % der Menschen mit Pflegebedarf sich nicht mehr selbstständig um die Pflege ihrer Zähne und Zahnprothesen kümmern und benötigen Hilfe bei der Durchführung von Mundhygienemaßnahmen (28).

Zudem spielt die Ernährung eine wichtige Rolle: in Pflegeheimen ist ungesunde, kariogene Nahrung für die Bewohner häufiger Bestandteil des Essens (35). So ist kariogene Nahrung vor allem preiswerter als vollwertige Kost. Mit steigendem Alter nimmt aber auch der Geschmackssinn ab, wodurch es bei älteren Menschen häufig zu einer Bevorzugung von süßem Essen kommt (36, 37). Aufgrund der hohen Prävalenz von Wurzelkaries und der erwarteten Zunahme von Menschen mit Pflegebedarf, ist es notwendig Strategien zu entwickeln, mit denen Karies bei diesen Patienten erfolgreich in Pflegeeinrichtungen behandelt werden können.

2.4 Therapieoptionen

Bei der Behandlung von Karies kann zwischen invasiven- und non-invasiven Therapiemöglichkeiten unterschieden werden. Invasive Behandlungen haben das Ziel, nach der Entfernung kariöser Zahnhartsubstanz die Form und Funktion eines Zahnes wiederherzustellen, wobei meist plastische oder laborgefertigte Füllungsmaterialien verwendet werden. Diese Therapieoption hat jedoch Nachteile: So geht bei der Präparation für eine Füllung Zahnhartsubstanz verloren. Da keine Füllung ewig hält, wird durch die Restauration ein Zyklus initiiert, der durch die Notwendigkeit von Nachfolgebehandlungen nach und nach zu einem zunehmenden Verlust von Zahnhartsubstanz, welcher über Jahre letztendlich zur Zahnextraktion führen kann (38). Daher besteht seit einiger Zeit der Trend in der Zahnmedizin, durch den Einsatz von non- und mikro-invasiven Behandlungsverfahren die restaurative Therapie von Karies so lange wie möglich hinauszuzögern.

Die Restauration von Karies hat aber auch einen weiteren Nachteil aus der Perspektive der Senioren: So verlangt diese Therapieoption ein Mindestmaß an zahnärztlichem Instrumentarium, welches im Fall von immobilen Senioren, die eine Zahnarztpraxis nicht mehr ohne weiteres aufsuchen können, nur eingeschränkt zur Verfügung steht. Daher sind unterschiedliche non-invasive Methoden, die in der Regel unter geringem instrumentellem Aufwand angewendet werden können, für die Behandlung von Wurzelkaries bei älteren Senioren in der Erprobung. Viele dieser non-invasiven Verfahren werden bereits in der Kinderzahnheilkunde eingesetzt, um eine bestehende Karies in ihrer Progression zu verlangsamen oder im besten Fall zu stoppen (arretieren). Zur Arretierung von Milchzahnkaries mit non-invasiven Methoden sind deutlich mehr Studien verfügbar als zur Arretierung von Wurzelkaries. Deshalb wird im folgenden Abschnitt auch Bezug auf die klinische Effektivität unterschiedlicher Maßnahmen bei Kariesläsionen im Milch- und Wechselgebiss genommen. Zur Arretierung der Karies durch non-invasive Behandlungsmethoden stehen neben der Ernährungsbeeinflussung und mechanischer Entfernung des Biofilms durch Zähneputzen hauptsächlich zwei diskutierte und angewendete Therapieansätze zur Verfügung: Neben einer Beeinflussung des Biofilms durch antibakterielle Substanzen ist die Hemmung der Demineralisation bzw. die Förderung der Remineralisation möglich.

2.4.1 Beeinflussung des Biofilms

2.4.1.1 Chlorhexidin

Chlorhexidin (CHX) wirkt antibakteriell und stellte sich in einigen Studien bei der Therapie und Prävention von Wurzelkaries als effektiv dar (39, 40). CHX wird bereits seit 40 Jahren in der Zahnmedizin verwendet und wird regelmäßig zur Biofilmkontrolle in Zahnarztpraxen eingesetzt (41). Die kationischen Chlorhexidin-Moleküle binden an negativ geladene orale Gewebe wie Zähne und Mukosa, was eine lange Verfügbarkeit (Substantivität) der Substanz zur Folge hat (42). Durch eine Permeabilitätssteigerung der bakteriellen Zellmembran bei hohen Dosen bzw. einer Änderung des osmotischen Gleichgewichts bei niedrigen Dosen sind bakterizide oder bakteriostatische Wirkungen die Folge (43). CHX besitzt neben der Wirkung auf grampositive und gramnegative Bakterien einen zusätzlichen Effekt auf Hefepilze wie *Candida* (44).

Mögliche Trägersubstanzen für CHX sind neben Lacken auch Mundspülungen, Gele, sich auflösende Chips, Kaugummis und Zahnpasten. Der Vorteil von Lacken besteht in der präzisen

Möglichkeit der Applikation, im Vergleich zur Spülung weniger Nebenwirkungen wie Geschmacksirritationen und Verfärbungen der Zähne, sowie einer geringeren notwendigen Dosis. Zudem ist die professionelle Applikation wenig techniksensibel und es bedarf keiner Bereitschaft zur Mitarbeit des Patienten (44, 45).

In einer dreijährigen klinischen Studie in einem Altersheim, in der ein Lack mit 1-%igem CHX Gehalt verwendet wurde, konnte gegenüber der Kontrollgruppe, die nur Mundhygienemaßnahmen erhielt, eine um 66 % geringere Wurzelkariesinzidenz verzeichnet werden (46). In einer weiteren klinischen Studie konnte gezeigt werden, dass der Anteil neu entstandener Wurzelkariesläsionen in jener Gruppe, die mit einem 40-%igem CHX-Lack behandelt wurde, deutlich geringer ausfiel als in der Kontrollgruppe ohne weitere Behandlung (47). Gleichzeitig führte die Behandlung auch zu mehr arretierten initialen Wurzelkariesläsionen im Vergleich zu der Kontrollgruppe und einer weiteren Gruppe, bei der ein Fluoridlack verwendet wurde. In einer Studie mit Patienten, die unter Mundtrockenheit litten, führte die Anwendung von 10-%igem CHX Lack zu einer um 41 % geringeren Kariesneubildung als in der Kontrollgruppe (48).

2.4.1.2 Silberionen

Ein weiteres Mittel zur Beeinflussung des Biofilms ist Silbernitrat (AgNO_3). Es wurde bereits um das Jahr 1840 eingesetzt und ist damit das erste Silbermischpräparat, das für die Arretierung von Karies genutzt wurde (49). Es war in der sogenannten „Howe’s Ammoniumsilbernitratlösung“ (AgNH_3NO_3) enthalten, einem damals weit verbreiteten Mittel in der Zahnheilkunde. Man nahm an, dass es in infiziertes Dentin eindringt und dort eine antibakterielle Wirkung entfaltet (50). Diese Wirkung wird vor allem den Silberionen zugeschrieben (51). Die drei wichtigsten antibakteriellen Effekte von Silberionen sind die Zerstörung von Zellwänden, Denaturierung cytoplasmatischer Enzyme und die Inhibition der mikrobiellen DNA-Replikation. So binden Silberionen an Disulfide (S_2^{2-}) in Membranproteinen, wodurch eine einfache Penetration durch die Membranen erreicht wird (52). Durch elektrostatische Bindung an negativ geladene Peptidoglykane in der bakteriellen Zellwand wird die Transportfunktion der Membran gestört, was das Sterben der Bakterienzelle zur Folge hat (53). Die Denaturierung der cytoplasmatischen Enzyme erfolgt durch die Bindung der Silberionen an die Sulfhydrylgruppe, die essentiell für die Enzymaktivitäten ist. Die Enzymaktivität wird dadurch verlangsamt und metabolische Prozesse

gestört, was wiederum zum Tod des Mikroorganismus führt (54). Weiterhin können Silberionen an Guanin binden, einem der Hauptkomponenten der DNA, wodurch die Replikation der Bakterien unterbunden wird.

Klinische Studien fanden sowohl einen kariesarretierenden Effekt von Howe's Ammoniumnitratlösung auf bleibende Inzisiven (55) wie auch auf Kariesläsionen im Milchgebiss (56).

2.4.2 Beeinflussung der De- und Remineralisation

2.4.2.1 Fluorid

Die lokale Applikation von Fluorid wird häufig zur Prävention von Karies allgemein und auch von Wurzelkaries eingesetzt (57). Fluorid wird in der Zahnheilkunde vor allem in Zahncremes, Mundspülungen, Gelen sowie Lacken angewandt. Ein Mechanismus der Fluoridwirkung ist die Verminderung der Säurelöslichkeit. Erreicht wird dies durch eine mögliche Substitution von OH⁻-Ionen des Hydroxylapatits durch F⁻-Ionen, wodurch bei vollständigem Ersatz Fluorapatit, bei teilweise Ersatz Fluorhydroxylapatit entsteht. Fluorapatit hat bei gleichen pH-Werten eine geringere Löslichkeit als Hydroxylapatit, da es eine stabilere Kristallstruktur besitzt. Der Hauptwirkmechanismus von Fluorid, welcher im Folgenden genauer beschrieben wird, ist jedoch die gleichzeitige Hemmung der Demineralisation sowie die Förderung der Remineralisation (58). In Kapitel 2.1 wurde bereits auf den Demineralisationsprozess von Zahnschmelz eingegangen: bei pH-Werten < 5,5 ist die Speichel- und Plaqueflüssigkeit für Hydroxylapatit im Vergleich zu Zahnschmelz untersättigt und wird aus dem Zahn herausgelöst (59). Bei Anwesenheit geringer Fluoridkonzentrationen wird die Demineralisation gehemmt (Abbildung 2.5). Dabei bleibt die Speichel- und Plaqueflüssigkeit auch bis zu einem pH-Wert von ca. 4,5 für fluoridiertes Hydroxylapatit übersättigt, sodass bei Demineralisationsprozessen, in denen Hydroxylapatit aus dem Schmelz herausgelöst wird, fluoridiertes Hydroxylapatit im Schmelz ausfällt (59). Dies hat eine Abschwächung der Demineralisationsphase zur Folge. Nach Überschreiten des kritischen pH-Wertes von 5,5 ist die Plaqueflüssigkeit sowohl für Hydroxylapatit, wie auch für Fluorapatit übersättigt, wodurch eine Remineralisation eintritt. Bei einem neutralen pH-Wert oberhalb des kritischen Wertes entstehen sowohl Hydroxylapatit, wie auch fluoridiertes Hydroxylapatit im Schmelz (Abbildung 2.6) (59).

Demineralisation in Anwesenheit von Fluorid

pH > 4,5; pH < 5,5

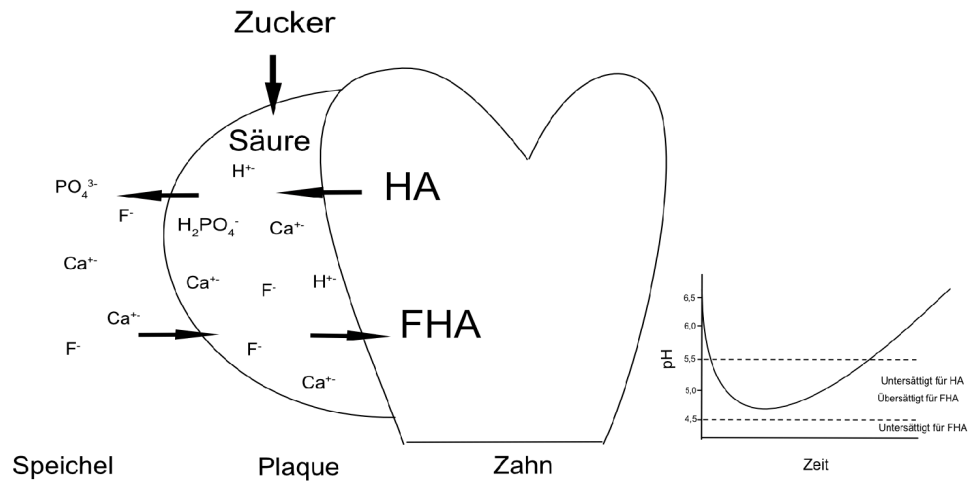


Abbildung 2.5: Hemmung der Demineralisation bei Anwesenheit von Fluorid (60).

HA = Hydroxylapatit, FHA = fluoridiertes Hydroxylapatit (Modifiziert nach Cury et al. (2008) (60))

Remineralisation in Anwesenheit von Fluorid

pH > 5,5

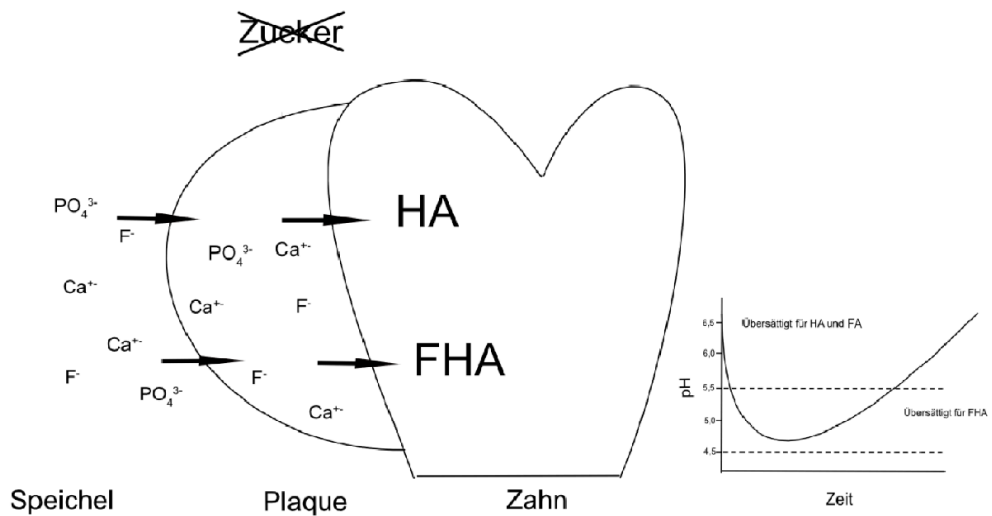


Abbildung 2.6: verbesserte Remineralisation durch Fluorideinfluss. FA = Fluorapatit (Modifiziert nach Cury et al. (2008) (60))

Ein weiterer zusätzlicher Effekt des Fluorids kommt bei hohen Fluoridkonzentrationen zum Tragen: An den Zahnoberflächen entsteht eine Kalzium-Fluoridschicht (61). Diese wirkt ähnlich einem Fluoridspeicher und kann so bei einem Abfall des pH-Wertes die genannten Prozesse verstärken. Durch Hemmung der Demineralisation hat Fluorid daher eine präventive (62) und auch therapeutische Wirkung, da im Zusammenspiel mit der verbesserten Remineralisation Kariesläsionen arretiert werden können (63). Umstritten ist jedoch eine mögliche antibakterielle Wirkung in Bezug auf einen kariesinhibierenden Effekt (64).

In zwei klinischen Studien führte die Anwendung von Mundspülungen mit Fluoridkonzentrationen von 500 ppm F⁻ im Vergleich zu Kontrollgruppen, die ein Placebopräparat erhielten, zu 25,1 % (65) bzw. 71,4 % (66) geringeren DMFRS/DFRS-Werten (DMFRS: Decayed, Missing and Filled Root Surfaces). Ein dosisabhängiger Effekt wurde auch bei Fluoridzahnpaste beschrieben. Hier hatte Zahnpaste mit 5000 ppm F⁻ im Vergleich zu niedriger dosierten Zahnpasten mit Fluoridgehalten von 1100-1450 ppm F⁻ eine signifikant bessere Wirkung. So konnten mit den höher dosierten Präparaten bis zu 51 % mehr Wurzelkariesläsionen arretiert werden (39). Fluoridlacke, die 2 – 4 Mal pro Jahr professionell appliziert wurden, zeigten in einer klinischen Studie sowohl im Milchzahn- wie auch im bleibenden Gebiss einen hohen kariespräventiven Effekt (67).

2.4.3 Kombination aus Biofilm- und De-/ Remineralisationsbeeinflussung

Silberdiaminfluorid (SDF) hat einen antibakteriellen Effekt und beeinflusst darüber hinaus die Mineralisation (46, 68). Eine zentrale Rolle bei der antibakteriellen und damit möglichen karieshemmenden Wirkung von SDF spielt die Reaktion des Silbers mit Thiolgruppen in der Plaque an der Zahnoberfläche (69). Es konnte bereits in-vitro gezeigt werden, dass eine direkte antibakterielle Wirkung von im Dentin vorhandenen Silberpartikeln ausgeht (70), die auf den gleichen Wirkmechanismus wie bei Silbernitrat zurückzuführen ist (s. Kapitel 2.4.1.2). Der remineralisierende Effekt des Silberdiaminfluorids wird unter anderem erklärbar durch die Penetration in den Zahnschmelz, wobei es zur Bildung von Fluorapatit kommt (71). Die

Wirkmechanismen des freigesetzten Fluorids entsprechen den in Kapitel 2.4.2.1 beschriebenen Prozessen. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass in 40-%igen, wässrigen Silberdiaminfluoridlösungen eine Fluoridkonzentration von 120.000 – 127.000 ppm vorhanden ist, was einen sehr hohen Wert im Vergleich zu Zahncremes und Fluoridgelen darstellt (72).

Ein schützender Effekt von SDF, der vor allem bei der Prävention von Dentinkaries eine Rolle spielen könnte, ist die Hemmung von Matrixmetalloproteinasen (MMPs). Diese körpereigenen Enzyme sind in der Lage, Dentin enzymatisch abzubauen (73). MMPs sind metallabhängige Endopeptidasen (74), die normalerweise als Proenzyme -also inaktive Enzymvorstufen- vorliegen. Aktiviert werden können diese durch Proteinase, bestimmte Chemikalien und einen niedrigen Umgebungs-pH, wie er auch unter kariogenen Bedingungen vorliegt.

Nach Aktivierung der MMPs kommt es zum Abbau praktisch aller extrazellulärer Matrixmoleküle, einschließlich natürlichen und denaturierten Kollagens (73). MMPs befinden sich physiologisch in Dentin (75) und Speichel (76). MMP-2 und MMP-9 sind Gelatinasen, die Typ-IV Kollagen abbauen. Da der Aktivierung von MMP-2 und MMP-9 bei der Entstehung einer Dentinkaries, zu der auch die Wurzelkaries zählt, eine entscheidende Rolle zukommt (73), könnte die durch SDF verursachte Hemmung der Matrixmetalloproteinasen ein wichtiger Wirkmechanismus bei der Hemmung der Kariesprogression sein.

In einer klinischen Studie, die den präventiven Effekt von 38-%igem SDF-Lack, 1-%igem CHX-Lack und 5-%igem Natriumfluoridlack gegenüber einer Kontrollgruppe untersuchte, die nur Mundhygieneinstruktionen erhielt, hatte SDF mit einer um 72 % geringeren Wurzelkariesinzidenz nach drei Jahren die höchste präventive Effektivität (46).

2.5 In-vitro-Modelle zur Kariessimulation

Bei der Durchführung von klinischen Studien an Patienten herrschen häufig hohe ethische und technische Hürden. Daher hat die Simulation des oralen Milieus zur Testung verschiedener in der Mundhöhle eingesetzter Substanzen einen hohen Stellenwert in der zahnmedizinischen Forschung. Unter den standardisierten In-vitro-Bedingungen lassen sich zudem verfälschende Einflüsse minimieren, die durch interindividuelle Unterschiede des oralen Milieus hervorgerufen werden können (77).

Die ersten Mundmodelle zur Simulation eines definierten oralen Milieus wurden Ende des 19. Jahrhunderts entwickelt (78) und bilden die Grundlage für heute üblicherweise computerkontrollierte, aufwändigere Versuche. Sie werden unter anderem genutzt, um die Prozesse der Kariesentstehung und Möglichkeiten zur Kariestherapie- und Prävention zu erforschen (79).

In den 30er Jahren wurden Ansätze verfolgt, in denen eine Demineralisation ohne Inkubation mit kariogenen Bakterien durch Lagerung von Schmelzproben beispielsweise in Säurepufferlösungen induziert wurde (80). Diese frühe Form heutiger pH-Cycling Mundmodelle führte zu künstlichen Kariesläsionen, die nicht mit einer klinischen Karies vergleichbar waren und eher erosiv bedingten Läsionen glichen (81). Spätere Studien verfolgten den Ansatz, basierend auf in-vivo Beobachtungen, Proben von extrahierten Zähnen einem bakteriellen Milieu auszusetzen, das den oralen Bedingungen möglichst nah kommt. Diese Systeme können in geschlossene und in offene Biofilmmodelle eingeteilt werden. Geschlossene Modelle ohne Nährstoffzufuhr haben den Vorteil eines einfachen Aufbaus und geringen Reagenzienverbrauchs, bei diesen kommt es jedoch durch den Verbrauch von Nährstoffen und der Ansammlung metabolischer Abbauprodukte zu keinem konstanten Milieu (82). Die auch als „artificial-mouth“ Modelle bezeichneten, offenen Biofilmmodelle haben dagegen den Ansatz, die Bedingungen in-vivo in Bezug auf Temperatur, pH-Wert und Feuchtigkeit nachzuahmen (83). Deren Grundlage bildet dabei die konstante Zufuhr von Nährstoffen, welche die Biofilm- bzw. Plaquebildung von Bakterien in einer dem oralen Milieu ähnlichen Umgebung zur Folge hat (81) und ein konstantes Milieu ermöglicht. Viele unterschiedliche Biofilmmodelle sind derzeit verfügbar, die sich in Bezug auf Biofilmzusammensetzung, Speichelart, Art und Dauer der Nährstoffzufuhr sowie anderen Einstellmöglichkeiten unterscheiden.

Aufgrund von interindividuellen und tageszeitlichen Variationen des Speichels ist es nicht möglich, mit natürlichem Speichel konstante Untersuchungsbedingungen zu gewährleisten (84). Daher werden häufig Speichelersatzmittel verwendet. Dabei kann unter anderem zwischen dem früher häufig genutztem BMM (basal medium mucin) und dem neueren DMM (defined medium mucin) gewählt werden. BMM enthält, im Gegensatz zu DMM, durch Inhaltsstoffe wie Backhefe, eine undefinierte chemische Zusammensetzung, das unter beiden Speichelersatzstoffen induzierte Plaqueswachstum scheint aber ähnlich zu sein (85).

Weiterhin kann zwischen Mundmodellen unterschieden werden, bei denen die Biofilme aus Monokulturen bestehen, sowie jenen mit einer Zusammensetzung aus mehreren unterschiedlichen

Bakterienkulturen. Häufig genutzte Bakterien für Monokulturen sind *S. mutans*, *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Actinomyces naeslundii* (*A. naeslundii*) und *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*). Gemischte Kulturen bestehen häufig aus einer Kombination dieser Bakterien.

Alle Biofilme dieser Bakterien führen zu einer Demineralisation von Schmelz- und Dentinproben mit messbaren Veränderungen in Bezug auf Mineralgehalt und Mikrohärtigkeit, hervorgerufen durch Säureproduktion und der daraus folgenden Schaffung eines sauren Milieus (86). Besonders hohe Kariogenität weisen vor allem die aus verschiedenen Bakterienkulturen zusammengesetzten Biofilme auf. Die Kariesläsionen im Schmelz entsprechen dabei dem klinischen Bild einer Karies (87).

2.6 Fragestellung

SDF und CHX-Lack haben sich bei der Arretierung von Wurzelkaries in unterschiedlichen klinischen Studien als wirksam erwiesen. In diesen Studien wurde die Wirksamkeit dieser Substanzen jedoch nicht direkt miteinander verglichen. So ist deren relativer kariesarretierender Effekt bei Wurzelkaries weiterhin unklar. Zudem ist nicht bekannt, welchen zusätzlichen Effekt diese Substanzen zur regelmäßigen Fluoridzufuhr durch Zahnpasta aufweisen. Diese Studie vergleicht daher den Effekt von Natriumfluoridspülung (NaF), zur Simulation der Fluoridzufuhr aus Zahnpasta, alleinig oder in Kombination mit SDF und CHX-Lack auf die Progression von Wurzelkaries in einem *L. rhamnosus* (*LGG*) Monospezies-Biofilmmodell. Als primäre Nullhypothese wurde angenommen, dass zwischen den oberflächenbehandelten Gruppen und der unbehandelten Kontrollgruppe kein Unterschied bezüglich des Mineralverlustes und der Läsionstiefe feststellbar sein wird. Die zweite Nullhypothese war, dass sich die bakterielle Kontamination in KBE in Bezug auf *LGG* zwischen den oberflächenbehandelten Gruppen und der unbehandelten Kontrollgruppe nicht unterscheiden würde.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Übersicht

Einhundert Dentinproben wurden aus Rinderzähnen gewonnen, die über zwei Tage demineralisiert und anschließend über 24 Stunden mit *LGG* inkubiert wurden (Abbildung 3.1). Vier Gruppen zu je 25 randomisiert aufgeteilten Proben wurden gebildet. Zwei dieser Gruppen wurden mit SDF beziehungsweise CHX-Lack behandelt, die anderen zwei Gruppen (NaF- und Kontrollgruppe) blieben unbehandelt. Einen Überblick über die verwendeten Substanzen bietet Tabelle 3.1. Abbildung 3.2 verdeutlicht die Aufteilung der Probenoberflächen aller Gruppen.

Die SDF, CHX und NaF-Gruppen wurden daraufhin über sechs Tage kariogenen Bedingungen im Biofilmmodell ausgesetzt. Zusätzlich erfolgte einmal täglich eine Spülung mit 500 ppm NaF, um die tägliche Fluoridzufuhr aus Zahnpasta zu simulieren. Die Kontrollgruppe wurde den gleichen kariogenen Bedingungen ausgesetzt, erhielt aber keine NaF-Spülung. Über das Mundmodell erhielten die Proben im Wechsel künstlichen Speichel und de Man, Rogosa und Sharpe (MRS) – Medium, welches zusätzlich mit 1 % Saccharose versetzt wurde (MRS+S). Zur Auswertung wurde neben der Anzahl koloniebildenden Einheiten über transversale Mikroradiographie (TMR) Läsionstiefe und Mineralverlust bestimmt.

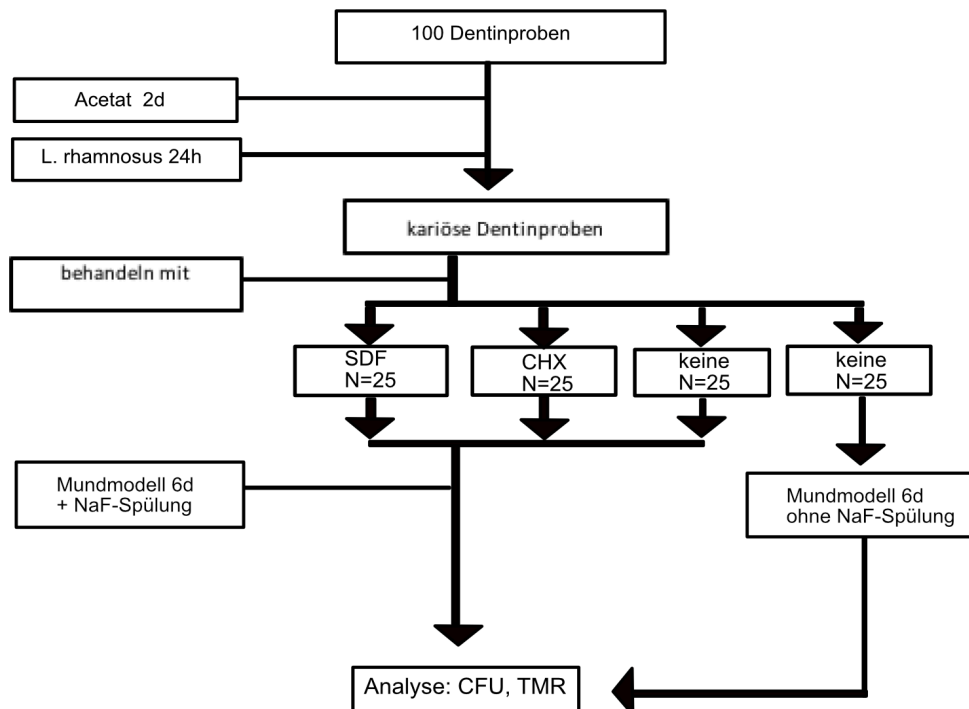


Abbildung 3.1: Ablauf des Hauptversuchs.

Tabelle 3.1: verwendete Substanzen

| Gruppe | Produktname | Hersteller | Zusammensetzung |
|-------------------|-------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1. SDF | Riva Star | SDI Baywater, Australien | Silber, Fluorid (5-6 %), Ammoniak, Kalium, Jod, Methacrylate |
| 2. CHX | EC40 | Biodent Nijmegen, Niederlande | Chlorhexidinacetat (35 %), Ethanol, Sandarak |
| 3. NaF | | Charité Apotheke, Deutschland | 500 ppm NaF, Aqua dest. |
| 4. Kontrollgruppe | | | |

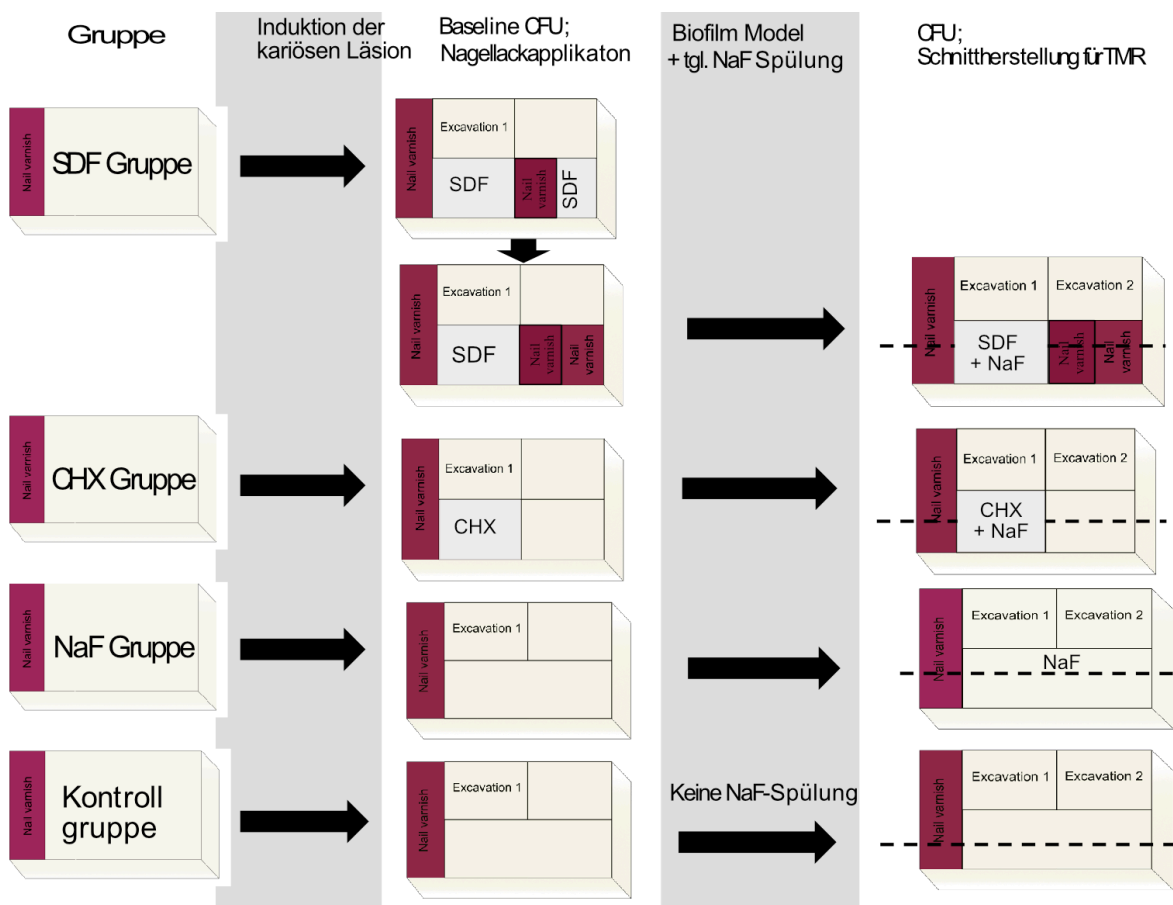


Abbildung 3.2: Grafische Darstellung der Aufteilung der Probenflächen über die Dauer des Versuchs bis zur Auswertung.

3.2 Herstellung der Probenblöcke

Zur Herstellung der Probenblöcke wurden aufgrund der Ähnlichkeit zu humanen Zähnen 30 frisch extrahierte Unterkieferfrontzähne von Rindern (Schlachthof Perleberg, Perleberg, Deutschland) als Ausgangsmaterial verwendet. Bis zur Verwendung wurden diese in 0,5 % Chloramin T-Lösung bei 4 °C gelagert.

Nach ultraschall-unterstützter Entfernung des Desmodonts wurden die Kronen entfernt (Bandsäge Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland). Aus den Wurzeln wurden einhundert Probenblöcke (5x3x2 mm) gesägt, die pulpaabgewandte Seite poliert (LaboPol 25, Struers, Ballerup, Denmark/ Willich, Germany; Schleifpapier SiC P1000-4000, Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und mit Bleistift schraffiert.

Je 25 Proben wurden mithilfe einer Silikonform in Methylmethacrylat (Technovit 4071, Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Die Blöcke wurden erneut poliert (LaboPol 25, Struers, Ballerup, Dänemark; Schleifpapier P4000), bis die Schraffierungen auf den Dentinproben vollständig entfernt waren, um eine kunststofffreie Oberfläche zu gewährleisten. Im Anschluss wurden die Unterseiten der Probenblöcke auf eine Höhe von 4 mm reduziert (Schleifpapier P800). Der zentrale Anteil der Blöcke wurde mit Hilfe eines individuell geformten Blockes aus 2 mm hoher Elastomere-Abformbasismasse (Silaplast futur, Detax, Ettlingen, Deutschland) abgedeckt, sodass am Rand des Blockes eine 2 mm breite Fläche freiblieb. Nach erneutem Einsetzen der Proben in die Silikonform und Applikation von Methylmethacrylat wurde eine Reling um die Proben (2x2 mm) hergestellt.

Zur Erzeugung einer Kontrollfläche wurde eine 4x3 mm große Fläche der Proben mit Adhäsionsfolie (Toppits Frischhaltefolie, Cofresco, Minden, Deutschland) abgedeckt und die verbliebene Fläche (1x3 mm) mit Nagellack (Rival de Loop, Berlin, Deutschland) beschichtet (Abbildung 3.3). Nach dem Trocknen des Nagellacks wurde die Adhäsionsfolie entfernt.

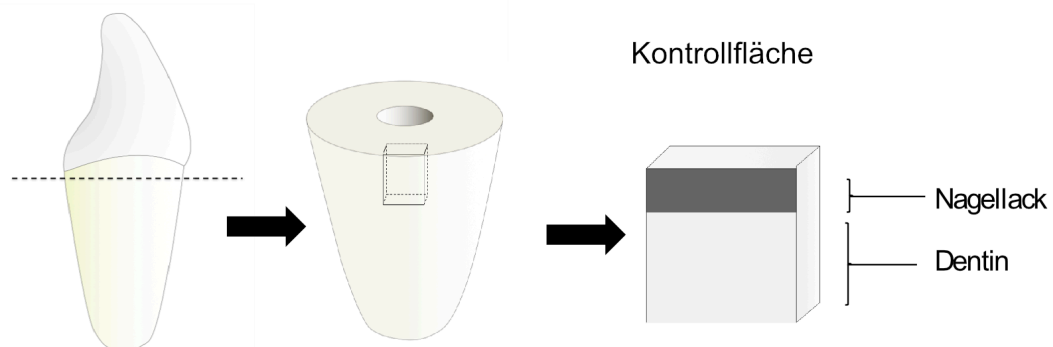


Abbildung 3.3: Herstellung der Probenblöcke.

Zur Erzeugung der Kariesläsionen wurden die Proben in Buskes Lösung (88) (50 mM Essigsäure, 3 mM $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$, 3 mM KH_2PO_2 , 6 mM Methylhydroxydiphosphonat; pH 5,0) bei 37 °C über 48 h gelagert (Festlegung der Zeiten in Vorversuchen, s. Anhang 10.2.1). Nach 24 Stunden wurde der pH-Wert kontrolliert und ggf. angepasst.

3.3 Vorbereitung des Silberdiaminfluorid-Probenblocks

Aufgrund möglicher verfälschender Überlagerungen durch die Röntgenopazität der im SDF enthaltenen Silberpartikel auf den TMR-Aufnahmen wurde zur späteren Korrektur der Werte aus der mikroradiographischen Analyse des Mineralverlustes diese Gruppe speziell vorbehandelt (Abbildung 3.2, Seite 28): Bei allen Probenoberflächen dieser Gruppe wurde nach der Erzeugung der initialen Kariesläsionen eine 2x1 mm große Fläche mit Nagellack abgedeckt. Eine weitere Fläche von 2x1 mm wurde mit SDF (Riva Star, SDI, Baywater, Australien) behandelt und ebenfalls mit Nagellack abgedeckt. Durch diese Behandlung war neben dem später dem Mundmodell exponierten Bereich zusätzlich die Situation nach initialer Demineralisierung sowie nach Demineralisierung und dem Auftragen von Silberdiaminfluorid für die spätere Auswertung verfügbar.

3.4 Bakterieninkubation

3.4.1 Aufbau der Inkubationskammer

Alle Probenblöcke wurden in je einer Box (Quality Pipette Tips ohne Inhalt, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland; Maße: 26,8 cm x 43,8 cm x 15,5 cm) mit doppelseitigem Klebeband auf einem Flaschendeckel (Schott GL 45 Schraubverschluss, DURAN Group GmbH, Wertheim/Main, Deutschland) fixiert, der mittig auf dem Boden der Boxen platziert war. In die abnehmbaren Deckel der Boxen wurden zentral je zwei Löcher mit 4 mm Durchmesser gebohrt, randständig in einer Ecke des Deckels ein weiteres 4 mm messendes Loch.

In eine der zentralen sowie in die randständige Öffnung wurde je ein 0,5 m langer Schlauch mit 4 mm Durchmesser (Silicone tubing, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) geführt, sodass dieser bei den mittleren Löchern als Zulauf ca. 1 cm in die Box, und bei den äußeren Löchern als Ablauf bis an den Boden des Boxinneren reichte. Am Durchtritt der Schläuche durch die Deckel wurde zirkulär Sekundenkleber (UHU dent, UHU GmbH, Bühl (Baden), Deutschland) aufgetragen, um ein Verrutschen der Schläuche zu verhindern.

Pro Box wurde das freie Ende der zentral angebrachten Schläuche mit einer Multikanalpumpe verbunden (ISMATEC Pumpe: MS/CA, ISMATEC, Wertheim, Deutschland, ISMATEC Pumpenkopf: CA 8-6, IDEX Health & Science GmbH, Wertheim, Deutschland). An diese schlossen sich weitere 0,5 m lange Schläuche mit 4 mm Durchmesser an.

An einer 1-Liter-Flasche (Schott GL 45, DURAN Group GmbH, Wertheim/Main, Deutschland) wurde am Deckel ein Loch mit 16 mm Durchmesser gebohrt durch welches die Schlauchenden der Pumpe geführt wurden bis diese den Flaschenboden erreichten (Aufbau s. Abbildung 3.4). Alle in einer Flasche mündenden Schläuche wurden an deren Ende mit Hilfe eines .016 x .022 KFO-Drahtes miteinander verbunden (06Cr19Ni10 Edelstahl).

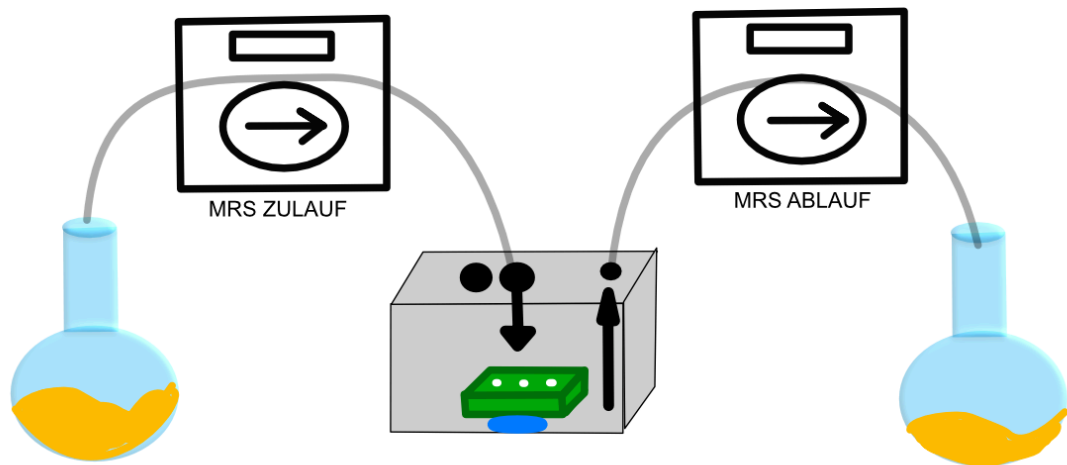


Abbildung 3.4: Grafischer Aufbau der Inkubationskammer.

Jede Box mit dem darin fixierten Probenblock und den jeweiligen Schläuchen wurde sterilisiert (121°C, 2,1 Bar, 20 min, Tuttnauer 3870 ELV, Biomedis, Gießen, Deutschland). Nach Ablauf der Sterilisation wurde Zu- und Ablauf des MRS+S -Mediums (s. Abschnitt Medien 10.1) an die Proben-Boxen angeschlossen. Die verbliebene zentrale Öffnung wurde mit Klebeband abgedichtet und diente als Durchtritt der Applikation von *LGG*.

3.4.2 Ablauf der Bakterieninkubation

LGG wurde auf MRS-Agar ausplattiert und über 48 h in einem Brutschrank (Precision Kühlbrutschrank, Thermofischer Scientific, Waltham, Massachusetts, Vereinigte Staaten) bei 37 °C gelagert. Im Anschluss wurden alle zwei Tage 100 ml MRS+S -Medium mit der *LGG* Bakterienkultur überimpft und über weitere 24 h in dem Brutschrank gelagert.

Vor dem ersten Pumpdurchlauf mit MRS+S -Bouillon wurde mit Hilfe einer Pipette jeder Probenblock mit 10 ml der *LGG*-MRS+S -Bouillon infiziert. Danach schloss sich mit fünfminütigem Versatz der erste reguläre Pumpdurchlauf an. Die Multikanalpumpe für die Bakterieninkubation wurde wie folgt programmiert: auf jeden Durchlauf MRS+S -Bouillon mit einer Pumpdauer von 3 Minuten und einem Gesamtdurchfluss von 17,4 ml folgte eine Pause von 120 Minuten (Abbildung 3.5).

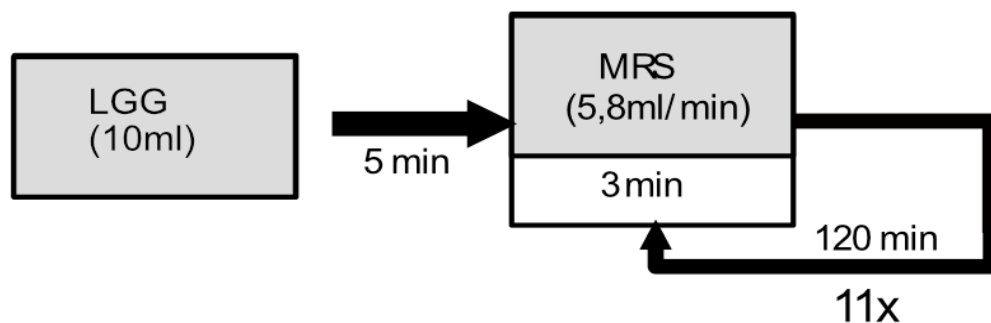


Abbildung 3.5: Ablauf der Bakterieninkubation.

Nach insgesamt 24 Stunden und somit 11 Durchläufen war die Inkubation beendet, der Biofilm auf den Probenoberflächen wurde mit Hilfe eines sterilen Skalpells (Aesculap Sicherheitsskalpell, Aesculap, Deutschland) abgetragen (Festlegung der Zeiten in Vorversuchen, s. Anhang 10.2.1). Nach der Exkavation des Probenbereichs für die Ermittlung koloniebildenden Einheiten (KBE) der Kariesläsionen in der Ausgangssituation (T_0 -KBE) (s. Methoden: 3.7.1 Berechnung der KBE) wurde der jeweilige Dentinbereich mit Nagellack abgedeckt. Es folgte die individuelle Behandlung der Probenblöcke mit den unterschiedlichen Versuchssubstanzen.

3.5 Behandlung der Probenoberflächen

Die Proben wurden in Gruppen zu je 25 Proben aufgeteilt und wie folgt weiterbehandelt:

Das SDF wurde nach Herstellerangaben aufgetragen. Mithilfe des silberfarbenen Applikators wurde die silberfarbene Kapsel mit Silberdiaminfluorid geöffnet und dieses auf das Dentin appliziert. Sofort danach wurde mit dem grünen Applikator die grüne Kapsel geöffnet und Kaliumiodid Flüssigkeit auf das Dentin appliziert, sodass die Farbe der behandelten Dentinoberfläche von weißlich-cremig zu durchsichtig wechselte. CHX wurde mit Hilfe steriler Applikationstips über 3 Minuten aufgetragen. Anschließend wurde die oberflächliche Schicht mit sterilen Skalpellens vorsichtig abgetragen. Zur Simulation des Abtrages von CHX-Lack durch Mundhygiene und Mastikation wurden die Proben über 10 Minuten mit Aqua dest. 37 °C abgespült.

3.6 Mundmodellphase

Die Proben wurden in der Mundmodellphase über 6 Tage im Wechsel mit MRS+S –Medium und künstlichem Speichel gespült. Der Aufbau des Mundmodells entsprach dabei dem Aufbau des Modells zur Bakterieninkubation. Die Probenblöcke wurden analog zur Bakterieninkubation in den sterilen Pipettenboxen auf Flaschendeckeln befestigt. Zusätzlich wurden alle Deckel der Probenboxen um ein weiteres 4 mm großes Loch ergänzt. Dieses befand sich mittig, unmittelbar neben dem MRS+S -Zulauf, und diente dem DMM-Zulauf.

Neben der bereits verwendeten Multikanalpumpe für MRS+S -Medium wurde eine zweite Multikanalpumpe gleichen Typs für den Zulauf von DMM (s. Medien: 10.1) verwendet (grafischer Aufbau Mundmodell s. Abbildung 3.6, realer Aufbau s. Abbildung 3.7).

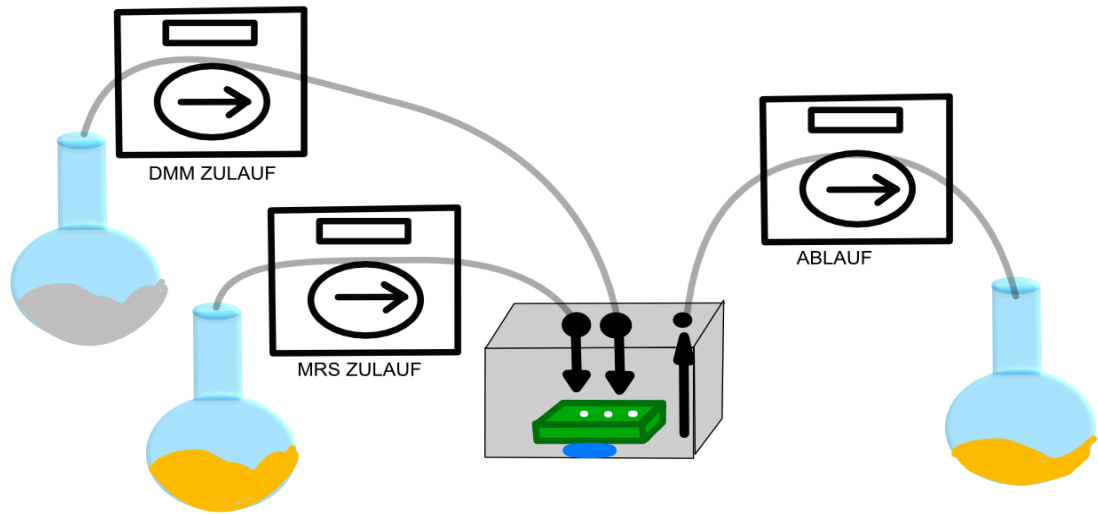


Abbildung 3.6: Grafischer Aufbau der Mundmodelle.



Abbildung 3.7: Mundmodell Kontrollgruppe.

Die Pumpen wurden wie folgt programmiert:

MRS+S -Bouillon wurde mit einer Fließrate von 1 ml/min über 15 Minuten appliziert. 10 Minuten nach Beendigung des MRS+S -Durchlaufs wurden die Proben mit DMM weiterbehandelt, welches ebenfalls mit einer Fließrate von 1 ml/min über 15 Minuten appliziert wurde. Dieser Ablauf wurde sechsmal wiederholt. Zwischen den jeweiligen Durchgängen wurde eine Pause von 180 Minuten eingehalten. Als letzte Spülung vor den Nachtpausen von 6 Stunden wurde, außer bei der Kontrollgruppe, direkt nach der letzten DMM-Spülung 8,5 ml NaF-Spülung über 5 Minuten mit einer Pipette appliziert, direkt gefolgt von einer weiteren Spülung mit DMM. Nach jeder Nachtpause wurden die Probenblöcke mit 5 ml *LGG*-MRS+S -Medium überimpft. 15 Minuten später begannen der tägliche Zyklus mit abwechselnden MRS+S- und DMM-Spülungen erneut. Insgesamt wurde dieser Ablauf über 6 Tage wiederholt (Abbildung 3.8). Die Dauer der Mundmodellphase wurde in Vorversuchen bestimmt (s. Anhang 10.2.1).

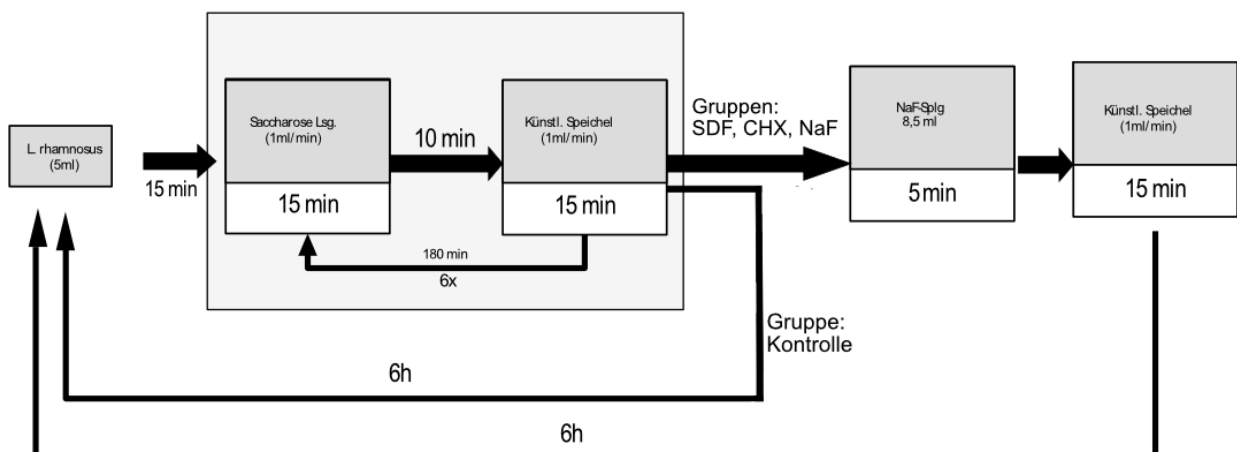


Abbildung 3.8: Ablauf der Mundmodellphase aller Gruppen.

3.7 Analysemethoden

3.7.1 Berechnung der koloniebildenden Einheiten

Nach der initialen Erzeugung der Kariesläsionen (T_0) sowie nach der Mundmodellphase (T_1) wurde die bakterielle Infektion des Dentins bestimmt. Nach dem Abtragen des Biofilms mithilfe steriler Skalpelle wurde mit sterilen Rosenbohrern (1,4 mm; schmaler Schaft, Hager & Meisinger, Neuss, Deutschland) zur KBE Berechnung (vgl. Abbildung 3.2,) kariöses Dentin exkaviert. Das Nettogewicht des exkavierten Dentins wurde in einer Präzisionswaage (Analytical Plus, Ohaus, Nänikon, Schweiz) bestimmt, in 1 ml 0,9-%iger NaCl-Lösung gelöst und im Vortexer (Vortex Genie 2, BENDER & HOBEIN, Zürich, Schweiz) vermischt. Von der Lösung wurden in Folge 100 μ l abpipettiert und zu 900 μ l 0,9-%iger NaCl-Lösung gegeben, was zu einer Verdünnung von 10^{-1} führte. Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis Verdünnungen von 10^{-3} , 10^{-5} und 10^{-7} erreicht waren. MRS-Agarplatten (s. Medien 10.1) wurden mit je 100 μ l jeder Verdünnung beimpft. Die Agarplatten wurden bei 37 °C und 5 % CO_2 (CO_2 Begasungsbrutschrank, Heaeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) kultiviert. Nach 48 Stunden wurden die koloniebildenden Einheiten mithilfe eines Stiftes (Edding 404, Edding AG, Ahrensburg, Deutschland) zur Markierung der bereits berücksichtigten Kolonien manuell gezählt und pro μ g Dentin (KBE/ μ g) berechnet. Abbildung 3.9 zeigt exemplarisch die ausplattierten Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-5} und 10^{-7} aus der CHX-Gruppe.

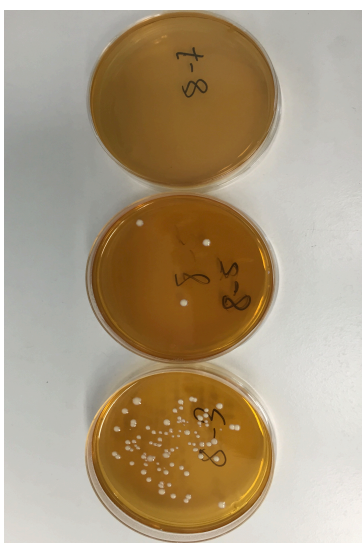


Abbildung 3.9: die Verdünnungen 10^{-3} , 10^{-5} und 10^{-7} in der CHX-Gruppe (unten, mitte, oben).

3.7.2 Herstellung von Zahnschliffen, Herstellung von mikroradiographischen Aufnahmen

Die TMR-Analyse der Proben erforderte die Herstellung von 100 µm breiten Zahnschliffen (s. Abbildung 3.2, Seite 28). Dazu wurden die Probenoberflächen zunächst mit einem lichthärtenden Kunststoff (ICON-Infiltrant, Acrylatharz, DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburg, Deutschland) abgedeckt, um die zu untersuchende Oberfläche zu schützen. Unter Wasserkühlung wurde jede Probe senkrecht zur Oberfläche in Quader (200-300 µm) gesägt (Bandsäge Exakt 300cl), sodass sowohl die jeweiligen Kontrollbereiche sowie die dem Mundmodell exponierten Anteile der Probe messbar waren. Dabei wurde eine Vorschubkraft von 100 g eingestellt.

Anschließend wurden die Proben auf eine Dicke von 100 µm geschliffen (Exakt Mikroschleifsystem 400CS, Exakt Apparatebau, Körnung 1200, 2400; Politur: Körnung 4000). Die Überprüfung der Dicke erfolgte mithilfe eines digitalen Mikrometers (Mikrometerschraube, Mitutoyo, Neuss, Deutschland). Das Herauslösen der Proben aus den Probenblöcken erfolgte mit einem Skalpell.

Jede Probe wurde mit Pflasterrollen (3M Micropore Pflaster) auf Halterungen fixiert, welche die Befestigung an der Kamera (modifiziertes Leitz-Gehäuse, Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande; Kamera s. Abbildung 3.10) der Röntgenröhre (Feinstruktur-Feinfokus-Röntgenröhre (FF), Type: PW 2213/20, Fa. Panalytical, Kassel, Deutschland) ermöglichten. Um Austrocknungen zu vermeiden, wurden die Proben feucht gelagert und mit 99 % Ethylen-Glykol (Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland) benetzt.

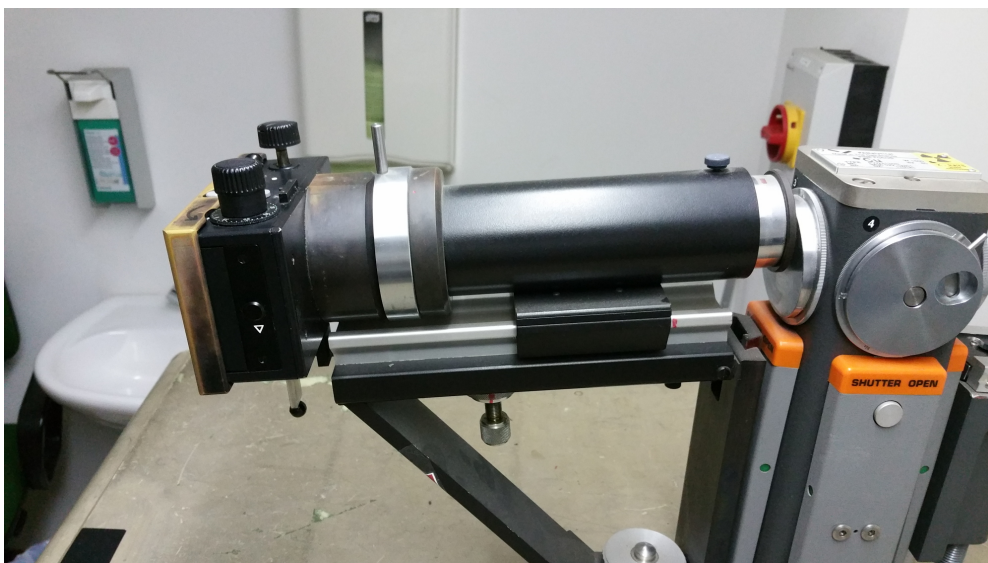


Abbildung 3.10: Röntgenröhre mit daran befestigter TMR-Kamera.

Die Röntgenröhre war an einen Röntgeneratore (Röntgenstrahlgenerator PW 1730/10, Philips, Eindhoven, Niederlande) gekoppelt. Die Aufnahmen wurden auf einem Film (Fine 71337, Fujifilm, Tokyo, Japan) gespeichert, der zunächst in einer lichtundurchlässigen Kassette aufgespult wurde und dann in der Kamera befestigt wurde.

Ein Schlitten, der 5 Probenhalter aufnehmen konnte, diente sowohl zur exakten Ausrichtung der Proben zum Röntgenstrahl als auch zum Wechsel der Proben, ohne den Film zu belichten. Nachdem sowohl Film wie auch Probenschlitten mit den Proben in der Kamera montiert waren, wurde für jede Probe ein mikroradiographisches Bild erstellt. Die Emittierung der Röntgenstrahlen erfolgte dabei durch eine Kupferanode, eine Nickelfilterung war nachgeschaltet. Es wurde ein Röntgenstrom von 10 mA, eine Röhrenspannung von 20 kV und eine Auslösezeit von 10 Sekunden verwendet. Die Entwicklung der Filme erfolgte nach Herstellerangaben.

Zur Untersuchung der Filme wurden diese mit einem Universalmikroskop bei 10-facher Vergrößerung (Durchlichtmikroskop 60318, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) mit einer angeschlossenen Videokamera (CCD-video camera module XC77 CE, Sony, Tokyo) und einem Computerprogramm (TMR für Windows, Version 2.0.27.2, Inspektor Research, Amsterdam, Niederlande) analysiert. Dazu musste von jeder Probe am Mikroskop zunächst der Bereich der Probenoberfläche gefunden werden, an dem sowohl der Referenzbereich als auch der demineralisierte, dem Mundmodell exponierte Bereich zu erkennen war. War ein Einbruch der Probenoberfläche zu erkennen, musste mithilfe eines Bildverarbeitungsprogramms (Paint, Microsoft Corp., Redmond, Vereinigte Staaten) eine schmale weiße Linie an die Stelle der ursprünglichen Probenoberfläche interpoliert werden. Das TMR- Computerprogramm erlaubte durch die Analyse der Grauwertmessung der Proben eine Aussage über die Läsionstiefen (LD) in μm und den Mineralverlust (ΔZ) in $\text{vol.}\% \times \mu\text{m}$. Die Läsionstiefe wurde als die Tiefe definiert, bei der der Mineralgehalt der Läsion 95 % des nicht demineralisierten Referenzbereichs betrug. ΔZ beschreibt den Unterschied zwischen der Mineralkonzentration des nicht demineralisierten Bereiches und der in der Probe vorliegenden Mineralkonzentration (Abbildung 3.11).

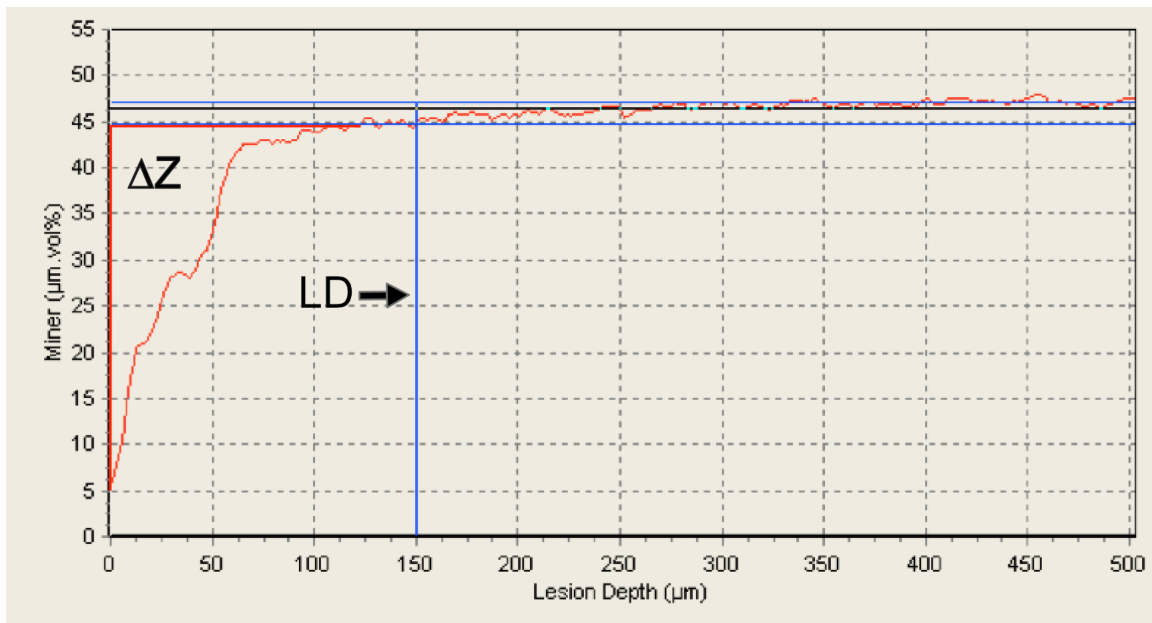


Abbildung 3.11: Grafische Darstellung der Bestimmung von ΔZ (in Rot eingefasster Bereich) und der LD.

3.7.3 Sonderfall Silberdiaminfluorid bei der mikroradiographischen Analyse

Da in Vorversuchen mithilfe energiedispersiver Röntgenanalyse nach der Applikation von Silberdiaminfluorid auf Dentin Silberpartikel in den Proben nachgewiesen werden konnten, die aufgrund ihrer Röntgenopazität die Ergebnisse der TMR-Analyse hätten verfälschen können, wurde in der SDF-Gruppe der Mineralverlust modifiziert berechnet (Bilder und die genauen Auswertungsergebnisse finden sich im Anhang (s. Kapitel 10.2.2)). Aufgrund der Vorbehandlung der SDF-Proben (s. Kapitel 3.3) waren neben dem Kontrollbereich und dem Mundmodell exponierten Bereiches zwei weitere Flächen vorhanden: Zustand nach initialer Demineralisierung (ΔZ_0) sowie nach Demineralisierung und dem Auftragen von Silberdiaminfluorid (ΔZ_{SDF}). Bei der Auswertung der mikroradiographischen Ergebnisse wurde die Differenz des Mineralverlustes zwischen diesen beiden zusätzlichen Bereichen gebildet und zu dem errechneten Mineralverlust ($\Delta Z_{\text{SDF-unkorrigiert}}$) addiert (Abbildung 3.12).

$$\Delta Z_{\text{SDF-korrigiert}} = \Delta Z_{\text{SDF-unkorrigiert}} + (\Delta Z_{\text{SDF}} - \Delta Z_0)$$

Abbildung 3.12: Formel zur Berechnung des korrigierten ΔZ in der SDF-Gruppe.

3.8 Statistische Analyse

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS 22 (IBM, Armonk, USA) verwendet. Zunächst wurden mithilfe des Shapiro-Wilk Tests die Ergebnisse auf Normalverteilung geprüft. Unterschiede in ΔZ , LD und KBE zwischen den Gruppen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis und Mann-Whitney U-Tests mit Bonferroni Korrektur analysiert. Das Signifikanzniveau wurde bei $p=0,05$ festgelegt.

4 ERGEBNISSE

4.1 Mineralverlust

Während der Herstellung der Dünnschliffe gingen insgesamt 9 Proben verloren: 5 Proben aus der Kontrollgruppe, 3 Proben aus der Gruppe der Natriumfluoridspülung sowie eine Probe aus der SDF-Gruppe. Aufgeführt werden für die Gruppe SDF sowohl die Werte vor (SDF unkorrigiert) und nach Anwendung des Korrekturfaktors [(SDF korrigiert) (Tabelle 4.1, Abbildung 4.1)]. Bezüglich des Mineralverlustes ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,001$ Kruskal-Wallis), daher wurde die Nullhypothese verworfen. Zwischen den Werten der Kontrollgruppe, NaF und SDF korrigiert konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden ($p > 0,05$). Die Anwendung der Originalwerte von SDF führte zu einem signifikant geringeren Mineralverlust im Vergleich zu der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). CHX führte im Vergleich mit allen Gruppen zu den geringsten Mineralverlusten ($p < 0,05$).

Tabelle 4.1: Mineralverlust ΔZ bei T_1 [Median (Q25/ Q75)]

| Gruppe | ΔZ (in vol.% μm) [Median (Q25/ Q75)] |
|---------------------|----------------------------------------------------------|
| 1. SDF unkorrigiert | 5733 (4822/6911) |
| 2. SDF korrigiert | 7344 (6401/9152) |
| 3. CHX | 3385 (2447/4496) |
| 4. NaF | 6704 (4921/10200) |
| 5. Kontrolle | 9082 (7860/9782) |

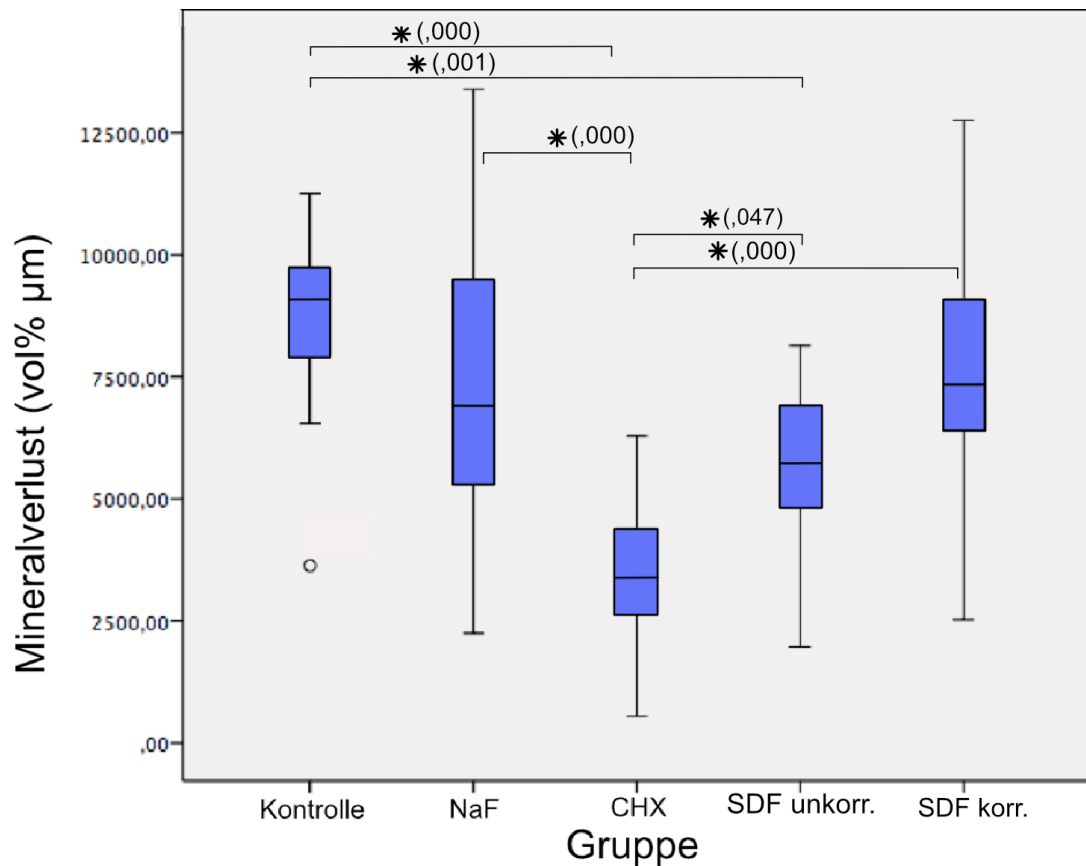


Abbildung 4.1: Box-and-whiskers-plots zur Darstellung des Mineralverlustes bei T₁ mit den jeweiligen Quartilen und Medianwerten. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mit Sternen gekennzeichnet ($p \leq 0,05$ *), die Signifikanzen der paarweisen Vergleiche sind in Klammern angegeben.

4.2 Läsionstiefe

Die Medianwerte der Läsionstiefen von SDF und NaF waren nahezu identisch. Die Kontrollgruppe zeigte im Mittel die höchsten Läsionstiefen, in der CHX-Gruppe wurden die geringsten Läsionstiefen ermittelt (Tabelle 4.2, Abbildung 4.2). Zwischen den Werten der Gruppen CHX, NaF und SDF konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden ($p > 0,05$). CHX hatte nur im Vergleich mit der Kontrollgruppe eine signifikant geringere Läsionstiefe ($p < 0,05$). Zwischen der Kontrollgruppe und den weiteren Gruppen lag kein signifikanter Unterschied vor ($p > 0,05$).

Tabelle 4.2: TMR-Läsionstiefe bei T₁ [Median (Q25/ Q75)]

| Gruppe | Läsionstiefe (in μm) [Median (Q25/ Q75)] |
|-----------|------------------------------------------------------|
| SDF | 287 (240/318) |
| CHX | 164 (125/337) |
| NaF | 285 (185/336) |
| Kontrolle | 328 (282/364) |

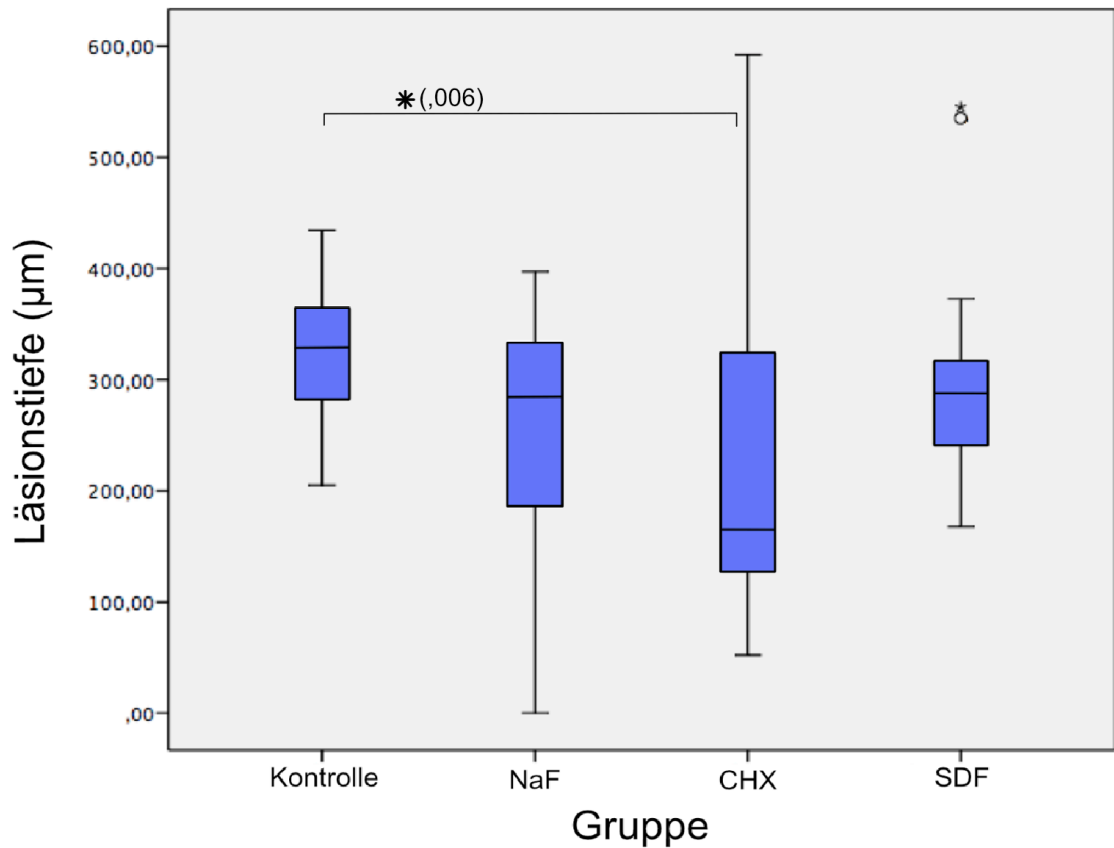


Abbildung 4.2: Box-and-whiskers-plots Darstellung der Läsionstiefen-Werte mit den jeweiligen Quartilen und Medianwerten. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mit Sternen gekennzeichnet ($p \leq 0,05$ *), die Signifikanzen der paarweisen Vergleiche sind in Klammern angegeben.

4.3 Koloniebildende Einheiten T_0

Bis auf einen Wert aus der CHX-Gruppe wurden alle übrigen Werte bei der Verdünnung 10^{-5} bestimmt. Der einzelne Wert aus der Gruppe CHX wurde bei der Verdünnung 10^{-7} erfasst. Die Medianwerte der Gruppen bewegten sich zwischen 929 kBE/ μg und 1721 KBE/ μg . Ausreißerwerte von $\geq 1,5$ Boxenlängen finden sich in den Gruppen NaF, CHX und SDF. Ausreißerwerte von ≥ 3 Boxenlängen finden sich in der Kontroll- und CHX-Gruppe (Abbildung 4.3). Bei der bakteriellen Kontamination zum Zeitpunkt T_0 gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ($p=0,674$ Kruskal-Wallis).

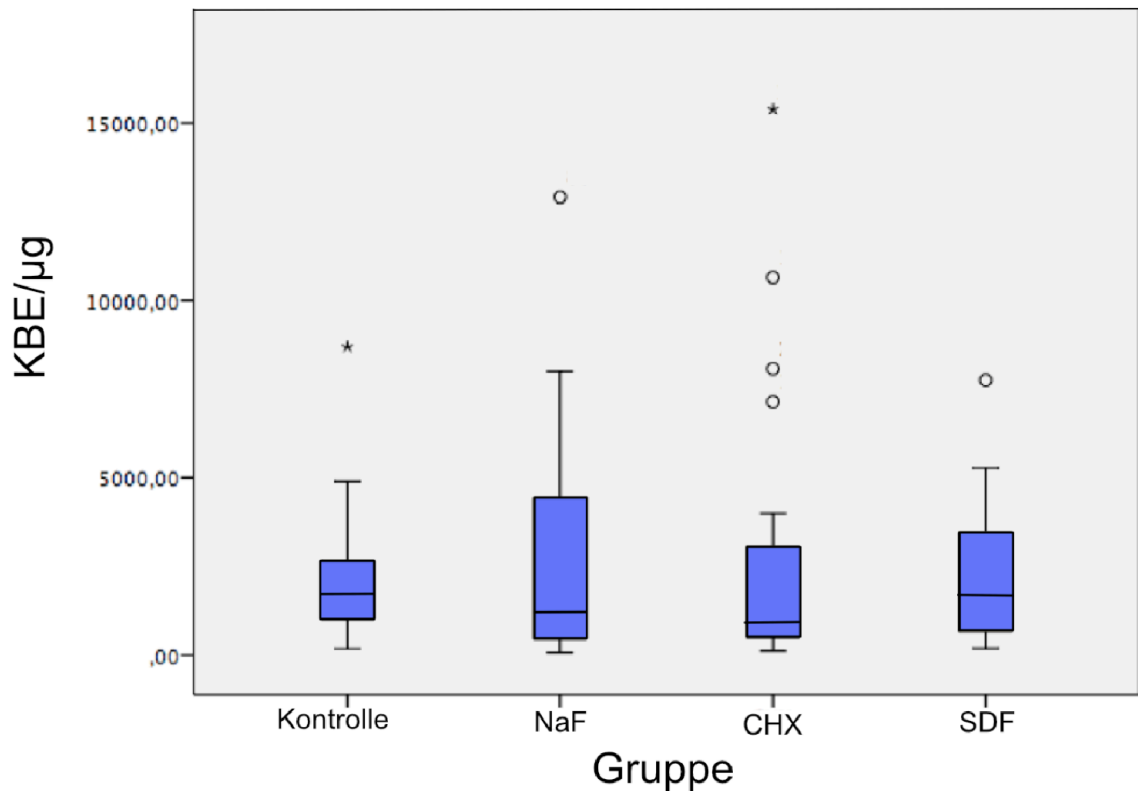


Abbildung 4.3: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T_0 . Gezeigt werden das obere/untere Quartil als vertikale Begrenzung der blauen Boxen, der durch einen Strich im Inneren der Box dargestellte Medianwert, sowie die Minimum- und Maximumwerte als Whisker. Ausreißerwerte von $\geq 1,5$ Boxenlängen sind durch ein o, Ausreißerwerte von ≥ 3 Boxenlängen sind durch ein * gekennzeichnet.

4.4 Koloniebildende Einheiten T_1

Die Auswertung der bakteriellen Kontamination T_1 ergab eine signifikant unterschiedliche Verteilung zwischen den Gruppen (Tabelle 4.3, Abbildung 4.4). Keinen signifikanten Unterschied gab es zwischen den Werten der Gruppen mit täglicher NaF-Spülung und der Kontrollgruppe. SDF zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe eine Reduktion der koloniebildenden Einheiten, nicht jedoch gegenüber NaF. CHX zeigte eine Reduktion im Vergleich zu allen Gruppen ($p < 0,05$). Aufgrund der signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen wurde die Nullhypothese verworfen. Abbildung 4.5 zeigt eine Gegenüberstellung der bakteriellen Kontamination von Zeitpunkt T_0 zu T_1 .

Tabelle 4.3: bakterielle Kontamination in KBE [Median (Q25/ Q75)] bei T₁, sowie prozentuelle Reduktion der KBE gegenüber den Werten bei T₀

| Gruppe | Bakterienkontamination (in KBE/μg) [Median (Q25/ Q75)] | Reduktion gegenüber KBE T ₀ [%] |
|-----------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| SDF | 360 (136/1166) | 78,6 |
| CHX | 190 (73/517) | 79,5 |
| NaF | 750 (260/1401) | 39,1 |
| Kontrolle | 1451 (875/2633) | 15,7 |

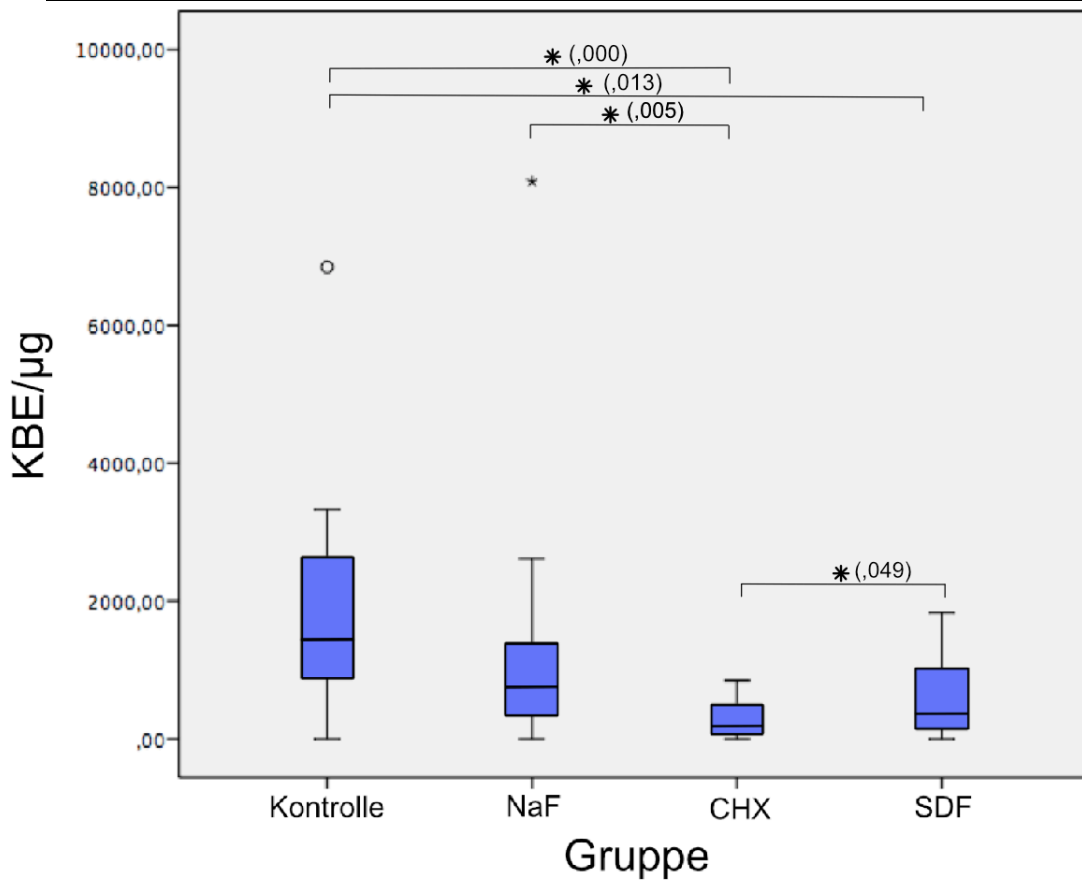


Abbildung 4.4: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T₁ mit den jeweiligen Quartilen und Medianwerten. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mit Sternchen gekennzeichnet ($p \leq 0,05$ *), die Signifikanzen der paarweisen Vergleiche sind in Klammern angegeben.

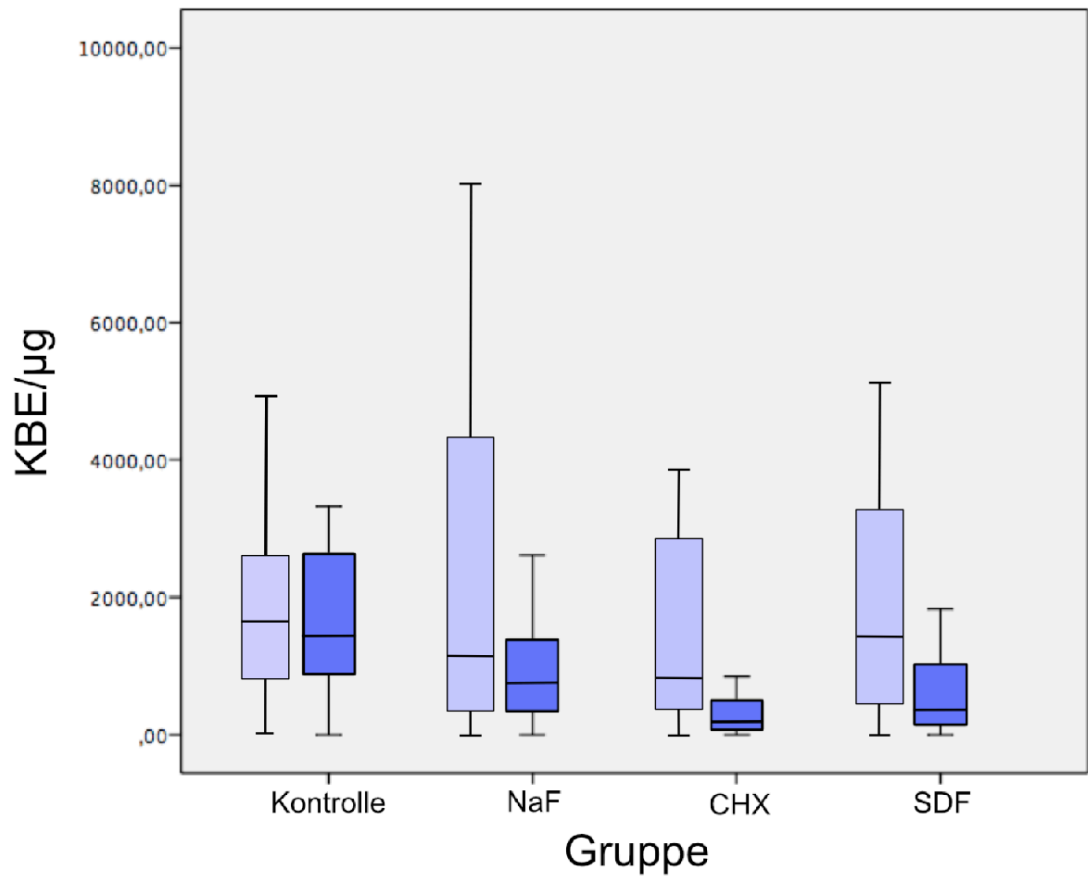


Abbildung 4.5: Box-and-whiskers-plots der KBE bei T₀ (in hellblau dargestellt) in Gegenüberstellung zu T₁ (in dunkelblau dargestellt). Zur Erleichterung der Erkennbarkeit wurde auf die Darstellung der Ausreißerwerte verzichtet.

5 DISKUSSION

Aufgrund des demographischen Wandels hin zu einer alternden Bevölkerung ist zu erwarten, dass die Anzahl pflegebedürftiger Senioren in den meisten Industrieländern in den nächsten Jahren ansteigen wird. Der Erfolg der Präventionsmaßnahmen auf dem Gebiet der Zahnmedizin wird gleichzeitig dazu führen, dass diese Senioren häufig einen Großteil ihrer eigenen Zähne bis in ein hohes Alter erhalten können. Kann die Mundhygiene durch manuelle Einschränkungen der betroffenen Personen nicht mehr adäquat durchgeführt werden, nimmt häufig die Anzahl an Kariesläsionen und dabei vor allem Wurzelkariesläsionen zu. Daher sind einfache Behandlungsstrategien gefordert, die auch von speziell geschultem Personal in Pflegeheimen mit reduziertem zahnärztlichem Equipment durchgeführt werden können. Ziel dieser Studie war der Vergleich von drei non-invasiven Interventionen zur Therapie von Wurzelkaries. Überprüft wurden die beiden Nullhypothesen, dass CHX, SDF und NaF weder einen Einfluss auf die bakterielle Kontamination der Dentinproben, noch auf den Mineralverlust und die Läsionstiefe durch Demineralisation haben.

Die Ergebnisse zeigen, dass die aufgestellten Nullhypothesen zu verwerfen sind. CHX-Lack reduzierte im Vergleich zu allen Gruppen die Anzahl koloniebildender Einheiten und führte zu geringeren Läsionstiefen und Mineralverlusten.

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Versuchsdurchführung

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Wurzelkariesläsionen auf den Zahnwurzeln von bovinen Frontzähnen erzeugt. Die benötigten Probanddimensionen von mindestens 5x3 mm sowie einer Mindesttiefe von 2 mm wären bei der Verwendung von humanen Zähnen nicht realisierbar gewesen. Weitere Vorteile sind die geringen interindividuellen Unterschiede bei Zusammensetzung und Struktur der Rinderzähne, da sich die Rinder des Schlachthofes in Bezug auf das Ernährungsprofil und das Schlachalter sehr ähneln. In Bezug auf Mineralgehalt und die Mineralverteilung, aber auch auf die Anfälligkeit für Demineralisationen unterscheiden sich bovine Zähne in nur geringem Maß von menschlichen Zähnen und waren daher für die vorliegende Studie geeignet (89, 90). Daher kann angenommen werden, dass sich die gefundenen Ergebnisse auch auf menschliche Zähne übertragen lassen.

Um eine verlässliche mikroradiographische Auswertung und vergleichbare Bedingungen auf allen Probenoberflächen zu gewährleisten, mussten die Proben, im Gegensatz zu natürlichen Wurzeloberflächen, eine einheitlich ebene und polierte Oberfläche aufweisen. Im Vergleich zur klinischen Situation weist die polierte Oberfläche geringere Retentionseigenschaften auf, als dies bei natürlichen freiliegenden Wurzeloberflächen der Fall ist. Da jedoch der Biofilm auf den Proben in der vorliegenden Untersuchung nicht entfernt worden ist und somit die gesamte Probenoberfläche gewissermaßen eine retentive Wurzeloberfläche mit hoher Plaqueakkumulation simulierte, sollte der Aspekt der geringeren Retentionseigenschaften bei den polierten Proben eine untergeordnete Rolle gespielt haben.

Eine weitere Einschränkung betrifft die Applikationsart des CHX-Lackes. CHX wurde einmalig aufgetragen, die oberflächliche Schicht des Lackes vorsichtig mit einem Skalpell gelöst, und danach abgespült. Durch die fehlende Simulation natürlicher abrasiver Einflüsse im Biofilmmodell könnte aber dennoch länger Lack auf den Proben vorhanden gewesen sein, als dies klinisch der Fall ist. So führen Mastikation oder Zähneputzen unter klinischen Bedingungen über einen gewissen Zeitraum zu einem vollständigen Abtragen des Lackes aus der Mundhöhle. Zwar war visuell nach der Lackentfernung kein CHX-Lack mehr auf den Probenoberflächen erkennbar, jedoch könnte es durchaus in der Tiefe der Läsionen durch Lackreste zu dem beschriebenen Barriere-Effekt gekommen sein. So gibt unsere Studie Hinweise, dass ein solcher Barriereeffekt für zur Kariesprävention- und Behandlung eingesetzte Lacke existieren könnte. Andererseits ist es auch unter klinischen Bedingungen denkbar, dass in schwer zugänglichen Bereichen applizierte Lacke vor abrasiven Kräften geschützt sind und daher über einen längeren Zeitraum als Barriere für die Substratzufuhr zu kariogenen Mikroorganismen wirken können. CHX zeigte aber auch in In-situ-Studien einen inhibitorischen Effekt auf die Dentindemineralisation, in der Dentinproben an herausnehmbaren Prothesen befestigt, und während des Versuchs Abrasionseffekten wie Mastikation ausgesetzt waren (91, 92). Biofilmmodelle, die aufgrund der Elimination verfälschender Einflüsse die klinische Situation derzeit nur eingeschränkt widerspiegeln (s. Kapitel 2.5; In-vitro-Biofilmmodelle zur Kariessimulation), sollten daher weiterentwickelt werden, um beispielsweise auch den Einfluss von Abrasionseffekten auf aufgetragene Lacke untersuchen zu können.

NaF wird in Studien oft als alleinige kariespräventive Substanz, häufig auch als „Goldstandard“ verwendet und dann mit anderen Substanzen verglichen (93). Nach Kenntnis des Autors sind bislang keine weiteren Studien verfügbar, in denen NaF alleinig und zusätzlich zur Applikation

von CHX und SDF zur Arretierung von Karies untersucht worden ist. In der vorliegenden Studie diente die Fluoridspülung zur Simulation der täglichen Fluoridzufuhr durch Zähneputzen. Daher entspricht die Konzentration einer typischen, freiverkäuflichen Zahnpasta, die in Speichel verdünnt worden ist. Auch in einer anderen Studie wurde eine fast identische Konzentration von 460 ppm verwendet, um den Effekt einer in Speichel verdünnten Zahnpasta zu simulieren (94).

5.1.2 Medien und Kariesmodell

In der vorliegenden Untersuchung wurde als Nährlösung für *LGG* im Mundmodell MRS mit 1 % Saccharosezusatz verwendet. Der 1-%ige Zusatz wurde hinzugegeben, um eine möglichst hohe Menge an verwertbarem Substrat zuzuführen und damit stark kariogene Bedingungen zu erzeugen. Diese Kombination wurde auch in einer anderen Studie für die Kultivierung von *LGG* genutzt (95). Die Probenkörper waren bereits nach der bakteriellen Inkubation zu einem hohen Grad infiziert. Durch die bei der Mundmodellphase sechsmal tägliche Spülung mit MRS+S -Medium erhielten die Bakterien zudem eine besonders ausgeprägte Substratzufuhr, wodurch ein stark kariogenes Milieu erzeugt wurde. Die im Mundmodell simulierten hoch kariogenen Bedingungen wurden so gewählt, um bereits nach einem kurzen Versuchszeitraum verwertbare Ergebnisse zu erhalten. Es ist nicht zu erwarten, dass solche Bedingungen auch regelmäßig klinisch bei den Patienten auftreten. Jedoch ist es möglich, dass zumindest bei pflegebedürftigen Patienten, in Situationen, wenn die Mundhygiene stark vernachlässigt wurde, ähnliche Bedingungen vorherrschen können.

Zur Auswahl stand neben MRS-Medium, das aufgrund seines niedrigen pH-Wertes vor allem für die Kultivierung von Laktobazillen geeignet ist, auch Brain Heart Infusion (BHI). Diese weist jedoch den Nachteil auf, durch ihren höheren pH-Wert (MRS ca. pH 5,4 vs. BHI ca. pH 7,4) auch anderen Bakterienstämmen ein ideales Nährstoffsubstrat zu bieten. Bei Verunreinigungen hätten sich daher Fremdbakterien im Mundmodell leichter vermehren können, die unter Umständen das Wachstum von *LGG* beeinflusst hätten und damit die Ergebnisse der Untersuchung hätten verfälschen können.

Im Rahmen der Vorversuche wurde eine Dauer der Lagerung in Demineralisationslösung (s. Kapitel 3.2) mit anschließender Bakterieninkubation festgelegt, bei der zwar Kariesläsionen erzeugt wurden, deren Probenoberfläche jedoch nicht eingebrochen war (s. 10.2.1 Zeiten). Das

Ziel war es, ausgeprägte und infizierte Kariesläsionen zu erhalten, die jedoch alle eine einheitlich ebene und, je nach Versuchsgruppe, behandelbare Oberfläche aufweisen sollten. Unter klinischen Bedingungen ist es durchaus denkbar, dass kariespräventive Substanzen auch auf eingebrochene Läsionen appliziert werden.

In dieser Studie wurde ein Biofilmmodell mit einer *LGG*-Monokultur verwendet. Die Laktobazillen erzeugten in dieser Studie stark kariogene Bedingungen. Diese Eigenschaft von *LGG* wurde auch in einer anderen Studie beschrieben (96). Eine weitere In-vitro-Studie hat gezeigt, dass sich Laktobazillen gut zur Erzeugung von Karies unter In-vitro-Bedingungen eignen (97). Laktobazillen sind in Kariesläsionen und vor allem in Wurzelkariesläsionen häufig zu finden (98, 99). Im Gegensatz zu dem in der vorliegenden Studie verwendeten Monospezies-Biofilm sind dentale Biofilme in der klinischen Situation deutlich komplexer aufgebaut. Eine Simulation der komplexen Mikroflora der Mundhöhle ist unter In-vitro-Bedingungen jedoch bisher nicht möglich. Da die Zusammensetzung der Biofilme auch zwischen verschiedenen Individuen variiert, unterliegen auch Untersuchungen an klinisch vorhandenen Biofilmen, zum Beispiel im Rahmen von In-situ-Untersuchungen, Limitationen in Bezug auf die Generalisierbarkeit der Ergebnisse (99, 100).

5.1.3 Methodik der Analyse

In der vorliegenden Studie wurde die Bakterienzahl der Läsionen über die Bestimmung der koloniebildenden Einheiten (KBE) nach Kultivierung von *LGG* aus dem infizierten Dentin auf MRS-Agar ermittelt. Die Bestimmung der KBE ist ein etabliertes Verfahren zur Bestimmung der bakteriellen Besiedelung von Proben und findet in vielen Studien Anwendung (100, 101). Die KBE-Untersuchung erlaubte darüber hinaus eine Analyse der Veränderung der Bakterienzahl nach Beendigung der Mundmodellphase gegenüber dem Ausgangswert nach Erzeugung der Initialläsionen. Eine alternative Methode zur quantitativen Bestimmung des Mikroorganismengehaltes hätte die Bestimmung des Titers dargestellt. Dabei wird von einer Probe zunächst eine Verdünnungsreihe erstellt und eine definierte Menge davon in einem geeigneten Medium inkubiert. Ermittelt wird die höchste Verdünnung, bei der noch eine Trübung des Mediums durch mikrobielles Wachstum stattfindet. In einer Studie, bei der eine bereits definierte Menge an coliformen Bakterien verwendet wurde, zeigten sich jedoch Ungenauigkeiten gegenüber

der Bestimmung der KBE (102). Dass zudem ein Zusammenhang zwischen den KBE-Werten und der Kariesaktivität besteht, konnte in einer anderen Studie belegt werden, in der bei kariesfreien, moderat kariesaktiven und kariesaktiven Probanden die KBE von *S. mutans* bestimmt wurden (103). So wurde eine negative Korrelation zwischen dem pH-Wert des Speichels und der KBE von *S. mutans* nachgewiesen: bei kariesfreien Probanden waren die KBE-Werte erniedrigt und der pH-Wert des Speichels erhöht, bei kariesaktiveren Probanden war es umgekehrt.

Als zweite Methode der Analyse wurde in der vorliegenden Studie die 1940 durch James Thewlis entwickelte Methode der transversalen Mikroradiographie genutzt, um den Mineralverlust und die Läsionstiefe der erzeugten Kariesläsionen zu ermitteln (104). Die TMR ist ein etabliertes und in der Durchführung standardisiertes Verfahren, welches trotz einiger Nachteile als Untersuchungsmethode bei der Bestimmung von variierenden Mineralgehalten den Goldstandard darstellt (105). Ein Nachteil dieser Methode ist die zwangsläufige Zerstörung der Proben, die notwendig ist, um Dünnschliffe herzustellen. Das Anfertigen der Dünnschliffe ist weiterhin relativ aufwändig und techniksensibel: so sind im Zuge der Dünnschliffherstellung bei der vorliegenden Studie insgesamt 9 Proben verloren gegangen. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung hätte bei den Proben der SDF-Gruppe eine Einlagerung von Silberpartikeln zu einer Verfälschung der Ergebnisse der TMR führen können. Dieser potentiellen Verfälschung der Ergebnisse wurde durch Berücksichtigung des Korrekturfaktors (s. Kapitel 3.7.3) entgegengewirkt. Da die Berechnungsgrundlage des Korrekturfaktors der Situation unmittelbar nach der Applikation des SDF entsprach (mögliche Auswaschungseffekte in der späteren Mundmodellphase wurden nicht berücksichtigt), stellt dieser die maximal mögliche Verfälschung der TMR-Ergebnisse durch Silberpartikel dar. Es ist denkbar, dass nach der Mundmodellphase deutlich weniger Silberpartikel in der Läsion vorhanden waren, als direkt nach Applikation des SDF (s. auch Kapitel 5.2). Weiterhin besteht bei der mikroradiographischen Untersuchung keine Möglichkeit direkt festzustellen, ob nach der Behandlung der Probenoberflächen mit den Agenzien eine Arretierung der Kariesprogression stattgefunden hat. Dazu wäre es nötig, einen Bereich der initialen Kariesläsion als Referenzfläche mit Nagellack abzudecken, so dass im Mundmodell hier keine weitere Demineralisation stattfindet. Durch die bakterieninfizierte Oberfläche des Dentins war es jedoch nicht zu gewährleisten, dass durch Undichtigkeiten der Nagellackabdeckung eine mögliche Substratzufuhr zu einer Progression der Dentindemineralisation in der Referenzläsion geführt hätte, wobei die Referenz verfälscht worden wäre.

Bei einer alternativen Auswertungsmethode, wie zum Beispiel der Transversalen Wellenunabhängigen Mikroradiographie (T-WIM) (106, 107) werden die Ergebnisse zwar auch durch Silber verfälscht, eine Messung des Mineralverlustes und der Läsionstiefe im Versuchsverlauf wäre jedoch ohne Destruktion der Proben möglich. Da bei der Durchführung von T-WIM dickere Probenschnitte ($\leq 3.2\text{mm}$) im Vergleich zu TMR genutzt werden können, ist es theoretisch möglich, Werte zu Mineralverlust und Läsionstiefe im zeitlichen Verlauf zu evaluieren. Durch den Wegfall der Dünnschliffherstellung besteht bei dieser Methode eine geringere Gefahr des Probenverlustes als bei TMR. In einem direkten Vergleich zwischen TMR und T-WIM konnte gezeigt werden, dass T-WIM geeignet ist, bei dickeren Probenblöcken Mineralverlust und Läsionstiefen zu bestimmen (107). Die Nutzung dieser Methode sollte aufgrund ihrer Vorteile daher in folgenden Studien mit ähnlichem Design wie in der vorliegenden Studie erwogen werden.

Eine weitere Möglichkeit, Parameter für den Mineralgehalt in Kariesläsionen zu ermitteln, ist die Bestimmung der Mikrohärtete. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass die Ergebnisse nicht durch Silberpartikel verfälscht werden. Eine Studie zeigte bei initial demineralisierten Proben eine starke Korrelation zwischen den über TMR ermittelten Mineralverlusten bzw. Läsionstiefen und den durch den Prüfeindringkörper hervorgerufenen Vertiefungen bei der Mikrohärtetebestimmung (108). Voraussetzung für die Bestimmung der Mikrohärtete ist jedoch eine planpolierte Oberfläche der Zahnhartsubstanz (109). Diese lag nach der Erzeugung von Karies im Biofilmmodell jedoch nicht mehr vor. Eine Politur der kariösen Oberflächen nach der Mundmodellphase hätte die Ergebnisse in dieser Studie wahrscheinlich verfälscht. Zudem ist es ein Nachteil, dass bei einer stärkeren Demineralisation, wie sie in den Proben der vorliegenden Untersuchung vorlagen, die Ergebnisse der Mikrohärtete-messungen von den Ergebnissen der TMR abweichen (108). Aufgrund der ausgeprägten Demineralisation der Proben in der vorliegenden Untersuchung war die Durchführung von Mikrohärtete-messungen daher ungeeignet.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

In der durchgeführten Studie hemmte CHX die weitere Demineralisation der Kariesläsionen stärker als alle Vergleichsgruppen und reduzierte die Bakterienzahl am effektivsten. Die in dieser Studie erzielte Effektivität von CHX spiegelt Erfahrungen aus klinischen Studien wieder (vgl.

2.4.1.1 CHX), steht aber im Gegensatz zu einer anderen In-vitro-Studie, in der kein hemmender Einfluss von CHX auf die Bildung und das Wachstum von *LGG* in einem Biofilm gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden konnte (110). Die Studiendesigns unterschieden sich jedoch bei der Applikationsform des CHX: während in der vorliegenden Studie CHX als 34-%iger Lack aufgetragen wurde, verwendete die andere Studie eine 0,2-%ige CHX-Spülung. Bei Lacken kann es durch die Einlagerung in die Dentintubuli und dem intertubulären Bereich zu einer Freisetzung von CHX über einen längeren Zeitraum kommen. Ein weiterer Faktor ist der bei Lacken beschriebene initiale Freisetzung- ‚Burst‘. Am ersten Tag nach dem Auftragen konnte in einer Studie eine hohe Menge an CHX-Freisetzung aus dem Lack gemessen werden, die in den folgenden drei Tagen massiv nachließ. In diesem Zeitraum wurden 75-80 % des gesamten Chlorhexidingehaltes freigesetzt (111). In der vorliegenden Untersuchung -mit einer nur 6 Tage dauernden Mundmodellphase- kann dies daher dazu geführt haben, das CHX während der Mundmodellphase in hohen Konzentrationen verfügbar war.

Die Trägersubstanz des CHX-Lackes könnte zudem eine Diffusionsbarriere gebildet haben, welche die Substratzufuhr für die Bakterien hemmte. Unterstützt wird diese These durch eine Studie, in der sowohl das Auftragen von CHX- und Fluoridlacken, wie auch die Verwendung eines Placebolackes einen hemmenden Einfluss auf eine Dentindemineralisation zur Folge hatte (91). Zwar wurde in jener Untersuchung auf einigen Proben Restlack an der Oberfläche nachgewiesen, während in der vorliegenden Studie am Ende der Mundmodellphase keine sichtbaren Lackspuren auf der Probenoberfläche mehr vorhanden waren. Das Vorhandensein von Restlack auf der Oberfläche scheint jedoch nicht alleinig entscheidend für die Entstehung eines Barriereeffekts verantwortlich zu sein: die in der Studie durch den Placebolack entstandene Hemmung der Demineralisation fand erst in tieferen Dentinschichten statt. Daher kann vermutet werden, dass zumindest teilweise auch vorhandener Lack in tieferen Dentinschichten einen Barriereeffekt und damit einen gewissen Schutz vor Demineralisation bewirkte.

Ein vermuteter Barriereeffekt durch die Trägersubstanz des CHX-Lackes als alleiniger Wirkmechanismus ist jedoch unwahrscheinlich. So kam es in einer klinischen Untersuchung, in der ein 40-%iger CHX-Lack mit einem Placebolack verglichen worden war, zu einer 37,3 % geringeren Karieszunahme nach 2 Jahren im Vergleich zum Placebolack (112). CHX als kationisches Bisbiguanid bindet wie eingangs beschrieben (s. Kapitel 2.4.1.1) an negativ geladene orale Gewebe wie Zähne und Mukosa (42). Anionische Substanzen können in Wechselwirkung mit CHX dazu führen, dass diese hohe Substantivität deutlich herabgesetzt wird (113). Es ist daher

möglich, dass die in dieser Studie verwendete tägliche Spülung mit einem Anion wie Fluorid die Wirkung von CHX negativ beeinflusst hat. So zeigte in einer Studie die Kombination aus CHX und Natriummonofluorophosphat bei Vermischen in Wasser eine sichtbare Ausfällung eines wenig löslichen Salzes und eine deutlich reduzierte Verfügbarkeit des CHX (114). In Bezug auf die herabgesetzte Substantivität bei kombinierter Verwendung von NaF und CHX ist die Studienlage uneins. Bei der Untersuchung der Wechselwirkung von CHX und Natriumfluorid bei kombinierter Verwendung -in diesem Fall jedoch als Mundspülung-, kam eine Studie zu dem Schluss, dass CHX und Natriumfluorid bei gemeinsamer Verwendung keine geringere Effektivität besitzen als CHX allein (115), eine weitere Studie zeigte dagegen eine deutlich reduzierte Substantivität (116). Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die genauen Wechselwirkungen zwischen Fluorid und CHX und den Mechanismus der Kariesarretierung durch den CHX-Lack, welcher in der vorliegenden Studie beobachtet wurde, zu untersuchen.

Nach Adjustierung der TMR-Ergebnisse in der SDF-Gruppe zur Eliminierung einer möglichen Verfälschung durch Silberartefakte konnte im Vergleich mit der unbehandelten Kontrollgruppe keine signifikante Reduktion der Kariesprogression durch SDF festgestellt werden. Diese Ergebnisse unterscheiden sich von anderen In-vitro-Studien, in denen von SDF eine die Demineralisation verlangsamende Wirkung ausging (101, 117). Einschränkend ist zu sagen, dass sich die Studiendesigns jedoch unter anderem in der Auswertmethodik unterschieden, da keine der genannten Studien TMR zur Analyse der Proben verwendete. Stattdessen wurde unter anderem die Mikrohärtigkeit bestimmt (s. 5.1.3 Auswertmethodik). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterscheiden sich von anderen In-vitro-Studien auch in Bezug auf den antibakteriellen Effekt des SDF. So hatte das SDF, im Gegensatz zu anderen Untersuchungen, in der vorliegenden Studie einen nur begrenzten Einfluss auf die Bakterienzahl. Allerdings wurden in anderen Studien Mischkulturen von *S. mutans* und *L. acidophilus* (70) beziehungsweise *S. mutans* oder *A. naeslundii* (117) verwendet. Aber auch in Studien mit Monokulturen von *S. mutans* (118) oder Mischkulturen von LGG und *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. acidophilus*, *A. naeslundii* wurden für SDF stark antibakterielle Eigenschaften nachgewiesen (101). Es könnte daher vermutet werden, dass das zusätzliche Auftragen des Kaliumjodids, welches der Reduktion der Schwarzfärbung dient, zu einer reduzierten antibakteriellen Wirksamkeit von SDF in der vorliegenden Studie beigetragen haben könnte. Jedoch wies die Applikation von Kaliumjodid nach SDF-Behandlung, im Vergleich zur alleinigen Anwendung von SDF in einer anderen Studie keinen Unterschied bei der

antibakteriellen Wirkung auf (118). Weiterhin könnte es möglich sein, dass SDF nur begrenzt wirksam bei *LGG*-Monokulturen ist. Aufgrund der unspezifischen antibakteriellen Wirkung der Silberionen im SDF ist es jedoch eher unwahrscheinlich, dass diese Substanz nur selektiv auf bestimmte Mikroorganismen antibakteriell wirkt. Auch der Ort der Applikation des SDF könnte eine Rolle spielen. So wurde das SDF in der vorliegenden Untersuchung auf ausgeprägte Kariesläsionen appliziert, was zu einer reduzierten Retention des SDFs und damit zu der begrenzten antibakteriellen Wirkung geführt haben könnte. Unklar ist auch, ob eine Wechselwirkung zwischen SDF und NaF besteht. So untersuchte eine Studie unter anderem die antibakterielle Wirkung von SDF als alleinige Substanz und in Kombination mit NaF und zeigte einen den antibakteriellen Effekt des SDFs reduzierenden Einfluss des NaF (119). Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Wechselwirkungen der einzelnen Substanzen untereinander zu verstehen. Ein weiterer möglicher Grund für die begrenzte Wirksamkeit des SDF in dieser Studie könnten die verwendeten Probenkörper sein. Während die generelle Verwendung boviner Zähne in dieser In-vitro-Studie gerechtfertigt erschien (s. Kapitel 5.1.1), konnte eine Studie eine generelle Abhängigkeit der SDF-Wirksamkeit in Bezug auf die Dentition feststellen. So reduzierte über einen Zeitraum von 36 Monaten SDF bei Milchzähnen die Anzahl neuer Kariesläsionen deutlicher als bei bleibenden Zähnen (120). Vor dem Hintergrund der Mechanismen der Kariesarretierung von SDF wie der Inaktivierung von MMPs (s. Kapitel 2.4.3) muss sich die Frage gestellt werden, ob diese bei humanen Zähnen der ersten und zweiten Dentition und in Bezug auf unsere Studie auch zwischen humanen und bovinen Zähnen in vergleichbarer Form vorhanden sind. Eine Studie, die die Aktivität von MMP-2 und MMP-9 humaner und boviner Zähne verglich, zeigte neben dem generellen Vorhandensein eine leicht geringere Aktivität der MMPs bei bovinen Zähnen (121). Dies könnte die geringere Wirksamkeit von SDF in dieser Studie im Vergleich zu Studien erklären, die humane Dentinproben verwendeten (101, 117). Die MMP Aktivität zwischen humanen Zähnen verschiedener Dentitionen mit eventuellen Auswirkungen auf die SDF Wirksamkeit sollte daher in weiteren Untersuchungen eruiert werden. Wie in Kapitel 5.1.3 beschrieben, muss der bei SDF angewendete Korrekturfaktor bei der Diskussion der Ergebnisse kritisch gesehen werden. Eine In-vitro-Studie mit ähnlichem Versuchssetting untersuchte mit Hilfe energiedispersiver Röntgenanalyse den SDF-Gehalt der Proben nach terminaler Demineralisationsphase und fand keine Anzeichen für verbliebene Silberpartikel in den Proben (122). Daher ist es möglich, dass mit den in dieser Studie erzielten, korrigierten Ergebnissen die Wirkung von SDF unterschätzt wurden- es bleibt aber zu

beachten, dass der Mineralverlust auch ohne Anwendung des Korrekturfaktors nur im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant geringerer war.

Tägliche Natriumfluoridspülungen ohne weitere Behandlungen zeigten in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Effekt auf die Progression der Kariesläsionen und die bakterielle Kontamination. Unser Ergebnis unterscheidet sich von den Ergebnissen klinischer Studien, in denen regelmäßige Fluoridspülungen bei der Prävention von Wurzelkaries wirksam zu sein scheinen (65, 123). Es muss aber hervorgehoben werden, dass die NaF-Spülungen in den Studien als ergänzende Maßnahme neben dem Zähneputzen angewendet wurden, wodurch von einem deutlich geringeren kariösen Milieu ausgegangen werden kann als in der vorliegenden Studie. Eine kariespräventive Wirkung von NaF-Spülungen wurde aber auch in anderen In-vitro-Studien nachgewiesen. Der Studienaufbau unterschied sich jedoch teilweise in Bezug auf das verwendete Kariesmodell, da die Läsionen durch pH-Cycling induziert wurden (93). Die in der vorliegenden Studie geringere Wirksamkeit des NaF kann möglicherweise darauf zurückzuführen sein, dass durch die Bakterieninkubation bereits deutliche Läsionen vorhanden und die Probenoberflächen bei dem ersten Spülen mit NaF von einem Biofilm bedeckt waren. So untersuchte eine Studie den präventiven Effekt von verschiedenen Substanzen zur Kariesprävention auf gesunden Dentinoberflächen. NaF reduzierte in dieser Studie den Mineralverlust im Vergleich zu allen anderen Gruppen am stärksten (124).

Während sich die Studienlage bezüglich der Fluoridwirkung in Bezug auf die Verbesserung der Remineralisation und Hemmung der Demineralisation eindeutig darstellt, ist unklar, ob von Fluorid eine relevante antibakterielle Wirkung ausgeht, die sich (hemmend) auf den Kariesprozess auswirkt (vgl. Kapitel 2.4.2.1). Drei mögliche Wirkmechanismen von Fluorid auf Bakterien werden diskutiert: Erstens eine Hemmung von ATPasen, die wiederum durch eine Hemmung des Protonenabflusses aus der Bakterienzelle zu einer Übersäuerung des Cytoplasmas führt. Daraus resultiert eine reduzierte Säureproduktion mit einem geringeren pH-Wert Abfall im bakteriellen Biofilm (125). Ein weiterer Effekt könnte durch Beeinflussung der metabolischen Aktivität der Bakterienzelle hervorgerufen werden. Durch eine Hemmung der Enolase, einem essentiellen Enzym der bakteriellen Verstoffwechslung von Kohlenhydraten, wird die Glucoseaufnahme verhindert; eine geringere metabolische Aktivität führt durch weniger Milchsäure als Endprodukt zu einem geringeren Abfall des pH-Wertes und auch die Bakterienproliferation soll verringert werden (125). Die Verringerung der Produktion Extrazellulärer Polymerer Substanzen (EPS) soll

den dritten Wirkmechanismus von Fluoriden auf Bakterien ausmachen (125). EPS beeinflussen die bakterielle Haftung an Oberflächen und untereinander und sollen als Substratreservoir dienen; auch eine Barrierefunktion, die längere kariöse Säureangriffe zur Folge hat, wird diskutiert (126). Zwei Punkte könnten zu dem nicht signifikanten Einfluss des Natriumfluorids in dieser Studie beigetragen haben: NaF-Spülungen dienten in dieser Studie vor allem zur Simulation täglicher Mundhygienemaßnahmen und wurden daher in geringer Konzentration verwendet. Da eine dosisabhängige Wirksamkeit von Fluorid bei allen Wirkmechanismen besteht und in Studien eine Proportionalität aus Fluoridkonzentration und Wirksamkeit gezeigt werden konnte (127, 128), hätte in der vorliegenden Untersuchung ein Präparat mit höherer Fluoridkonzentration unter Umständen einen deutlich stärker ausgeprägten Effekt auf den Mineralverlust und die bakterielle Kontamination haben können. Ein weiterer Faktor sind die bei einigen Laktobazillen beschriebenen höheren Resistenzen gegenüber Fluoriden als beispielsweise bei Streptokokken. Diese soll neben einer höheren Anzahl von ATPasen in den Zellmembranen und daraus folgendem möglichem erhöhtem Protonenabfluss auch auf eine geringere Anfälligkeit des Enzyms Enolase zurückzuführen sein (129).

6 SCHLUSSFOLGERUNG

Die Prävalenz von Wurzelkaries ist bei pflegebedürftigen Senioren hoch. Aufgrund der eingeschränkten Möglichkeit, diese in Pflegeeinrichtungen zahnmedizinisch zu behandeln, müssen Therapieoptionen für Wurzelkaries untersucht und etabliert werden, die effektiv und gleichzeitig ohne hohen apparativen Aufwand eingesetzt werden können. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluss von Silberdiaminfluorid (SDF) und Chlorhexidinlack (CHX) mit täglicher Natriumfluorid-Spülung (NaF) als Simulation der Fluoridzufuhr durch Zähneputzen auf die Progression von Wurzelkaries zu vergleichen.

CHX-Lack führte in dieser Studie zu einer signifikanten Reduktion der Demineralisation und der Bakterienzahlen im Vergleich zu den anderen Gruppen. SDF hatte keinen signifikanten Effekt auf die Demineralisation, jedoch führte es zu einer Reduzierung der Bakterienzahlen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Alleinige NaF-Spülung hatte keinen Effekt auf die Demineralisation und auf die Bakterienzahlen. Unter Berücksichtigung der Limitationen dieser In-Vitro-Studie kann derzeit geschlossen werden, dass sich CHX-Lack, in Kombination mit täglicher, Fluorid beinhaltender Mundpflege, zur Arretierung von Wurzelkaries zu eignen scheint.

Jedoch sollte dieses Ergebnis im Rahmen von weiteren Studien überprüft werden, um daraus Empfehlungen für die zahnärztliche Behandlung ableiten zu können. So ist beispielsweise zum jetzigen Zeitpunkt nicht eindeutig geklärt, welche Wechselwirkungen zwischen den einzelnen verwendeten Substanzen herrschen und ob diese für eine Verfälschung der Ergebnisse durch Veränderung der Wirksamkeiten verantwortlich sein können. Auch ist unklar, ob die Anwendung des Korrekturfaktors einer möglichen Beeinflussung durch SDF Partikel im SDF-Probenblock gerecht wurde. Weiterhin sollte Fluorid in einer Studie als derzeitiger Goldstandard in einer höheren Konzentration verwendet werden, die mit den Konzentrationen der verwendeten SDF und CHX-Lacke vergleichbar sind, um so mögliche Mehrwerte von CHX und gegebenenfalls SDF herauszuarbeiten.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Jati AS, Furquim LZ, Consolaro A. Gingival recession: its causes and types, and the importance of orthodontic treatment. *Dental Press Journal of Orthodontics*. 2016;21(3):18-29.
2. Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM. The vulnerability of unexposed human dental roots to demineralization. *Journal of Dental Research*. 1986;65(7):955-8.
3. Viljakainen S, Nykanen I, Ahonen R, Komulainen K, Suominen AL, Hartikainen S, et al. Xerostomia among older home care clients. *Community dentistry and oral epidemiology*. 2016;44(3):232-8.
4. Hu JY, Chen XC, Li YQ, Smales RJ, Yip KH. Radiation-induced root surface caries restored with glass-ionomer cement placed in conventional and ART cavity preparations: results at two years. *Australian Journal of Dentistry*. 2005;50(3):186-90.
5. Gao W, Peng D, Smales RJ, Yip KH. Comparison of atraumatic restorative treatment and conventional restorative procedures in a hospital clinic: evaluation after 30 months. *Quintessence International*. 2003;34(1):31-7.
6. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Archives of oral biology*. 1960;1:304-20.
7. Fitzgerald RJ, Keyes PH. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *Journal of the American Dental Association*. 1960;61:9-19.
8. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health*. 2006;6(Suppl 1):S14.
9. Paris S, Ekstrand, K., Meyer-Lückel, H. Paradigmenwechsel. *Karies, Wissenschaft und klinische Praxis*. 2012:73-4.
10. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (New York, NY)*. 1999;284(5418):1318-22.
11. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Advances in dental research*. 1994;8(2):263-71.
12. Dong YM, Pearce EI, Yue L, Larsen MJ, Gao XJ, Wang JD. Plaque pH and associated parameters in relation to caries. *Caries Research*. 1999;33(6):428-36.

13. Universitätsklinikum-Gießen/Marburg. Ursachen für Karies. Website des Universitätsklinikums Gießen/Marburg. Abrufdatum 02.06.2019, https://www.ukgm.de/ugm_2/deu/ugi_zpz/11001.html.
14. Jensen A, Lagerlöf, F., Nauntofte, B. The role of saliva. *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. 2008:189-207.
15. Edgar MD, C. Saliva and Oral Health. Hg: *British Dental Journal*. 2004;3. Edition.
16. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, et al. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *International Journal of Nanomedicine*. 2016;11:4743-63.
17. Griffin SO, Regnier E, Griffin PM, Huntley V. Effectiveness of fluoride in preventing caries in adults. *Journal of Dental Research*. 2007;86(5):410-5.
18. del Socorro Herrera M, Medina-Solis CE, Minaya-Sánchez M, Pontigo-Loyola AP, Villalobos-Rodelo JJ, Islas-Granillo H, et al. Dental plaque, preventive care, and tooth brushing associated with dental caries in primary teeth in schoolchildren ages 6–9 years of Leon, Nicaragua. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2013;19:1019-26.
19. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *Nutrients*. 2010;2(3):290-8.
20. Ten Cate A. *Oral histology: development, structure, and function*. 5th ed Toronto: Mosby. 1998;5:150.
21. Gao W, Smales RJ, Yip HK. Demineralisation and remineralisation of dentine caries, and the role of glass-ionomer cements. *International Dental Journal*. 2000;50(1):51-6.
22. Ravald N. Root surface caries. *Current opinion in periodontology*. 1994:78-86.
23. Griffin SO, Griffin PM, Swann JL, Zlobin N. Estimating rates of new root caries in older adults. *Journal of Dental Research*. 2004;83(8):634-8.
24. Cunha-Cruz J, Hujoel PP, Nadanovsky P. Secular Trends in Socio-economic Disparities in Edentulism: USA, 1972–2001. *Journal of Dental Research*. 2007;86(2):131-6.
25. Petersen PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community dentistry and oral epidemiology*. 2005;33(2):81-92.
26. Bongaarts J. Human population growth and the demographic transition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;364(1532):2985-90.

27. Pöttsch O, Rößger F. Bevölkerung Deutschlands bis 2060. Statistisches Bundesamt. 2015:19.
28. Jordan RA, Bodechtel C, Hertrampf K, Hoffmann T, Kocher T, Nitschke I, et al. The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) BMC Oral Health. 2014;14.
29. Katz RV. Assessing root caries in populations: the evolution of the root caries index. Journal of public health dentistry. 1980;40(1):7-16.
30. Pflege im Rahmen der Pflegeversicherung Ländervergleich – Pflegeheime 2013. In: Bundesamt S, editor. 2016.
31. große Schlarman J, Bienstein C. Nachts in deutschen Pflegeheimen. Die Schwester Der Pfleger. 2015;54(11):22-7.
32. Marmy M, ; Matt, F. Kenntnisse in der Mund- und Zahnhygiene des Pflegepersonals eines psychogeriatrischen Heims. Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin. 2003;113:794-800
- .
33. Dolan TA, Atchison KA. Implications of access, utilization and need for oral health care by the non-institutionalized and institutionalized elderly on the dental delivery system. Journal of dental education. 1993;57(12):876-87.
34. Matthews DC, Clovis JB, Brillant MG, Filiaggi MJ, McNally ME, Kotzer RD, et al. Oral health status of long-term care residents-a vulnerable population. Journal of the Canadian Dental Association. 2012;78:C3.
35. Hesecker HS, P. Ernährung älterer Menschen in stationären Einrichtungen. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hrsg). 2008:157-204.
36. Sergi G, Bano G, Pizzato S, Veronese N, Manzato E. Taste loss in the elderly: Possible implications for dietary habits. Critical reviews in food science and nutrition. 2017;57(17):3684-9.
37. Drewnowski A, Specter S. Poverty and obesity: the role of energy density and energy costs. The American Journal of Clinical Nutrition. 2004;79(1):6-16.
38. Qvist V. Longevity of restorations – ”the death spiral”. Dental Caries The Disease and its Clinical Management. 2008:443–55.
39. Wierichs RJ, Meyer-Lueckel H. Systematic review on noninvasive treatment of root caries lesions. Journal of Dental Research. 2015;94(2):261-71.

40. Slot DE, Vaandrager NC, Van Loveren C, Van Palenstein Heldermaan WH, Van der Weijden GA. The effect of chlorhexidine varnish on root caries: a systematic review. *Caries Research*. 2011;45(2):162-73.
41. Tang X, Sensat ML, Stoltenberg JL. The antimicrobial effect of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in patients with fixed orthodontic appliances: a systematic review of clinical efficacy. *International Journal of Dental Hygiene*. 2016;14(1):53-61.
42. Briner WW, Kayrouz GA, Chanak MX. Comparative antimicrobial effectiveness of a substantive (0.12% chlorhexidine) and a nonsubstantive (phenolic) mouthrinse in vivo and in vitro. *Compendium (Newtown, Pa)*. 1994;15(9):1158, 60, 62 passim; quiz 70.
43. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: State of the art. *Minerva stomatologica*. 2012;61(9):399-419.
44. Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scandinavian journal of dental research*. 1977;85(4):255-65.
45. George AM, Kalangi SK, Vasudevan M, Krishnaswamy NR. Chlorhexidine varnishes effectively inhibit *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus mutans* — an in vivo study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2010;14(3):178-80.
46. Tan HP, Lo EC, Dyson JE, Luo Y, Corbet EF. A randomized trial on root caries prevention in elders. *Journal of Dental Research*. 2010;89(10):1086-90.
47. Schaeken MJ, Keltjens HM, Van Der Hoeven JS. Effects of fluoride and chlorhexidine on the microflora of dental root surfaces and progression of root-surface caries. *Journal of Dental Research*. 1991;70(2):150-3.
48. Banting DW, Papas A, Clark DC, Proskin HM, Schultz M, Perry R. The effectiveness of 10% chlorhexidine varnish treatment on dental caries incidence in adults with dry mouth. *Gerodontology*. 2000;17(2):67-76.
49. Stebbins EA. What value has argenti nitras as a therapeutic agent in dentistry? *International Dental Journal*. 1891;12:661-70.
50. Howe PR. A method of sterilizing and at the same time impregnating with a metal, affected dentinal tissue. 1917.
51. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Current problems in dermatology*. 2006;33:17-34.
52. Silvestry-Rodriguez N, Sicairos-Ruelas EE, Gerba CP, Bright KR. Silver as a disinfectant. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. 2007;191:23-45.

53. Coward JE, Carr HS, Rosenkranz HS. Silver Sulfadiazine: Effect on the Ultrastructure of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1973;3(5):621-4.
54. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(7):2171-8.
55. Prime JM. Further extending the use of Howe's Ammoniacal Silver Nitrate in control of dental caries. *The Dental Cosmos*. 1935;77:1046-59.
56. Schultz-Haudt STR. Silver nitrate treatment of proximal caries in primary molars. *Journal of Dentistry for Children*. 1956;23:184-6.
57. Petersson LG. The role of fluoride in the preventive management of dentin hypersensitivity and root caries. *Clinical Oral Investigations*. 2013;17 Suppl 1:S63-71.
58. ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta odontologica Scandinavica*. 1999;57(6):325-9.
59. Larsen MJ. Dissolution of enamel. *Scandinavian journal of dental research*. 1973;81(7):518-22.
60. Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Advances in dental research*. 2008;20(1):13-6.
61. Tenuta LM, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *Journal of Dental Research*. 2008;87(11):1032-6.
62. Heijnsbroek M, Paraskevas S, Van der Weijden GA. Fluoride interventions for root caries: a review. *Oral Health and Preventive Dentistry*. 2007;5(2):145-52.
63. Wang XL, Cheng CY, Peng D, Wang B, Gan YH. Inhibition of acidogenicity in dental plaque by sodium fluoride solution after sucrose rinse. *Chinese Journal of Dental Research*. 2013;16(2):137-44.
64. Van Loveren C. Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. *Caries Research*. 2001;35 Suppl 1:65-70.
65. Ripa LW, Leske GS, Forte F, Varma A. Effect of a 0.05% neutral NaF mouthrinse on coronal and root caries of adults. *Gerodontology*. 1987;6(4):131-6.
66. Wallace MC, Retief DH, Bradley EL. The 48-month increment of root caries in an urban population of older adults participating in a preventive dental program. *Journal of public health dentistry*. 1993;53(3):133-7.

67. Bonetti D, Clarkson JE. Fluoride Varnish for Caries Prevention: Efficacy and Implementation. *Caries Research*. 2016;50 Suppl 1:45-9.
68. Zhang W, McGrath C, Lo EC, Li JY. Silver diamine fluoride and education to prevent and arrest root caries among community-dwelling elders. *Caries Research*. 2013;47(4):284-90.
69. Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *Journal of Dental Research*. 2009;88(2):116-25.
70. Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Lo EC. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2013;18(6):e824-31.
71. Suzuki T, Nishida M, Sobue S, Moriwaki Y. Effects of diammine silver fluoride on tooth enamel. *Journal of Osaka University Dental School* 1974;14:61-72.
72. Gotjamanos T, Afonso F. Unacceptably high levels of fluoride in commercial preparations of silver fluoride. *Australian dental journal*. 1997;42(1):52-3.
73. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *Journal of Dental Research*. 2006;85(1):22-32.
74. Souza AP, Gerlach RF, Line SR. Inhibition of human gelatinases by metals released from dental amalgam. *Biomaterials*. 2001;22(14):2025-30.
75. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Archives of Oral Biology*. 2000;45(9):757-65.
76. Lo EC, Chu CH, Lin HC. A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. *Journal of Dental Research*. 2001;80(12):2071-4.
77. Sato Y, Yamagishi J, Yamashita R, Shinozaki N, Ye B, Yamada T, et al. Inter-Individual Differences in the Oral Bacteriome Are Greater than Intra-Day Fluctuations in Individuals. *PLoS One*. 2015;10(6):e0131607.
78. Miller WD, Bramble LM. The micro-organisms of the human mouth: the local and general diseases which are caused by them. Birmingham, Ala.: The Classics of Dentistry Library; 1980. xx, 364 p., 3 leaves of plates p.
79. Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. *Advances in dental research*. 1995;9(3):244-54; discussion 55-69.
80. Enright JJ, Friesell HE. Studies of the Cause and Nature of Dental Caries *. *Journal of the American Dental Association*. 1933;20(5):897-910.

81. Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. *Journal of Dentistry*. 2003;31(3):161-71.
82. Coenye T, Nelis HJ. In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. *Journal of microbiological methods*. 2010;83(2):89-105.
83. Salli KM, Ouwehand AC. The use of in vitro model systems to study dental biofilms associated with caries: a short review. *Journal of Oral Microbiology*. 2015;7:10.3402/jom.v7.26149.
84. Prodan A, Brand HS, Ligtenberg AJ, Imangaliyev S, Tsivtsivadze E, van der Weijden F, et al. Interindividual variation, correlations, and sex-related differences in the salivary biochemistry of young healthy adults. *European journal of oral sciences*. 2015;123(3):149-57.
85. Wong L, Sissons C. A comparison of human dental plaque microcosm biofilms grown in an undefined medium and a chemically defined artificial saliva. *Archives of oral biology*. 2001;46(6):477-86.
86. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *Journal of dental education*. 2001;65(10):1028-37.
87. Shu M, Wong L, Miller JH, Sissons CH. Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. *Archives of oral biology*. 2000;45(1):27-40.
88. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Research*. 1985;19(6):490-6.
89. Lippert F, Churchley D, Lynch RJ. Effect of Lesion Baseline Severity and Mineral Distribution on Remineralization and Progression of Human and Bovine Dentin Caries Lesions. *Caries Research*. 2015;49(5):467-76.
90. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Research*. 2003;37(5):339-44.
91. Zaura-Arite E, Ten Cate JM. Effects of fluoride- and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on demineralization of dentinal grooves in situ. *European journal of oral sciences*. 2000;108(2):154-61.
92. Huizinga ED, Ruben J, Arends J. Effect of an antimicrobial-containing varnish on root demineralisation in situ. *Caries Research*. 1990;24(2):130-2.

93. Garcia-Godoy F, Flaitz C, Hicks J. Role of fluoridated dentifrices in root caries formation in vitro. *American journal of dentistry*. 2014;27(1):23-8.
94. Petersson LG, Kambara M. Remineralisation study of artificial root caries lesions after fluoride treatment. An in vitro study using Electric Caries Monitor and Transversal Micro-Radiography. *Gerodontology*. 2004;21(2):85-92.
95. Piwat S, Teanpaisan R, Dahlén G, Thitasomakul S, Douglas CWI. Acid production and growth by oral *Lactobacillus* species in vitro. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2012;3(1):56-61.
96. Schwendicke F, Dörfer C, Kneist S, Meyer-Lueckel H, Paris S. Cariogenic Effects of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG in a Dental Biofilm Model. *Caries Research*. 2014;48(3):186-92.
97. Kaufman HW, Pollock JJ, Gwinnett AJ. Microbial caries induction in the roots of human teeth in vitro. *Archives of oral biology*. 1988;33(7):499-503.
98. Caufield PW, Schön CN, Saraithong P, Li Y, Argimón S. Oral *Lactobacilli* and Dental Caries: A Model for Niche Adaptation in Humans. *Journal of Dental Research*. 2015;94(9 Suppl):110-8.
99. Preza D, Olsen I, Aas JA, Willumsen T, Grinde B, Paster BJ. Bacterial Profiles of Root Caries in Elderly Patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008;46(6):2015-21.
100. Mei ML, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Preventing root caries development under oral biofilm challenge in an artificial mouth. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2013;18(4):e557-63.
101. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2013;12:4.
102. Wohlsen T, Bates J, Vesey G, Robinson WA, Katouli M. Evaluation of the methods for enumerating coliform bacteria from water samples using precise reference standards. *Letters in Applied Microbiology*. 2006;42(4):350-6.
103. Ali YA, Chandranee NJ, Wadher BJ, Khan A, Khan ZH. Relationship between caries status, colony forming units (cfu) of *Streptococcus mutans* and Snyder caries activity test. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 1998;16(2):56-60.
104. Thewlis J. The structure of teeth as shown by X-ray examination. London: H.M. Stationery Off.; 1940.

105. Huysmans MC, Longbottom C. The Challenges of Validating Diagnostic Methods and Selecting Appropriate Gold Standards. *Journal of Dental Research*. 2004;83(1_suppl):48-52.
106. Progression infiltrierter künstlicher Schmelzkaries in situ [Internet]. Refubium Dissertationen Charite. Univ., Diss, 2016. Available from: http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000020337/diss_r.faulstroh.pdf;jsessionid=170F75606C61653298456BACA6C7A33C?hosts=.
107. Thomas RZ, Ruben JL, de Vries J, ten Bosch JJ, Huysmans MC. Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions over time, validated with transversal microradiography. *Caries Research*. 2006;40(4):281-91.
108. Lippert F, Lynch RJM. Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine enamel. *Archives of oral biology*. 59(7):704-10.
109. Tsolmon L. Charakterisierung von Dentinoberflächen nach Bearbeitung mit neuen, minimal – invasiven und selbstlimitierenden Präparationsverfahren. Elektronische Hochschulschriften der LMU München. Univ., Diss, 2008.
110. Zheng CY, Wang ZH. Effects of chlorhexidine, listerine and fluoride listerine mouthrinses on four putative root-caries pathogens in the biofilm. *Chinese Journal of Dental Research*. 2011;14(2):135-40.
111. Schaeken MJM, De Haan P. Effects of Sustained-release Chlorhexidine Acetate on the Human Dental Plaque Flora. *Journal of Dental Research*. 1989;68(2):119-23.
112. Du MQ, Tai BJ, Jiang H, Lo EC, Fan MW, Bian Z. A two-year randomized clinical trial of chlorhexidine varnish on dental caries in Chinese preschool children. *Journal of Dental Research*. 2006;85(6):557-9.
113. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology 2000*. 1997;15(1):55-62.
114. Barkvoll P, Rolla G, Bellagamba S. Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium monofluorophosphate in vitro. *Scandinavian journal of dental research*. 1988;96(1):30-3.
115. Villa O, Ramberg P, Fukui H, Emilson CG, Papanikolaou G, Heijl L, et al. Interaction between chlorhexidine and fluoride in a mouthrinse solution-a 4-day and 6-week randomized clinical pilot study. *Clinical Oral Investigations*. 2018;22(3):1439-48.

116. Freitas CSd, Diniz HFO, Gomes JB, Sinisterra RD, Cortés ME. Evaluation of the substantivity of chlorhexidine in association with sodium fluoride in vitro. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. 2003;17:78-81.
117. Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2012;22(1):2-10.
118. Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS, Gully NJ. Inability to form a biofilm of *Streptococcus mutans* on silver fluoride- and potassium iodide-treated demineralized dentin. *Quintessence International*. 2009;40(2):155-61.
119. Yu OY, Zhao IS, Mei ML, Lo ECM, Chu CH. Caries-arresting effects of silver diamine fluoride and sodium fluoride on dentine caries lesions. *Journal of Dentistry*. 2018;78:65-71.
120. Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, Morato M. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *Journal of Dental Research*. 2005;84(8):721-4.
121. Kato MT, Hannas AR, Leite AL, Bolanho A, Zarella BL, Santos J, et al. Activity of matrix metalloproteinases in bovine versus human dentine. *Caries Research*. 2011;45(5):429-34.
122. Wierichs RJ, Stausberg S, Lausch J, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M. Caries-Preventive Effect of NaF, NaF plus TCP, NaF plus CPP-ACP, and SDF Varnishes on Sound Dentin and Artificial Dentin Caries in vitro. *Caries Research*. 2018;52(3):199-211.
123. Wyatt CC, MacEntee MI. Caries management for institutionalized elders using fluoride and chlorhexidine mouthrinses. *Community dentistry and oral epidemiology*. 2004;32(5):322-8.
124. Gostemeyer G, Kohls A, Paris S, Schwendicke F. Root caries prevention via sodium fluoride, chlorhexidine and silver diamine fluoride in vitro. *Odontology*. 2018.
125. Jenkins GN. Review of fluoride research since 1959. *Archives of Oral Biology*. 1999;44(12):985-92.
126. Shellis RP, Dibdin GH. Analysis of the buffering systems in dental plaque. *Journal of Dental Research*. 1988;67(2):438-46.
127. Fernandez CE, Tenuta LM, Cury JA. Validation of a Cariogenic Biofilm Model to Evaluate the Effect of Fluoride on Enamel and Root Dentine Demineralization. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146478.
128. Nassar HM, Gregory RL. Biofilm sensitivity of seven *Streptococcus mutans* strains to different fluoride levels. *Journal of oral microbiology*. 2017;9(1):1328265-.

129. Guha-Chowdhury N, Clark AG, Sissons CH. Inhibition of purified enolases from oral bacteria by fluoride. *Oral microbiology and immunology*. 1997;12(2):91-7.

8 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich, Felix Schulze, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss von Silberdiaminfluorid, Chlorhexidin und Natriumfluorid auf die Progression von Wurzelkaries in-vitro“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Felix Schulze hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Gerd Göstemeyer, Felix Schulze, Sebastian Paris, Falk Schwendicke

Arrest of root caries lesions via sodium fluoride, chlorhexidine and silver diamine fluoride in vitro
MDPI Materials, 2017

Beitrag im Einzelnen: Mitplanung des Versuchsaufbaus, Durchführung des Versuchs, Auswertung
der erhobenen Daten

G. Göstemeyer; F. Schulze; S. Paris; F. Schwendicke

Arretierung von Wurzelkaries durch Natriumfluorid, Chlorhexidin und Silberdiaminfluorid in-
vitro

Wissenschaftlicher Vortrag auf der 30. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für
Zahnerhaltung (DGZ) 2016 in Leipzig

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Felix Schulze

9 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10 ANHANG

10.1 Medien

MRS-Bouillon:

| Stoff | Menge in g/l |
|--------------------------------------|--------------|
| Pepton | 10 g/l |
| Hefeextrakt | 4 g/l |
| Rindfleischextrakt | 8 g/l |
| Glucose | 20 g/l |
| Dikaliumphosphat | 2 g/l |
| Natriumacetat | 5 g/l |
| Ammoniumcitrat | 2 g/l |
| Magnesiumsulfat (MgSO ₄) | 0,2 g/l |
| Mangansulfat | 0,05 g/l |
| Polysorbat 80 | 1 g/l |
| (pH-Wert) | (6,2 ±0,2) |

DMM (modified Defined Mucine Medium):

| STOFF | Bestell-Nr | Molare Masse in g/mol | Konzentration in mmol/l | Ansatz | Menge in g |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|--------|------------|
| CACL X 2H₂O | Roth 5239.2 | 147,02 | 1,0 | 2l | 0,294 |
| MGCL₂ X 6H₂O | Merck 1.05833.0250 | 203,30 | 0,2 | 2l | 0,081 |
| KH₂PO₄ | Merck 104873 | 136,08 | 0,5 | 2l | 0,136 |
| K₂HPO₄ x 3H₂O | Merck 1.05099.0250 | 228,23 | 0,5 | 2l | 0,228 |
| NACL | Roth HN00.1 | 50,44 | 1,0 | 2l | 0,117 |
| KCI | Merck 1.049360250 | 74,55 | 3,0 | 2l | 0,447 |
| NH₄CI | Merck 1.01145.0500 | 53,49 | 0,2 | 2l | 0,021 |
| CO(NH₂)₂ | Merck 1.08488.0250 | 60,06 | 0,5 | 2l | 0,060 |
| MUCIN | Sigma M1778 | - | 2,5 g/l | 2l | 5,0 |

Das Mucin wurde mindestens 1 Tag vor Verwendung in 200ml Aqua dest. gelöst und für 1 Std auf 80°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt und am nächsten Tag sterilisiert.

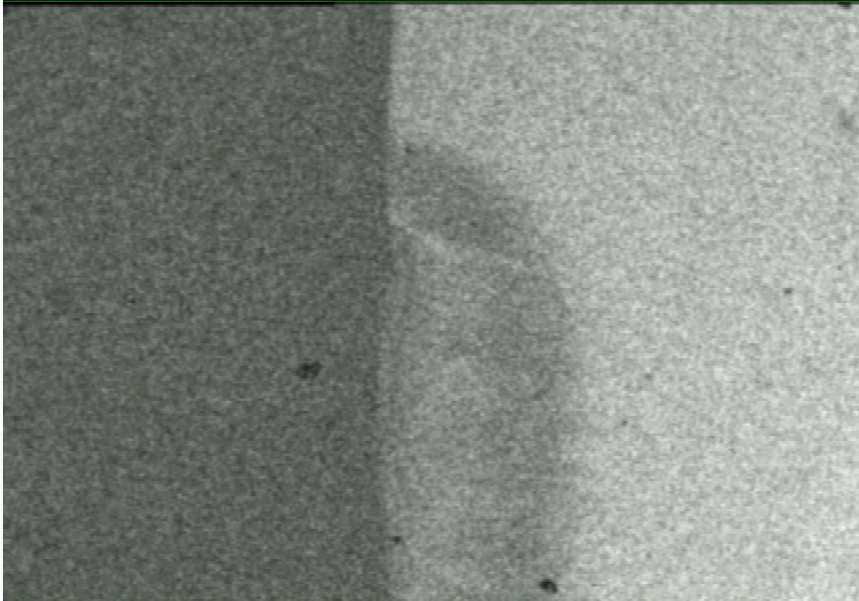
10.2 Vorversuche

10.2.1 Zeiten

Zunächst mussten die Zeiten für die initiale Demineralisation, Inkubations und Mundmodellzyklen definiert werden. Dazu wurden 6 Dentinproben hergestellt und jeweils 2 Proben über 2, 4 und 6 Tage in Buskes Lösung bei einem pH-Wert von 5,0 demineralisiert. Die Demineralisation aller Proben wurde über transversale Mikroradiographie bestimmt. In einem zweiten Vorversuch wurden für 48 Stunden demineralisierte Proben über unterschiedliche Zeiträume inkubiert (24/48/72 Stunden) und danach dem Mundmodell ausgesetzt (3/5/7 Tage). Auch die Demineralisation dieser Proben wurde danach über TMR analysiert.

Die TMR-Auswertung der über 2, 4 und 6 Tage in Buskeslösung gelagerten Dentinproben ergab bei Demineralisationen von mehr als 2 Tagen Einbrüche in der Dentinoberfläche, was für die spätere Auswertung der Proben von Nachteil gewesen wäre (Abb. 10.1). Daher wurde die Demineralisationszeit auf 48 Stunden festgelegt.

2 Tage:



4 Tage:

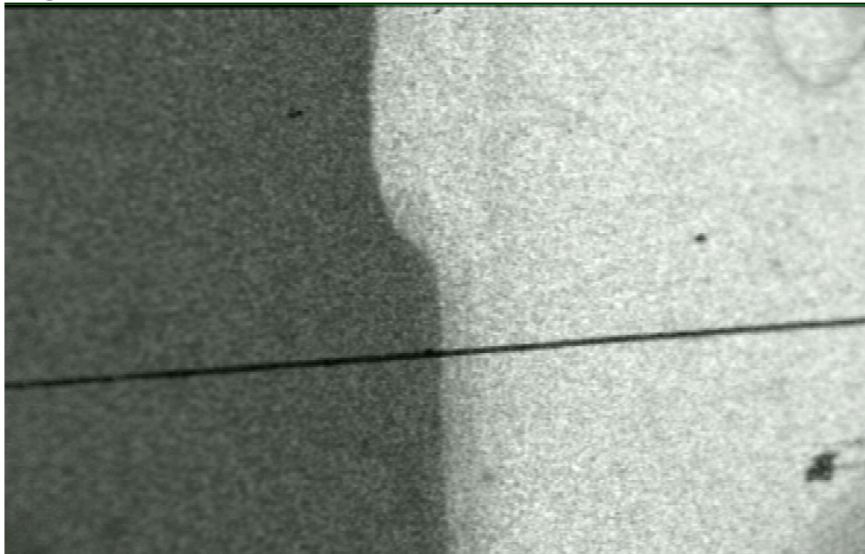


Abbildung 10.1: Das obere Bild zeigt den Zustand nach 48-stündiger Lagerung in „Buskes“-Lösung. Erkennbar ist die mit Nagellack behandelte, noch vollständig mineralisierte Referenzfläche, darunter die demineralisierte Fläche. Es ist kein Oberflächeneinbruch zu verzeichnen. Nach 96-stündiger Lagerung ist dagegen ein deutlicher Einbruch zu erkennen (unteres Bild).

Im Rahmen des zweiten Vorversuchs führte bereits eine Inkubation mit *LGG* über 48 Stunden zu einer ausgeprägten Demineralisation mit Einbrüchen der Oberfläche. Daher wurde die

Inkubationsdauer auf 24 Stunden festgelegt. Die anschließende Mundmodellphase wurde nach TMR-Analyse auf 6 Tage festgelegt (s. Abbildung 10.2).

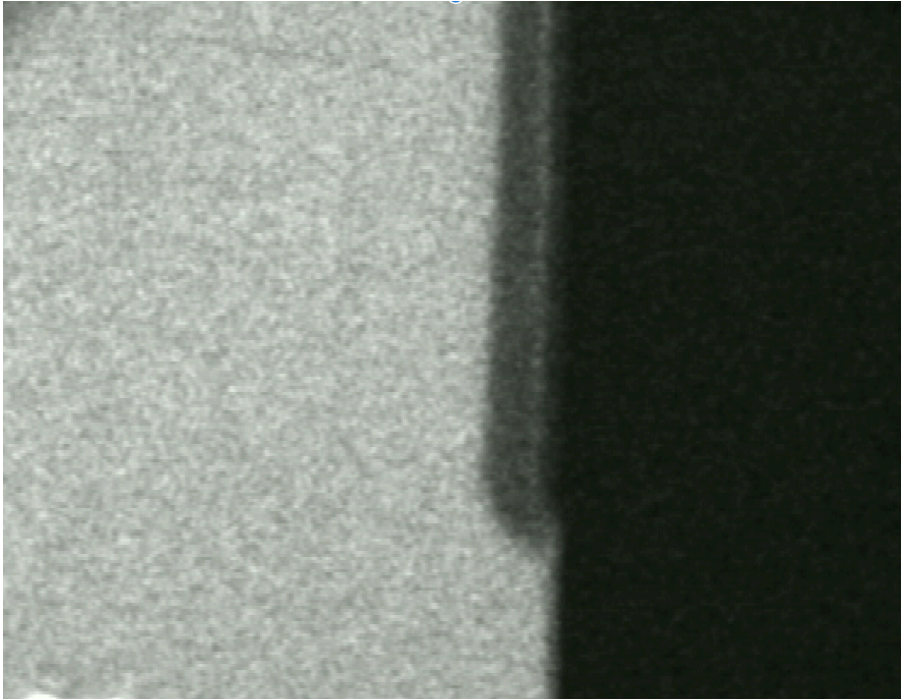
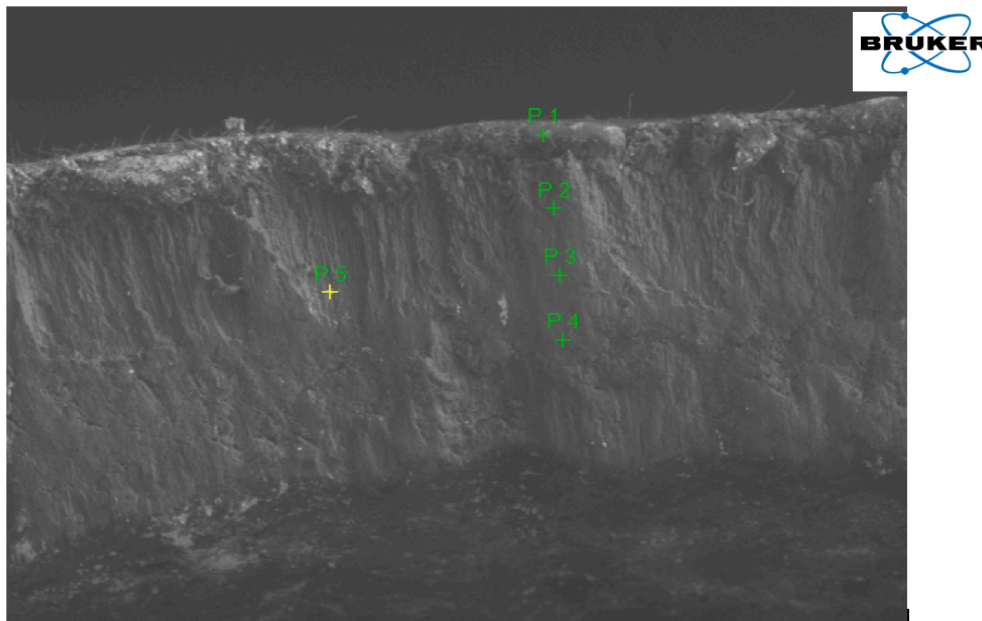


Abbildung 10.2: TMR-Bild nach 48 Stunden Demineralisation, 24 Stunden Inkubationszeit und 6 Tagen Mundmodellphase.

10.2.2 Silbergehalt der Proben

Die im SDF enthaltenen röntgenopaken Silberpartikel können aufgrund möglicher Einlagerungen in die Kariesläsionen die Ergebnisse der TMR-Analyse verfälschen. Das Ausmaß der Silbereinlagerung wurde in einem Vorversuch untersucht. Im Rasterelektronenmikroskop (Camscan MaXim 2040S, Fa. Camscan, Cambridge, UK) wurde eine EDX-Analyse (Detektor: XFlash 6|30, Software: ESPRIT 1.9, beides: Fa. Bruker Nano GmbH, Berlin, Deutschland) an Proben durchgeführt, die zuvor mit SDF behandelt wurden. Um zu vermeiden, dass durch das Sägen und anschließende Polieren der Proben Silberpartikel von der Oberfläche in tiefere Probenschichten gelangen und damit das Ergebnis verfälschen, wurden die Proben auseinandergebrochen und die Bruchfläche ohne Politur analysiert. Es konnten Reste von Silberpartikeln nachgewiesen werden, die nach der Applikation von SDF im Dentin verblieben sind. Die EDX ergab einen maximalen Silbergehalt von 1,11 Gew.% (Abbildung 10.3). Um die

Verfälschungen der Ergebnisse der TMR durch die Silberpartikel ausschließen zu können, wurde für die Berechnung des Mineralverlustes bei den SDF-Proben ein Korrekturfaktor mit einbezogen (s. Kapitel 3.7.3, Sonderfall SDF in der TMR-Analyse).



Spektrum: P 5

| El | OZ | Serie | unp. C [Gew. %] | norm. C [Gew. %] | Atom. C [At. %] | Fehler (1 Sigma) [Gew. %] |
|--------|----|---------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------------------|
| C | 6 | K-Serie | 46,37 | 45,29 | 59,46 | 5,70 |
| N | 7 | K-Serie | 5,58 | 5,45 | 6,13 | 1,46 |
| O | 8 | K-Serie | 24,52 | 23,95 | 23,61 | 3,58 |
| Na | 11 | K-Serie | 0,38 | 0,37 | 0,25 | 0,06 |
| Al | 13 | K-Serie | 2,11 | 2,06 | 1,20 | 0,13 |
| P | 15 | K-Serie | 5,26 | 5,14 | 2,61 | 0,23 |
| S | 16 | K-Serie | 0,20 | 0,19 | 0,09 | 0,04 |
| Ca | 20 | K-Serie | 16,84 | 16,45 | 6,47 | 0,52 |
| Ag | 47 | L-Serie | 1,13 | 1,11 | 0,16 | 0,07 |
| Summe: | | | 102,37 | 100,00 | 100,00 | |

Abbildung 10.3: Erkennbar auf dem oberen Bild ist die Frakturfläche der Proben. Gemessen wurde an 5 Punkten (P1-P5), wobei P1 an der Probenoberfläche liegt und P4 den tiefsten, am weitesten von der Probenoberfläche entfernten Messpunkt darstellt. P5 wurde auf einen hellweißen Punkt im Inneren der Probe gesetzt, der sich bei der Auswertung als Silberpartikel herausstellte.

Die Tabelle zeigt die Auswertung der EDX-Analyse an Punkt P5. Silber wurde mit einem Gehalt von 1,11 Gew.% gemessen.

11 DANKSAGUNG

Für die freundliche Überlassung des Themas und die Möglichkeit, die Arbeit anfertigen zu können und die Geräte und Materialien der Abteilung für Zahnerhaltung und Präventivmedizin der Charité Universitätsmedizin Berlin nutzen zu dürfen, bedanke ich mich bei Prof. Dr. Sebastian Paris. Mein besonderer Dank gilt Dr. Gerd Göstemeyer, der mir seit der Planung und Durchführung der Studie immer tatkräftig und hilfsbereit zur Seite stand. Auch bei PD Dr. Falk Schwendicke möchte ich mich für die kompetente Unterstützung bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich bei der gesamten Laborabteilung der Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin, insbesondere bei Carola Schweynoch und Rainer Toll, für die Bereitstellung der Geräte und der Unterstützung bei meinen Versuchen. Vielen Dank auch an Dr. Renz, der mir mit seiner ruhigen und freundlichen Art bei rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen half und mit dessen Anregungen viele Arbeitsschritte verbessert werden konnten.

Großer Dank gebührt auch meinen vielen Mitstreitern, allen voran Anna Kohls, mit denen die langen Stunden im Labor deutlich erträglicher wurden. Aber auch schon erfahrene Doktoranden wie Aurore Umwali, die trotz Zeitstress ihr Wissen gern und häufig mit mir geteilt haben, haben besonderen Dank verdient.

Zu guter Letzt danke ich neben meiner Familie für die Unterstützung und die Motivation von ganzem Herzen meiner Freundin Charlotta Diederich, die mir bei vielen langwierigen Schritten geholfen und mich beim Schreiben ausgehalten hat.