Aus der Klinik für Mund-, Zahn- und Kieferkrankheiten der Universität Heidelberg (Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. dent. Peter Rammelsberg)

Poliklinik für Zahnerhaltungskunde
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hans Jörg Staehle)

Bestimmung und Evaluierung des Säurebildungspotentials im Speichel als Methode zur Erfassung des individuellen Kariesrisikos

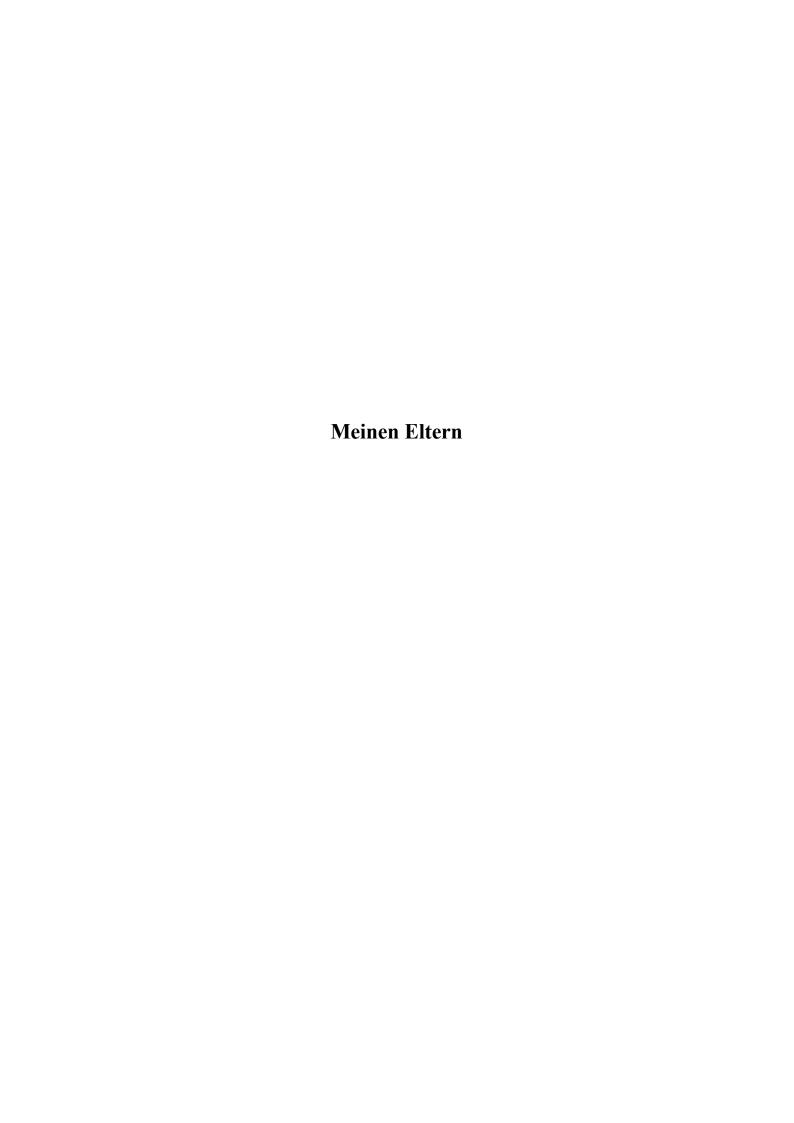
Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades in der Zahnheilkunde
der
Medizinischen Fakultät Heidelberg
der
Ruprecht-Karls-Universität

vorgelegt von Lisa-Sophie Reissfelder

> aus Freiburg 2021

Dekan: Herr Prof. Dr. Hans-Georg Kräusslich

Doktormutter: Frau apl. Prof. Dr. med. dent. Cornelia Frese



Inhaltsverzeichnis

INHALTSVEF	RZEICHNIS	I
ABKÜRZUNG	GSVERZEICHNIS	III
TABELLENV	ERZEICHNIS	V
ABBILDUNGS	SVERZEICHNIS	VI
1 EINLEITU	J NG	1
1.1 KARIESÄ	TIOLOGIE	3
1.2 ORALE M	IIKROORGANISMEN	5
1.2.1 MUTAN	IS-STREPTOKOKKEN	5
1.2.2 LAKTOE	BAZILLEN	6
1.2.3 AKTINO	DMYZETEN	7
1.3 ORALER	BIOFILM	7
1.4 SPEICHEI	L	10
1.4.1 ORGAN	ISCHE BESTANDTEILE	10
	ANISCHE BESTANDTEILE	
1.5 KARIESR	USIKOBESTIMMUNG	13
	HREN ZUR KARIESRISIKOBESTIMMUNG	
1.6 ZIELSETZ	ZUNG DER STUDIE	23
1.6.1 НҮРОТЬ	HESE	23
2 METHOD	EN UND MATERIAL	24
2.1 STUDIENI	DESIGN	24
2.2 AUSWAH	L DER PROBANDEN	24
2.2.1 EINSCH	LUSSKRITERIEN	25
2.2.2 AUSSCH	HLUSSKRITERIEN	25
2.3 DATENER	RHEBUNG	26
2.3.1 ZAHNÄI	RZTLICHER BEFUND	26
2.3.2 Unters	SUCHUNG DER SPEICHELPROBEN	27
2.3.3 MIKROE	BIOLOGISCHE AUSWERTUNG	32
2.4 STATISCE	HE AUSWERTUNG	34

3	El	RGEBNISSE	36
3.1	.]	DESKRIPTIVE ERGEBNISSE	36
3.1	.1	Probandenkollektiv	36
3.1	.2	Indizes	38
3.1	.3	PH-DIFFERENZ/ SÄUREBILDUNGSPOTENTIAL	40
3.1	.4	MUTANS-STREPTOKOKKEN	42
3.1	.5	Laktobazillen	43
3.1	.6	Pufferkapazität	45
3.2	2]	MIKROBIOLOGISCHE ERGEBNISSE	46
4	D	DISKUSSION	52
5	ZU	USAMMENFASSUNG	63
6	Ll	LITERATURVERZEICHNIS	65
7	Al	NHANG	80
7.1	.]	ETHIKVOTUM DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT HEIDELBERG S-389/2017	80
7.2	2]	ETHIKVOTUM DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT HEIDELBERG S-389/2017 –	
NA	СH	HTRÄGLICHE ÄNDERUNG ZUR DSGVO –	83
7.3	5 7	TABELLE DER DESKRIPTIVEN ERGEBNISSEN	100
8	Ll	EBENSLAUF	100
9	V	VERÖFFENTLICHUNGEN	101
10	Γ	DANKSAGUNG	102
11	F	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	103

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

AUC Fläche unter der Kurve (engl.: Area Under the Curve)

CFU Koloniebildende Einheiten (engl.: Colony Forming Units)

CRT Kariesrisiko-Test (engl.: Caries-Risk-Test)

DAJ Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege

DGZMK Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

DMS Deutsche Mundgesundheitsstudie

DMF-S Flächenbezogener Kariesindex der permanenten Zahnflächen, Anzahl

der kariösen (engl.: Decayed), fehlenden (engl.: Missing), gefüllten

(engl.: Filled) permanenten Zahnflächen (engl.: Surfaces)

DMF-T Zahnbezogener Kariesindex der permanenten Zähne, Anzahl der

kariösen (engl.: Decayed), fehlenden (engl.: Missing), gefüllten

(engl.: Filled) permanenten Zähne (engl.: Teeth)

dmf-t Zahnbezogener Kariesindex der Milchzähne, Anzahl der kariösen

(engl.: decayed), fehlenden (engl.: missing), gefüllten (engl.: filled)

Milchzähne (engl.: teeth)

DNA Desoxyribonukleinsäure (engl.: Deoxyribonucleic Acid)

DSGVO Datenschutz-Grundverordnung

ECC frühkindliche Karies (engl.: Early Childhood Caries)

FU Früherkennungsuntersuchung

IgAImmunglobulin AIgGImmunglobulin GIgMImmunglobulin M

LB Laktobazillen

ml Milliliter

MS Mutans-Streptokokken

NGS Sequenziermethode der nächsten Generation (engl.: Next Generation

Sequencing)

PCoA Hauptkomponentenanalyse (engl.: Principal Component Analysis)

PCR Polymerase-Kettenreaktion (engl.: Polymerase Chain Reaction)

PFRI Plaque Formation Rate Index

RNA Ribonukleinsäure (engl.: Ribonucleic Acid)

Abkürzungsverzeichnis IV

ROC Grenzwertoptimierungskurve (engl.: Receiver Operating

Characteristic)

RSV Ribosomale Sequenzvariante

S-ECC Schwere Form der frühkindlichen Karies (engl.: Severe Early

Childhood Caries)

μm Mikrometer

Tabellenverzeichnis V

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: ÜBERSCHICHT ÜBER DIE VERSCHIEDENEN FUNKTIONEN DES SPEICHELS	. 10
TABELLE 2: BESTIMMUNG VON KINDERN MIT HOHEM KARIESRISIKO IM RAHMEN DER	
GRUPPENPROPHYLAKTISCHEN REIHEN-UNTERSUCHUNGEN NACH DEN KRITERIEN DER DEUTSCHEN	
Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege (DAJ, Stand 2012)	. 16
TABELLE 3: PFRI-EINTEILUNG IN 5 GRUPPEN	. 18
Tabelle 4: Schema zur Bewertung des Mutans-Streptokokken-Tests	. 19
TABELLE 5: ÜBERSICHT ÜBER KOMMERZIELL ERHÄLTLICHE SPEICHELTESTS ZUR KARIESRISIKODIAGNOSTIK	
(NACH HECKL, 2007)	. 21
TABELLE 6: PUNKTESYSTEM DES SALIVA-CHECK BUFFER TESTS, DAS ANHAND VON FARBCODIERUNGEN	
ZUGEORDNET WIRD	. 28
TABELLE 7: BESTIMMUNG DER PUFFERKAPAZITÄT NACH DEM PUNKTESYSTEM. HIERFÜR WERDEN DIE WERTE	
aller drei Felder des Teststreifens addiert und der Gesamtscore ergibt die Pufferkapazitä	İΤ
DES SPEICHELS	. 29
TABELLE 8: VERGLEICHSTABELLE DER ERGEBNISSE DES CRT BUFFER UND SALIVA-CHECK BUFFER	. 29
TABELLE 9: KATEGORISIERUNG DES SÄUREBILDUNGSPOTENTIALS UND DER ENTSPRECHENDEN	
Kariesgefährdung in Abhängigkeit der pH-Wert-Differenz des neuartigen Speicheltests.	
(Quelle: Entwickler)	. 32
TABELLE 10: EPIDEMIOLOGISCHE UND KLINISCHE DATEN DES PATIENTENKOLLEKTIVS	. 36
TABELLE 11: SOZIOÖKONOMISCHEN STATUS UND KONSUMVERHALTEN DES PATIENTENKOLLEKTIVS	. 37
Tabelle 12: Tabellarische Darstellung statistischer Maßzahlen der zuckerhaltigen Ernährun	1G
DES PATIENTENKOLLEKTIVS	. 38
TABELLE 13: DESKRIPTIVE DATEN DES ERHOBENEN GBI DER PROBANDENGRUPPE (1) GESUND UND (2) KARIES	s 39
TABELLE 14: DESKRIPTIVE DATEN DES ERHOBENEN PCR-INDEX DER PROBANDENGRUPPE (1) GESUND UND (2)	
Karies	. 39
TABELLE 15: DESKRIPTIVE DATEN DER ERHOBENEN PH-WERT-DIFFERENZEN DER PROBANDENGRUPPE (1)	
GESUND UND (2) KARIES	. 40
Tabelle 16: deskriptive Daten des erhobenen Säurebildungspotential entsprechend der pH-Wer	T-
DIFFERENZEN DER PROBANDENGRUPPE (1) GESUND UND (2) KARIES	. 41
TABELLE 17: DESKRIPTIVE DATEN DES ERHOBENEN SCORES DER MUTANS-STREPTOKOKKEN-ANZAHL DER	
Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies	. 42
TABELLE 18: DESKRIPTIVE DATEN DES ERHOBENEN SCORES DER LAKTOBAZILLEN-ANZAHL DER	
Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies	. 43
Tabelle 19: Deskriptive Daten der erhobenen Pufferkapazität der Probandengruppe (1) Gesund	
UND (2) KARIES	. 45
Tabelle 20: Übersicht der Genera und RSVs, die einen signifikanten Unterschied im Vorkommen	
ZWISCHEN DEN PROBANDENGRUPPEN (1) GESUND ($n = 25$) UND (2) KARIES ($n = 25$) ZEIGEN. EIN POSITIVE	ES
Vorzeichen des log2FoldChange gibt ein höheres Vorkommen in der naturgesunden Gruppe	Е
AN	. 47

Abbildungsverzeichnis VI

Abbildungsverzeichnis

ABB	ILDUNG 1. SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER KARIESATIOLOGIE (QUELLE. LS. KEISSFELDER NACH
	König, 1971)4
ABB	ILDUNG 2: BEISPIEL EINER ANALYSE MITTELS DES CARIOGRAMS, WELCHES EIN HOHES KARIESRISIKO
	ANZEIGT, DA DIE "CHANCE OF AVOIDING CARIES" NUR BEI 13 % LIEGT (QUELLE: LS. REISSFELDER NACH
	Bratthall und Hänsel Petersson, 2005)
ABB	ILDUNG 3: KOMBINATION DES PFRI-TESTS MIT DER ANZAHL DER MUTANS-STREPTOKOKKEN PRO
	MILLILITER SPEICHEL (SM/ML) ZUR BESTIMMUNG EINES INDIVIDUELLEN KARIESRISIKOS (QUELLE: LS.
	Reissfelder nach Axelsson, 1990)
ABB	ildung 4: Farbkodierung zur Bestimmung der Pufferkapazität mittels CRT® buffer (Quelle L
	S. Reissfelder nach Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland)
ABB	ILDUNG 5: (A) SALIVA-CHECK BUFFER (GC GERMANY; BAD HOMBURG DEUTSCHLAND), (B)
	TESTSTREIFEN MIT DREI TESTPOLSTERN (QUELLE: LS. REISSFELDER)
ABB	ILDUNG 6: (A) CRT® BACTERIA. MITIS-SALIVARIUS-BACITRACIN- AGAR ZUM NACHWEIS VON MUTANS-
	STREPTOKOKKEN, (B) ROGOSAAGAR ZUM NACHWEIS VON LAKTOBAZILLEN (QUELLE: LS. REISSFELDER)
ABB	ILDUNG 7: EINTEILUNG DER CFU DER MUTANS-STREPTOKOKKEN NACH EINEM SCORE VON 0-5 ANHAND VON
	Beispielbildern der vorliegenden Studie (Quelle: LS. Reissfelder)
ABB	ILDUNG 8: EINTEILUNG DER CFU DER LAKTOBAZILLEN NACH EINEM SCORE VON 0-5 ANHAND VON
	Beispielbildern der vorliegenden Studie (Quelle: LS. Reissfelder)
ABB	ILDUNG 9: (A) PH-INDIKATORSTÄBCHEN MCLOROPHASTTM PH 6,5 - 10,0 (MERCK KGAA; DARMSTADT
	DEUTSCHLAND), (B) PH-WERT-BESTIMMUNG DES STIMULIERTEN SPEICHELS VOR INKUBATION, (C) PH-
	Indikatorstäbehen "Special Indiactor" MCLoropHastTM pH 5,2 - 7,2 (Merck KGaA; Darmstadt
	DEUTSCHLAND), (D) PH-WERT-BESTIMMUNG DER INKUBIERTEN LÖSUNG (QUELLE: LS. REISSFELDER). 32
ABB	ILDUNG 10: VERGLEICH DER KLINISCH ERHOBENEN WERTE DES GBI (ABK.: GINGIVA BLEEDING INDEX) DER
	Probandengruppen (1) Gesund ($n = 24$) und (2) Karies ($n = 24$). In der Kariesgruppe liegt
	GENERELL EIN HÖHERER GBI VOR (P = 0.00563). Dargestellt sind die Ergebnisse in Box-and-
	WHISKERS PLOTS MIT MEDIANEN UND QUARTILEN. QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABB	ILDUNG 11: VERGLEICH DER KLINISCH ERHOBENEN WERTE DES PCR-INDEX (PLAQUE CONTROL RECORD)
	DER PROBANDENGRUPPEN (1) GESUND (N = 24) UND (2) KARIES (N = 24). IN DER KARIESGRUPPE LIEGT
	GENERELL EIN HÖHERER PCR VOR (P = 0.00129). Dargestellt sind die Ergebnisse in Box-and-
	WHISKERS PLOTS MIT MEDIANEN UND QUARTILEN. QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABB	ILDUNG 12: VERGLEICH DER KLINISCH ERHOBENEN PH-WERT-DIFFERENZ (AUSGANGS-PH-WERT - PH-WERT
	NACH 60 MIN INKUBATION IM NÄHRMEDIUM DES NEUARTIGEN SPEICHELTESTS) DER PROBANDENGRUPPEN
	(1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Die Grafik zeigt einen Unterschied zwischen den
	Gruppen. Die Kariesgruppe weist eine höhere pH-Wert-Differenz auf (p = 0.03536). Dargestellt
	SIND DIE ERGEBNISSE IN BOX-AND-WHISKERS PLOTS MIT MEDIANEN UND QUARTILEN. QUELLE: SAMUEL
	KILIAN

Abbildungsverzeichnis

ABE	SILDUNG 13: DARSTELLUNG DER ROC-KURVE DER GEMESSENEN PH-WERT-DIFFERENZEN DER
	Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Als ein Maß für die Bewertung
	DER EIGNUNG DER VARIABLE, STELLT DIE ROC-KURVE SICH NUR MARGINAL BESSER ALS DIE
	EINGEZEICHNETE DIAGONALE DAR. DIE AUC – AREA UNDER THE CURVE – DIE SICH ZWISCHEN ROC-
	Kurve und Diagonale ergibt, beträgt $0,6712$ und bewegt sich somit in einem wünschenswerten
	BEREICH (1 = IDEAL). QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABE	BILDUNG 14: VERGLEICH DER ERHOBENEN MUTANS-STREPTOKOKKEN-ANZAHL IN FORM EINES SCORES DER
	Probandengruppen (1/rot) Gesund ($n = 25$) und (2/türkis) Karies ($n = 25$). Die Ergebnisse werden
	IN EINEM BALKENDIAGRAMM DARGESTELLT. ES ZEIGT SICH EIN DEUTLICHER UNTERSCHIED ZWISCHEN DEN
	Gruppen (p = $2,71e^{-05}$). In der Kariesgruppe tritt der Score 0 und 1 nicht auf, während der
	MAXIMALE SCORE 4 HÄUFIG VORKOMMT. QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABE	BILDUNG 15: DARSTELLUNG DER ROC-KURVE DER ERHOBENEN SCORES DER MUTANS-STREPPTOKOKKEN-
	Anzahl der Probandengruppen (1) Gesund ($n = 25$) und (2) Karies ($n = 25$). Als ein Maß für die
	BEWERTUNG DER EIGNUNG DER VARIABLE, STELLEN SICH DIE ROC-KURVE SOWIE DIE AUC – AREA
	Under the Curve – gut dar. Die AUC, welche sich zwischen der ROC-Kurve und der
	Diagonalen ergibt, hat einen hohen Wert von 0.8312 und nähert sich somit dem Idealwert 1
	AN. QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABE	ILDUNG 16: VERGLEICH DER ERHOBENEN LAKTOBAZILLEN-ANZAHL IN FORM EINES SCORES DER
	Probandengruppen (1/rot) Gesund ($n = 25$) und (2/türkis) Karies ($n = 25$). Die Ergebnisse sind in
	EINEM BALKENDIAGRAMM DARGESTELLT. ES ZEIGT SICH EIN DEUTLICHER UNTERSCHIED ZWISCHEN DEN
	Gruppen (p = $2,374e^{-05}$). In der naturgesunden Gruppe kommt der Score 0 deutlich am
	Häufigsten vor, während der Score 4 gar nicht auftritt. In der Kariesgruppe sind hingegen
	ALLE SCORES – VOR ALLEM DIE HÖHEREN – VERTRETEN. QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABE	BILDUNG 17: DARSTELLUNG DER ROC-KURVE DER ERHOBENEN SCORES DER LAKTOBAZILLEN-ANZAHL DER
	Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Als ein Maß für die Bewertung
	DER EIGNUNG DER VARIABLE, STELLEN SICH DIE ROC-KURVE SOWIE DIE AUC – AREA UNDER CURVE –
	GUT DAR. DIE AUC, WELCHES SICH ZWISCHEN DER ROC-KURVE UND DER DIAGONALEN ERGIBT, BETRÄGT
	EINEN HOHEN WERT VON 0,8344 UND NÄHERT SICH SOMIT DEM IDEALWERT 1 AN. QUELLE: SAMUEL KILIAN
	44
ABE	BILDUNG 18: VERGLEICH DER ERHOBENEN PUFFERKAPAZITÄT (NIEDRIG, MITTEL, HOCH) DER
	$Probandengruppen~(1/rot)~Gesund~(n=25)~und~(27t\ddot{u}rkis)~Karies~(n=25).~Dargestellt~sind~die~25$
	Ergebnisse in einem Balkendiagramm. Es ist kaum ein Unterschied zwischen den Gruppen zu
	ERKENNEN (P = 0.9047). QUELLE: SAMUEL KILIAN
ABE	BILDUNG 19: DARSTELLUNG DER 25 HÄUFIGSTEN RIBOSOMALEN SEQUENZVARIANTEN (GATTUNGEN) DER
	Speichelproben der Probanden der (1) "Gesunden" Gruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (2) Kariesgruppe ($n = 25$) und der (
	25). Die anderen Gattungen wurden in der Kategorie "other" zusammengefasst. Die
	Ergebnisse werden in einem Balkendiagramm dargestellt. Quelle: Dr. Sébastien Boutin 46
ABE	SILDUNG 20: VERGLEICH DER MIKROBIOM-STRUKTUR DER PROBANDENGRUPPEN (1) GESUND ($n = 25$) und (2)
	KARIES (N = 25) IN FORM EINER HAUPTKOMPONENTENANALYSE BASIEREND AUF DEN MORISITA-HORN-

Abbildungsverzeichnis VIII

1 Einleitung

Kariöse Läsionen stellen trotz eines deutlichen Rückgangs der Kariesprävalenz in jüngeren Altersgruppen in den meisten industrialisierten Ländern während der letzten Jahrzehnten (Marthaler, 2004; Petersen et al., 2005; Reich, 2001) ein schwerwiegendes Gesundheitsproblem dar. Unbehandelte kariöse Läsionen bleibender Zähne sind durch das Bevölkerungswachstum und die Überalterung der Gesellschaft angestiegen und zählen zu den häufigsten Erkrankungen weltweit. Sie betreffen 2,5 Milliarden Menschen (Kassebaum et al., 2017). 2010 betrugen die direkten Behandlungskosten für orale Erkrankungen 298 Milliarden US Dollar und nahmen damit durchschnittlich 4,6 % der globalen Gesundheitsausgaben ein (Listl et al., 2015).

Der Rückgang der Kariesprävalenz in jüngeren Altersgruppen wurde maßgeblich von präventiven Maßnahmen wie einer verbesserten Gruppen- und Individualprophylaxe sowie einem breiten Einsatz von Fluoriden unterstützt (Hellwig et al., 2013b; Zimmer, 2000). Die Prävention in Deutschland hat sich seit der Verabschiedung eines Gesetzes zur Gemeinschaftsprävention und individualisierten Prävention von Kindern und Jugendlichen 1989 entscheidend verändert (SGB V, 1988). Seit 1989 wird im Auftrag der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung vom Institut der Deutschen Zahnärzte im Rahmen der deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS) die Mundgesundheit der Bevölkerung erforscht und dokumentiert. Die deutsche Mundgesundheitsstudie ermöglicht Rückschlüsse auf die Entwicklung der Mundgesundheit sowie die Bewertung aktualisierter Prävalenz- und Trendanalysen oraler Erkrankungen sowie des zahnärztlichen Versorgungsgrades in Deutschland zwischen 1989 und 2014 (Jordan et al., 2015). Der Vergleich der erhobenen Daten zeigt, dass sich die Mundgesundheit der Bevölkerung in Deutschland – insbesondere bei den Kindern – signifikant verbessert hat (Jordan et al., 2015). Seit der ersten deutschen Mundgesundheitsstudie im Jahr 1989 in Westdeutschland bzw. 1992 für die neuen Bundesländer zeigt sich bei Kindern ein Kariesrückgang von 90 %. Der positive Effekt der Prävention ist mittlerweile bei jüngeren Erwachsenen (35- bis 44- Jährige) zu erkennen, die bereits in ihrer Kindheit von der Gruppen- und Individualprophylaxe profitiert haben. In dieser Altersgruppe zeigt sich eine Verstärkung des 2005 zum ersten Mal beobachteten Kariesrückgangs, der sich seit 1997 verdreifacht hat (Jordan et al., 2015). Allerdings zeichnet sich eine Polarisierung des Kariesbefalls bei Kindern und Jugendlichen in schwächeren sozialen

Schichten ab, so dass sich die gesamte Karieslast nur auf 20 % der Bevölkerung verteilt (Jordan und Micheelis, 2016).

In Hinblick auf die positiven Ergebnisse der deutschen Mundgesundheitsstudien ist der stetig steigende Stellenwert, den die präventive Zahnmedizin in der zahnärztlichen Praxis erreicht hat, hoch zu bewerten. Der bisher im Fokus stehende kurative Therapieansatz, bereits entstandene Schäden zu restaurieren, wird zunehmend von präventiven Maßnahmen zur Vorbeugung ihres Entstehens abgelöst. Für eine gezielte und individuelle Kariesprävention ist eine regelmäßige Bestimmung des individuellen Erkrankungsrisikos ausschlaggebend (Twetman und Fontana, 2009). Zudem ermöglicht eine frühzeitige Kariesrisikobestimmung eine zielgerichtete Steuerung und Auswahl entsprechender präventiver Maßnahmen. Dennoch stellt die Bestimmung des individuellen Kariesrisikos im klinischen Alltag nach wie vor eine Herausforderung dar. Trotz der Bemühungen anhand verschiedener Parametern das Kariesrisiko vorherzusagen, bleibt die bisherige Karieserfahrung des Patienten der genaueste Einzelparameter und setzt damit vorhergegangene Schäden der Zahnhartsubstanz voraus (Ewoldsen und Koka, 2010; Mejàre et al., 2014; Powell, 1998; Raitio et al., 1996; Schwendicke, 2013; Twetman und Fontana, 2009; Zero et al., 2001). Dies verdeutlicht den Bedarf nach geeigneten Testverfahren, die eine verlässliche Kariesrisikobestimmung bereits vor dem ersten Auftreten einer Erkrankung ermöglichen.

In der vorliegenden Studie wurde das Speichelmikrobiom von naturgesunden und an Karies erkrankten Probanden mittels verschiedener Speicheltests sowie einer Mikrobiomsequenzierung untersucht und verglichen. Die Evaluation eines neuartigen Speicheltests ermöglicht die Untersuchung und Bewertung des intraoralen Säurebildungspotentials der Probanden und stellt potentiell eine Erweiterung der bisher verwendeten Speichelparameter zur Kariesrisikodiagnostik dar. Das Ziel dieser Studie ist daher die Überprüfung der Fragestellung, ob Probanden mit einem erhöhten intraoralen Säurebildungspotential mehr kariespathogene und/oder kariesassoziierte Keime im Speichel aufweisen als Probanden ohne erhöhtes Säurebildungspotential.

1.1 Kariesätiologie

Karies ist die häufigste Erkrankung der Zahnhartsubstanz. Es handelt sich um eine weit verbreitete multifaktorielle Erkrankung, die durch das Zusammenspiel potentiell pathogener Mikroorganismen und potentiell pathogener ökologischer Faktoren entsteht (Hellwig *et al.*, 2013a, S. 15).

Willoughby D. Miller legte 1889 mit seine Monografie "Die Mikroorganismen der Mundhöhle" einen der ersten und entscheidenden Grundsteine für die mirkobiologische Theorie der Kariesentstehung. Mit der chemoparasitären Kariestheorie beschrieb er erstmalig die Säurebildung von mikroskopischen Lebewesen der Mundflora durch den Abbau von Kohlenhydraten aus der Nahrung und die daraus resultierende Demineralisierung der Zahnhartsubstanz. Einen zweiten Schritt kennzeichnet er durch eine Auflösung des demineralisierten Dentins, die heute als Protolyse bezeichnet wird (Miller, 1892). Miller rückte erstmals Mikroorganismen als Verursacher der Karies in den Vordergrund. Der Kariestheorie von Miller folgten zunächst die spezifische und unspezifische Plaquehypothese. Die spezifische Plaquehypothese besagt, dass es sich bei der Karies um eine "übertragbare Infektionskrankheit" handelt, die durch spezifische pathogene Mikroorganismen - vorwiegend Streptococcus mutans aber auch Laktobazillen und Streptococcus sobrinus – ausgelöst wird (Loesche, 1986). Die Hypothese wurde von verschiedenen Tierversuchen gestützt (Fitzgerald et al., 1960; Keyes, 1960; Orland et al., 1955). Orland et al. (1955) stellten fest, dass sich bei keimfrei gezüchteten Ratten trotz der Gabe von kariogener Nahrung keine kariösen Läsionen entwickelten. Die bedeutende Rolle der Mikroorganismen verdeutlichten sie, in dem sie eine mit Enterokokken infizierte Ratte mit der Gruppe der keimfreien Ratten zusammenführten. Nach einiger Zeit konnten die Enterokokken sowie das Auftreten von Karies bei allen Ratten nachgewiesen werden. Demgegenüber steht die wenig später entstandene unspezifische Plaquehypothese. Hierbei werden nicht einzelne spezifische Mikroorganismen als entscheidend für die Kariesaktivität definiert, sondern die Menge der in der Plaque vorkommenden säurebildenden und säuretoleranten Mikroorganismen (Beighton, 2005). Diese Aussage wurde von Studien bestärkt, die zeigen, dass Mutans-Streptokokken nicht immer in der kariesassoziierten Plaque nachgewiesen werden konnten, hingegen aber auch bei "kariesfreien" Personen vorkommen (Aas et al., 2008; Takahashi und Nyvad, 2008). Keyes beschäftigte sich 1962 weiterführend mit dieser Thematik und zeigte durch weitere Tierversuche an Hamstern und Ratten, dass das

Zusammenspiel von drei Komponenten obligat für die Bildung von Karies ist (Keyes, 1962). Es handelt sich hierbei um folgende Komponenten:

- Wirtsorganismus
- Mikroorganismen
- Substrat

Dieses Prinzip wurde von König (1971) durch die Komponente "Zeit" als vierter und ebenfalls obligater Faktor ergänzt.

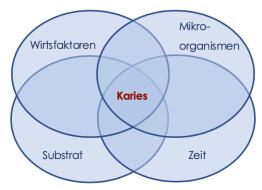


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Kariesätiologie (Quelle: L.-S. Reissfelder nach König, 1971)

Die gegenwärtig am weitesten akzeptierte Theorie zur Ätiologie und Pathogenese der Karies stellt die ökologische Plaquehypothese dar. Sie wurde 1994 von Marsh begründet und beschreibt das Auftreten von Karies als einen multifaktoriellen Prozess, bei dem es zu einer Störung der Homöostase des oralen Mikrobioms kommt (Marsh, 1994). Dabei vereinigt sie die früheren Hypothesen in einem Modell, in dem der Zustand oraler Gesundheit als die Balance (Homöostase) zwischen Wirt und oralen Mikroorganismen angesehen wird. Eine Verschiebung dieses Gleichgewichts ermöglicht die Entstehung von Karies (Dysbiose). Greift nun etwa der vermehrte Konsum fermentierbarer Kohlenhydrate - welchen hierbei eine zentrale Rolle zugeschrieben wird (Zero, 2004) - in das Gleichgewicht ein, werden selektive Mikroorganismen begünstigt, die Zucker effizient zu organischen Säuren verstoffwechseln und den somit sinkenden pH-Wert tolerieren (Marsh, 1994). Durch diese Beobachtungen wurden die spezifische Plaquehypothese und die Karies als "Infektionskrankheit" immer mehr kritisch hinterfragt. Die von den Mikroorganismen produzierten organischen Säuren induzieren die Demineralisation der Zahnhartsubstanz (Van Houte, 1994). Diese zu Beginn reversible Demineralisation schreitet ohne therapeutische Maßnahmen voran und führt zu einem progredienten und irreversiblen Verlust der Zahnhartsubstanz. Somit stellt eine zuckerreiche Ernährung einen wichtigen pathogenen Faktor für die Kariesentstehung dar, dem mit verschiedenen protektiven Faktoren entgegengewirkt werden kann. Zu diesen zählen (1) eine

gute Mundhygiene des Patienten, die das Wachstum des oralen Biofilms sowie dessen Stoffwechselaktivität limitieren kann, (2) die puffernde Wirkung und der Mineralgehalt des Speichels, der die Remineralisation der Zahnhartsubstanz fördert sowie (3) eine äußere Zufuhr von Fluoriden und Calciumverbindungen, die diese Wirkung verstärkt. Allerdings ist zu beachten, dass eine Minderung oder ein Wegfall der protektiven Faktoren ebenfalls zu einer Verschiebung des Gleichgewichts führen und somit negative Auswirkungen auf den Kariesprozess haben kann (Featherstone, 1999). Der Kariesprozess ist folglich ein komplexes und dynamisches Zusammenspiel aus pathogenen und protektiven Faktoren, die das Auftreten und das Voranschreiten der Karies bestimmen. Die Kariesprävention zielt daher auf die Minimierung der pathogenen und eine Unterstützung der protektiven Faktoren ab (Meyer-Lückel und Paris, 2012, S. 74).

1.2 Orale Mikroorganismen

Mikroorganismen besiedeln den Menschen direkt nach der Geburt und werden durch exogene Ereignisse wie den Kontakt mit den Eltern übertragen (Könönen, 2000). Lange Zeit ging man davon aus, dass über 700 verschiedene bakterielle Spezies die Mundhöhle besiedeln (Aas *et al.*, 2005; Paster *et al.*, 2006). Allerdings zeigte eine Studie von Keijser *et al.* (2008) – durch den Einsatz des Next Generation Sequencings – dass das gesamte mikrobielle Artenreichtum bei mindestens 19.000 Phylotypen liegt. Man geht aktuell davon aus, dass die für die Kariesentstehung mit verantwortlichen Mikroorganismen unter anderem ein Teil der physiologischen Flora sind, die durch die Verschiebung des Gleichgewichts pathogen agieren (Fejerskov, 2004; Marsh, 2003). Mutans-Streptokokken und Laktobazillen wurden in der Literatur regelmäßig als relevante Mikroorganismen bei der Kariesentstehung bezeichnet (Loesche, 1986; Marsh, 1994; Tanzer *et al.*, 2001). Im folgenden Abschnitt werden sie daher näher erläutert.

1.2.1 Mutans-Streptokokken

Die Bezeichnung der Mutans-Streptokokken (Streptococcus mutans) als einer der Leitkeime erklärt sich durch die Kombination ihrer vielfältigen Virulenzfaktoren. Sie zählen zu der Gruppe der Viridans-Streptokokken und sind grampositive, fakultativ anaerobe Keime. Mutans-Streptokokken zählen zu den ersten Besiedlern der Zähne nach ihrem Durchbruch (Catalanotto et al., 1975; Tanzer et al., 2001) und sind für die Kariesinitiation und -progression verantwortlich (Loesche, 1986). Die Plaque initial kariöser Läsionen weist die höchsten

Konzentrationen an Mutans-Streptokokken auf (Duchin und Van Houte, 1978). Mit ihrer azidogenen Fähigkeit, der schnellen Umwandlung von Zuckern zu Säuren, tragen sie zur Störung der Homöostase des oralen Mikrobioms bei. Dabei sind die Mutans-Streptokokken in der Lage, den Zucker deutlich schneller zu verwerten als andere orale Mikroorganismen wie beispielsweise Streptococcus sanguis, Streptococcus mitis und Actinomyces viscosus (Minah und Loesche, 1977; Onose und Sandham, 1976). Der dadurch entstehende niedrige pH-Wert führt zu einer Hemmung der Mikroorganismen des gesunden Mikrobioms, während die Mutans-Streptokokken das saure Milieu tolerieren (azidurisch) und weiterhin wachsen und Säuren metabolisieren (Marsh, 2003; Shellis, 2012, S. 25). Mit zunehmender Verfügbarkeit von Saccharose wurde eine steigende Konzentration von Mutans-Streptokokken nachgewiesen (Staat et al., 1975). Die Fähigkeit zum Anhaften an Strukturen wie den Zähnen sowie untereinander stellt für die oralen Mikroorganismen ein zentrale Rolle für das Überleben dar. Vorwiegend orale Streptokokken sowie die Mutans-Streptokokken besitzen auf ihrer Zelloberfläche sogenannte Adhäsine, die die initiale Anhaftung an die Pellikel der Zähne ermöglichen (Gibbons, 1984). Diese lektinähnlichen Proteine bilden durch eine Rezeptor-Liganden-Reaktion eine mechanische Verbindung aus (Kolenbrander und London, 1993; Rosan und Lamont, 2000). Darüber hinaus synthetisieren Mutans-Streptokokken spezielle extrazelluläre Glucane aus Saccharose. Die Ablagerung dieser Polysaccharide fördert den Zusammenhalt der Streptokokkenzellen untereinander und ermöglicht es ihnen zu akkumulieren (Gibbons, 1984; Kolenbrander und London, 1993; Rosan und Lamont, 2000). Streptococcus sobrinus zählt ebenfalls zur Mutans-Gruppe der Streptokokken und ist, wenn auch in geringerer Konzentration, in der kariogenen Plaque zu finden (Shellis, 2012, S. 25). Mit ähnlichen Eigenschaften wie die Mutans-Streptokokken trägt er ebenfalls zur Kariesbildung bei. Allerdings ist S. sobrinus nicht wie diese in der Lage direkt an die Pellikel zu binden, da er kein Adhäsin besitzt, das mit den Speichelkomponenten reagiert (Gibbons et al., 1986). Demzufolge ist die Bindung an die Pellikel geringer und unspezifisch. Hat diese jedoch stattgefunden kann sich S. sobrinus durch die Bildung von Glucanen in Gegenwart von Saccharose anreichern (Gibbons et al., 1986).

1.2.2 Laktobazillen

Die Laktobazillen (*Lactobacillus*) galten mehrere Jahrzehnte als die wahrscheinlichsten Pathogene für die Kariesentstehung (Beighton, 2005; Van Houte, 1994). Auch wenn ihre Bedeutung relativiert wurde, weisen die Laktobazillen ebenfalls wie die Mutans-Streptokokken

starke azidurische und azidogene Fähigkeiten auf. Beide Mikroorganismen zählen zu den einzigen, die bei pH-Werten von nur 4,5 weiterhin Säuren produzieren können, wobei die Laktobazillen sogar noch unterhalb dieses Wertes zur Säureproduktion in der Lage sind (Borgström et al., 1997). Sie gehören zur Standortflora des Speichels und sind grampositive, fakultativ anaerobe Bakterien der Ordnung der Milchsäurebakterien (Lactobacillales), die in der Lage sind, Glukose zu Milchsäure bzw. Laktat zu verstoffwechseln. Milchsäure besitzt einen pKs-Wert von 3,86 (bei 25 °C) und kann daher die kristalline Struktur der Zähne stark schädigen (Ekstrand und Zero, 2012, S. 4). Bereits ab einem pH-Wert < 5,5 kommt es zu Säure-Base-Reaktionen zwischen den Säureprotonen und dem Hydroxylapatit und somit einem Beginn der Demineralisation. Die Laktobazillen kolonisieren die kariösen Läsionen erst nach den Mutans-Streptokokken (Tanzer et al., 2001) und ihre Konzentration steigt mit der fortschreitenden kariösen Entwicklung der Läsionen an (Hemmens et al., 1946), sodass die Laktobazillen nicht bei der initialen Entstehung sondern bei der Kariesprogression von Bedeutung zu sein scheinen (Ikeda et al., 1973; Tanzer et al., 2001). Weiterhin kann die Anzahl der Laktobazillen als Indikator für den Zuckerkonsum und den Kohlenhydratgehalt der Nahrung des Patienten genutzt werden (Laurisch, 2009, S. 36).

1.2.3 Aktinomyzeten

Aktinomyzeten – vorwiegend *Actinomyces viscosus* – werden mit der Entstehung von Wurzelkaries in Verbindung gebracht (Ellen *et al.*, 1985; Syed *et al.*, 1975). Auch wenn sie ebenfalls in der Lage sind fermentierbare Kohlenhydrate zu verstoffwechseln, sind sie in geringerem Maße säurebildend und nicht so säuretolerant wie Mutans-Streptokokken (Ellen und Onose, 1978).

1.3 Oraler Biofilm

Der Organisation der oralen Mikroorganismen in der Mundhöhle zu Biofilmen kommt bei oralen Erkrankungen wie auch bei der Ätiologie der Karies eine wichtige pathogenetische Rolle zu. Die strukturierte Ansammlung der Mikroorganismen, die Fähigkeit der Anhaftung aneinander, an Schleimhäuten (shedding surface) und an Zahnoberflächen (non-shedding surface) (Marsh, 2005; Seneviratne et al., 2011) sowie eine hohe Resistenz gegen antimikrobielle Noxen (Stewart und Costerton, 2001) bieten den Mikroorganismen deutliche Vorteile gegenüber einer planktonischen Lebensform und erschweren zudem die therapeutische Entfernung (Folwaczny und Hickel, 2003).Definiert werden Biofilme als eine strukturierte

Gemeinschaft von Mikroorganismen, die eingeschlossen in einer selbst produzierten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen sind, und aneinander und/oder an Oberflächen beziehungsweise Grenzflächen haften (Costerton *et al.*, 1999). Biofilme bestehen neben den Mikroorganismen zum größten Teil aus Wasser. Die von den Mikroorganismen selbst produzierten extrazellulären polymeren Substanzen bilden in Verbindung mit dem Wasser ein Hydrogel. Diese schleimige Matrix bietet nicht nur die notwendige Stabilität für den Biofilm, sondern auch Schutz vor Austrocknung und antibakteriellen Noxen, wie auch die Sicherstellung eines bestimmten pH-Werts durch das Binden von Kationen (Costerton *et al.*, 1999; Flemming *et al.*, 2000).Die Biofilme organisieren sich in sogenannten Mikrokolonien, die sich meist aus zahlreichen unterschiedlichen Spezies der Mikroorganismen zusammensetzen. Diese Kolonien werden von einem Netzwerk von wasserführenden Kanälen durchzogen, welches einerseits das Vordringen von Nährstoffen in die tieferen Schichten und andererseits auch das Ausschleusen von toxischen Stoffwechselprodukten ermöglicht und die Homöostase innerhalb des Biofilms aufrecht erhält (Davey und O'toole, 2000).

Der auf dem Zahnschmelz gebildete Biofilm wird auch als dentale Plaque bezeichnet und enthält mehr als 500 bakterielle Spezies (Foster und Kolenbrander, 2004; Kroes et al., 1999; Paster et al., 2001). Die sogenannte Pellikel stellt den Ausgangspunkt der Bildung der dentalen Plaque dar. Schon nach wenigen Sekunden bildet sich auf einer gründlich gereinigten Zahnoberfläche ein 0,1-1 µm dünner Film: die Pellikel. Sie besteht vorwiegend aus den Proteinen des Speichels, wie sauren prolinreichen Proteinen, Glykoproteinen, Serumproteinen, Enzymen und Immunglobulinen (Hannig, 1997), welche aufgrund ihrer Eigenladung elektrostatisch an die Calciuminonen und Phosphatgruppen des Apatits der Zahnhartsubstanzen binden (Hay, 1973; Lendenmann et al., 2000). Grundsätzlich hat die Pellikel eine schützende Funktion. Als semipermeable Membran schützt sie die Zahnhartsubstanz vor einem Verlust von Calcium und Phosphat durch eine Reduktion des Ionenflusses sowie vor Säureeinflüssen. Somit wird die Demineralisation und eine resultierende Kariesentstehung verringert (Zahradnik et al., 1976). Weiterhin bietet die Pellikel Schutz vor Attritionen und Abrasionen durch eine Herabsetzung der Friktion. Neben diesen positiven Aspekten bildet sie allerdings den Ansatzpunkt für die Anheftung von Mikroorganismen und somit der Bildung der dentalen Plaque (Pruitt et al., 1969; Van Pelt et al., 1983).

Schon nach 3 Minuten konnten die ersten adhärente Mikroorganismen in der initialen Pellikel nachgewiesen werden (Hannig *et al.*, 2007). Zu diesen sogenannten Pionieren gehören vor

allem Streptokokken-Spezies wie S. sanguinis, S. oralis, S. mitis aber auch Gattungen wie unter anderem Actinomycen, Veillonella, Eikenella, Prevotella und Neisseria sind zu finden (Al-Ahmad et al., 2009; Diaz et al., 2006; Li et al., 2004; Nyvad und Kilian, 1987; Rosan und Lamont, 2000). Eine initiale Adhäsion der Mikroorganismen findet zunächst über hydrophobe Wechselwirkungen und elektrostatische Anziehung statt, die in der Regel allerdings nicht für eine Kolonisierung ausreichen. Für eine spezifische Adhäsion besitzen die Mikroorganismen – vor allem die oralen Streptokokken – Adhäsine auf ihrer Zelloberfläche, die eine Interaktion mit den Rezeptoren der Pellikel vermitteln (Gibbons, 1984; Gibbons, 1989). Nach der Etablierung der Pionierkeime findet eine Reifung des oralen Zellverbands statt. Diese findet durch (1) Koadhäsion (Adhäsion genetisch identischer Spezies), (2) Koaggregation (Anheften von Mikroorganismen genetisch unterschiedlicher Spezies) und (3) Teilung der bereits adhärenten Plaque statt (Kolenbrander, 1993). Weitere Mikroorganismen adhärieren zu einer mehrschichtigen Ansammlung. Traditionell nimmt das Fusobakterium nucleatum dabei eine besondere Rolle ein, da es als ein Brückenglied sowohl an frühe als auch an spätere Kolonisier binden kann. Es bietet nachfolgenden Mikroorganismen wie Porphyromonas gingivalis, Tanerella forsythensis und Aggregatibakter actinomycetemcomitans einen Ansatzpunkt (Periasamy und Kolenbrander, 2009). Mit zunehmender Dicke des Biofilms überwiegen anaerobe Verhältnisse, die zu einer Veränderung der Plaquezusammensetzung von überwiegend grampositiven Kokken hin zu grampositiven und gramnegativen Stäbchen und zuletzt auch Spirochäten führt. Im Laufe der Zeit gewinnt die Plaque einen immer anaeroberen Charakter (Löe et al., 1965).

Um einen so komplexen Vorgang wie die Bildung des Biofilms und eine Anpassung an die ständig wechselnden Umgebungsbedingungen zu koordinieren, findet zwischen den Mikroorganismen eine Kommunikation statt. Das sogenannte "quorum sensing" beschreibt den interzellulären Informationsaustausch der Mikroorganismen miteinander (Fuqua und Greenberg, 1998; Fuqua *et al.*, 1994). Es basiert auf einer kontinuierlichen Abgabe von chemischen Signalmolekülen, bei der die Regulation der Genexpression das oberste Ziel ist. Die Konzentration der Signalmoleküle nimmt bei einer zunehmenden Zelldichte zu und induziert bei Überschreiten eines Schwellenwertes die Transkription bestimmter Genprodukte (Juhas *et al.*, 2005; Surette *et al.*, 1999). So kann eine Änderung des Phänotyps erzielt werden.

1.4 Speichel

Der Speichel in seiner Gesamtheit bildet ein wichtiges natürliches Schutzsystem für die Mundschleimhaut und die Zähne. Er wird von drei großen paarigen Mundspeicheldrüsen (Glandulae parotidae, Glandulae submandibulares, Glandulae sublinguales) sowie von den 700 - 1000 (Schünke *et al.*, 2009, S. 191) kleinen solitären in der Mundschleimhaut (Glandulae salivariae minores) verstreuten Mundspeicheldrüsen produziert (Edgar *et al.*, 2004). Die täglich produzierte Speichelmenge liegt zwischen 0,7 bis 1,5 Liter. Es handelt sich hierbei um einen Mischspeichel der Sekrete der genannten Drüsen, die sich in ihrer Qualität sowie der Menge unterscheiden. Der Speichel ist für das orale Milieu mit seinen vielfältigen Funktionen unverzichtbar. Neben der stetigen Befeuchtung der gesamten Mundhöhle und der Nahrung, der Beeinflussung der Geschmacksempfindung, dem Aufrechterhalten des ökologischen Gleichgewichts übt er viele weitere wichtige und vor allem schützende Funktionen aus (Tabelle 1).

Tabelle 1: Überschicht über die verschiedenen Funktionen des Speichels

Funktion	Beteiligte Speichelkomponenten		
Spülfunktion (Clearance-Rate)	Gesamtflüssigkeit		
Pufferung von Säuren	Bikarbonat, Phosphat, Proteine		
(Re)-Mineralisation	Fluorid, Calicum, Phosphat, Statherin, Prolin-reiche Proteine		
Benetzung der Mundschleimhaut und der	Muzine, Glykoproteine		
Zähne			
antibakterielle Aktivität	Antikörper, Lysozym, Laktoferrin, Laktoperoxidase		
Andauung der Nahrung	Amylase, Protease		

Weiterhin spielt der Speichel als Kofaktor eine wichtige Rolle bei der Kariesentstehung und kann die drei von Keyes beschriebenen Faktoren (Wirt, Substrat, Mikroorganismen) beeinflussen (Dodds *et al.*, 2005).Der Speichel ist eine komplex zusammengesetzte Flüssigkeit, die zu über 99,5 % aus Wasser besteht und deren restlicher Anteil sich in organische und anorganische Bestandteile aufteilt. In der Mundhöhle mischt sich der Speichel mit Plaquefluid, Sulkusflüssigkeit und zellulären Bestandteilen wie Leukozyten, Erythrozyten und Epithelzellen (König, 1987).

1.4.1 Organische Bestandteile

Die wichtigsten organischen Bestandteile des Speichels sind Proteine, Glykoproteine und Enzyme, die den Hauptteil mit einer Gesamtmenge von 2 Gramm pro Liter ausmachen (Klimek,

2007). Eines der wichtigsten Enzyme des Speichels ist die α-Amylase. Sie sorgt für die hydrolytische Spaltung von Stärke und Glykogen und bildet somit den ersten Teil des Verdauungsprozesses. Die Enzyme Lysozym, Laktoferrin sowie Laktoperoxidase wirken antibakteriell, wobei Lysozym die Zellmembran der Bakterien zerstört und Laktoferrin das für das Bakterienwachstum notwendige Eisen bindet. Die Laktoperoxidase hingegen übt ihre antibakterielle Wirkung mit Hilfe des Laktoperoxidase-Thiocyanat-Wasserstoffperoxid-System aus. Das dabei gebildete Hypothiocyanat wirkt gegenüber Mutans-Streptokokken, Laktobazillen, Hefen, verschiedenen Anaerobiern und sogar Viren. Die Wirksamkeit wird allerdings von der Konzentration beeinflusst (Carlsson, 1980; Klimek, 2007). Das Glykoprotein Muzin ist für die Viskosität des Speichels verantwortlich. Die Muzine bilden eine schützende Schleimschicht, die das Epithel der Mundschleimhaut vor mechanischen Schäden wie auch vor dem Eindringen von Bakterien und Viren schützt. Weiterhin bilden sie einen Großteil des Pellikels (Hellwig et al., 2013a, S. 11; 30). Der Speichel gehört darüber hinaus auch zur körpereigenen Abwehr. Im Speichel kommen vor allem das sezernierte Immunglobulin A, Immunglobulin G und M vor. Das sekretorisches IgA hemmt die Adhäsion von Bakterien und IgG und IgM steigern die Phagozytose (Klimek, 2007). Ein hervorzuhebendes Phospholipiden ist das Statherin. Die Statherine sind tyrosinreiche Peptide, die indirekt eine wichtige Rolle im Kariesprozess spielen. Sie beeinflussen die Anheftung von Mikroorganismen an der Pellikel und hemmen durch ihre Phosphorinsequenz – die sehr stark an Calcium bindet – die Ausfällung sowie das Wachstum von Calciumphosphaten. Somit tragen sie zu einer Übersättigung des Speichels mit diesen Ionen bei (Moreno et al., 1979). Saure prolinreiche Glykoproteine haben eine ähnliche Wirkung (König, 1987; Moreno et al., 1979).

1.4.1.1 Speichelmikrobiom

Im Speichel finden sich zwischen 10^7 und 10^9 Bakterien pro Milliliter, die in einem Durchschnittswert 1,4 x 10^8 Bakterien pro Milliliter betragen (Lazarevic *et al.*, 2010a; Richardson und Jones, 1958). Lazarevic *et al.* (2010a) fanden in ihrer Übersichtsstudie sieben Hauptphyla, die in allen berücksichtigten Studien gefunden wurden (Keijser *et al.*, 2008; Lazarevic *et al.*, 2010b; Nasidze *et al.*, 2009; Zaura *et al.*, 2009). Diese teilten sie in drei Hauptkategorien ein: (1) *Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes* und *Actionbacteria* kamen sehr häufig vor (> 6 %), (2) *TM7* und *Fusobacteria* waren mäßig häufig (0,5 - 3,7 %) und (3) *Spirochaetes* hatten das geringste Vorkommen (0,022 - 0,34 %). Diese Erkenntnisse decken sich auch mit einer neueren Studie aus dem Jahr 2016, die ebenfalls die gleichen fünf

dominierenden Hauptphyla feststellten: Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes und Fusobacteria. Streptokokken, eine Gattung der Firmicutes, sind dabei eine der häufigsten aeroben Gattungen, die im Speichel gefunden wurden und machen ca. 80 % der Firmicutes aus (Leake et al., 2016). Das orale Mikrobiom besteht aus verschiedenen Nischen. Diese setzen sich aus abschilfernden weichen Oberflächen (shedding surface) – bukkale und palatinale Schleimhäute und dem Zungenrücken –, nicht abschilfernden Zahnoberflächen (nonshedding surface) - supra- und subgingivale Plaque - und dem Speichel zusammen. Die Diversität und der Artenreichtum unterscheiden sich zwischen diesen Nischen und zeigen Unterschiede zwischen Speichel und supragingivaler Plaque (Ren et al., 2017; Shi et al., 2018; Xu et al., 2015). Dabei weist das mukosale Mikrobiom die geringste und die Zahnplaque die höchste Vielfalt auf, während sich der Speichel zwischen beiden einreiht (Huttenhower et al., 2012; Keijser et al., 2008; Ren et al., 2017). Die vorherrschenden Phlya im Speichel sind dabei Firmicutes (Gattung Streptococcus und Veillonella) und Bacteroidetes (Gattung Prevotella), während in der supragingivalen Plaque Firmicutes und Actinobacteria (Gattung Corynebacterium und Actinomyces) wie auch Fusobacateria dominieren (Keijser et al., 2008; Shi et al., 2018). Studien zeigen, dass die supragingivale Plaque gleichmäßiger verteilt ist als das Mikrobiom des Speichels, welches wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass sich das Plaquemikrobiom auf einer nicht abschilfernden Zahnoberfläche akkumuliert und im Vergleich zum Speichel somit Zeit hat sich zu einer gleichmäßigen und komplexen Gemeinschaft zu entwickeln (Ren et al., 2017; Xu et al., 2015). Die fließende Eigenschaft des Speichelmikrobioms hingegen ist dynamischer als die der Plaque. Fábián et al. (2008) stellten die Hypothese auf, dass Mikroorganismen, die an den Zähnen und der Zunge haften, kontinuierlich in die Speichelflüssigkeit abgegeben werden, sowie dass Mikroorganismen, die sich den Zahnfleischtaschen befinden, ständig durch die Zahnfleischspaltflüssigkeit in den Speichel gespült werden. Demnach ist der Speichel ein Reservoir und ein Fingerabdruck des gesamten oralen Mikrobioms. Gleichwohl die oben genannten Ergebnisse die unterschiedliche mikrobielle Vielfalt zwischen Speichel und supragingivaler Plaque darlegen, zeigt sich in den Ergebnissen von Shi et al. (2018), dass das Speichelmikrobiom positive Assoziationen mit dem supragingivalen Mikrobiom aufweist. Die Assoziationen legen nahe, dass Speichelproben zur Überwachung des supragingivalen Mikrobioms geeignet sein können.

1.4.2 Anorganische Bestandteile

Die wichtigsten anorganischen Bestandteile sind Natrium, Kalium, Calicum, Phosphat, Chlorid, Magnesium, Hygrogenkarbonat und Fluorid, deren Konzentration stark von der Sekretionsrate beeinflusst wird. Der Speichel besitzt drei Puffersysteme: (1) Bikarbonat-Puffer, (2) Phosphat-Puffer und (3) Proteinpuffer. Gerade in der Mundhöhle kommt es durch die ständige Nahrungsaufnahme zu großen Schwankungen des pH-Wertes. Der pH-Wert des Speichels liegt im Ruhezustand zwischen 6.5 - 6.9 und bei der Stimulation zwischen 7.0 - 7.5(Ericsson, 1959). Die Puffersysteme müssen also in der Lage sein, kurzzeitig einen pH-Bereich vorwiegend im leicht sauren Milieu von 5 bis 7 abzudecken, da es bei einem Abfall des pH-Wertes unter 5,7 in Zusammenspiel mit anderen ungünstigen Faktoren zu Demineralisierung oder Erosionen des Schmelzes kommt (König, 1987). Der Bikarbonat-Puffer spielt bei der Neutralisation von Säuren in der Mundhöhle die wichtigste Rolle und somit auch während einer kariogenen Attacke (Dawes, 1969; Dawes, 1996; Hellwig et al., 2013a). Das pH-Optimum des Puffers liegt bei einem pH-Wert von 6,1 und ist somit günstig für die Abwehr von Säureangriffen. Der Pufferbereich erstreckt sich von 5,1 bis 7,1.Der Phosphatpuffer spielt bei der Pufferung von Säuren eine geringere Rolle. Er hat eine wichtigere Bedeutung zu den Ruheund Remineralisationszeiten, da er zu einer Übersättigung der Zahnumgebung mit Hydroxylapatit nach einer Demineralisation beiträgt (Hellwig et al., 2013a). Sein pH-Optimum liegt bei 7,1 und der Pufferbereich reicht von 6,1 bis 8,1. Das System des Proteinpuffers wurde bisher nur wenig untersucht. Einige Autoren gehen jedoch davon aus, dass die Wirkung des Puffers aufgrund der geringen Proteinkonzentration im Speichel und nur weniger vorhandener Aminosäuren mit sauren oder basischen Seitenketten, zu vernachlässigen ist (Dawes, 1996; Ericsson, 1959).

1.5 Kariesrisikobestimmung

Für eine gezielte und individuelle Kariesprävention ist die Bestimmung des individuellen Erkrankungsrisikos essentiell und ermöglicht eine gezielte Auswahl präventiver Maßnahmen (Twetman und Fontana, 2009). Dabei verfolgt die Kariesrisikobestimmung das Ziel, schon vor dem Auftreten beziehungsweise des Entstehens eines Schadens das Risiko zu erkennen und mit geeigneten Maßnahmen frühzeitig zu reagieren. Somit wird nicht die Karies an sich behandelt, sondern das Risiko modifiziert und eine Erkrankung möglicherweise vorzeitig verhindert (Laurisch, 2011). Das Kariesrisiko definiert sich durch die Wahrscheinlichkeit mit der ein Mensch in einem festgelegten Zeitraum neue kariöse Läsionen entwickelt. Hierfür ist

Voraussetzung, dass die Exposition mit beeinflussenden Faktoren in diesem Zeitraum stabil bleibt (Fontana und Zero, 2006; Hausen et al., 1994). Entsprechend des multifaktoriellen und dynamischen Prozesses der Kariesätiologie gibt es verschiedene Ansatzpunkte und somit verschiedene Parameter, die zur Prognose des Kariesrisikos herangezogen werden können. Als allgemeine Einflussfaktoren auf das individuelle Kariesrisiko können grundsätzlich folgende Gruppen differenziert werden: (1) zahnbezogene, (2) patientenbezogene und (3) behandlerbezogene Einflussfaktoren. Zahnbezogene Faktoren können etwa Zahnform, stellung und -struktur umfassen, während die behandlerbezogenen Faktoren von der Philosophie des jeweiligen Behandlers und der Qualität der restaurativen Versorgungen abhängen können. Patientenbezogene Faktoren stellen die größte Gruppe dar. Darunter lassen sich etwa folgende Einflussfaktoren zusammenfassen: Bruxismus/Knirschen, Art und Häufigkeit der häuslichen Zahnpflege (Abrasion), Antibiotikagabe während der Zahnbildung, Adhärenz/Compliance sowie die Ernährung. Bei der Ernährung spielen vorwiegend die Kariogenität der Nahrungsmittel aber auch die Häufigkeit der Aufnahmen und die Verweildauer von zuckerhaltigen Nahrungsmitteln in der Mundhöhle eine wichtige Rolle (Gustafsson et al., 1954; Imfeld, 1977; Scheinin et al., 1975; Zimmer, 2000). Auch eventuelle Komorbitäten der Patienten können das jeweilige Kariesrisiko beeinflussen. Systemische Erkrankungen sowie erforderliche Medikationen können Einfluss auf das orale Mikrobiom, den Speichel sowie die manuellen Fähigkeiten haben. Eine Radiation im Kopf-Hals-Bereich kann zu Strahlenkaries führen. Bei Senioren und Patienten mit besonderen Erfordernissen, die auf selbst Pflegepersonal angewiesen beeinflussen diese das Kariesrisiko. sind, Grundsätzlich sollte die Begrifflichkeit des Risikofaktors und des Risikoindikators beachtet einem Risikofaktor handelt es sich um einen umweltbezogenen, verhaltensbedingten oder biologischen Faktor, der eine essentielle Rolle bei der Entwicklung der Karies spielt. Er stellt einen Teil der Kausalkette dar und erhöht bei seinem Vorkommen beziehungsweise verringert bei seiner Abwesenheit das Erkrankungsrisiko (Beck, 1998; Twetman und Fontana, 2009). Allerdings sollte bei dieser Definition beachtet werden, dass eine Exposition des Risikofaktors schon bevor es zu einem Ergebnis – der Krankheit – gekommen ist, bestanden haben muss. Somit sind für den sicheren Nachweis von Risikofaktoren prospektive Studien notwendig. Dies bedeutet weiterhin, dass in einer Querschnittstudie oder einer retrospektiven Studie kein Nachweis eines Risikofaktors erbracht werden kann. Es wird dann von einem Risikoindikator gesprochen, der einen potentiellen Risikofaktor darstellt könnte (Beck, 1998; Burt, 2005).

Eine weitere Begrifflichkeit in diesem Zusammenhang ist der Risikoprädiktor beziehungsweise Risikomarker. Es handelt sich um einen Parameter, der mit einem erhöhten Krankheitsrisiko verbunden ist, jedoch nicht einen Teil der Kausalkette bildet. In der Regel handelt es sich um Nebenprodukte der Kausalkette – meist als Risikomarker – oder Ereignisse, wie beispielsweise eine erhöhte Anzahl an fehlenden Zähnen oder das bisherige Kariesvorkommen. Somit sind diese Parameter nützlich, um eine mögliche Gefährdung des Patienten festzustellen, aber nicht um eine geeignete Intervention zu bestimmen (Beck, 1998). Die bisherige Karieserfahrung ist bis heute, trotz der Bemühungen mit verschiedenen Parametern das Kariesrisiko vorherzusagen, der genaueste Einzelparameter für ein zukünftiges Kariesvorkommen (Ewoldsen und Koka, 2010; Heinrich-Weltzien et al., 1998, S. 189; Mejàre et al., 2014; Powell, 1998; Raitio et al., 1996; Schwendicke, 2013; Twetman und Fontana, 2009; Zero et al., 2001). Sie fasst die Gesamtauswirkung aller Risikofaktoren zusammen, denen der Patient ausgesetzt war. Da es hierbei jedoch bereits zu Schäden der Zahnhartsubstanz gekommen ist, kommt dieses Verfahren für eine frühzeitige Erkennung (Seppä und Hausen, 1988) und einer entsprechenden Prophylaxe zu spät und begrenzt die Brauchbarkeit des Prädiktors bei kariesfreien Patienten – insbesondere Kindern (Heinrich-Weltzien et al., 1998, S. 191). Das Vorkommen von initial kariösen Läsionen hat ebenfalls ein bemerkenswertes Vorhersagepotential und stellt einen zuverlässigen Prädiktor des Kariesrisikos in beiden Dentitionen dar (Klock und Krasse, 1979; Seppä und Hausen, 1988; Steiner et al., 1992). Für die Kariesrisikobestimmung werden weitere Parameter berücksichtigt.

1.5.1 Verfahren zur Kariesrisikobestimmung

Allgemein sollten – wie auch bei anderen Testverfahren – die Diagnostikmethoden zur Kariesrisikobestimmung eine hohe diagnostische Güte aufweisen. Diese wird vor allem durch die Validität (Gültigkeit) und Reproduzierbarkeit des Verfahrens beschrieben. Die Validität beschreibt dabei die Genauigkeit, mit der eine Risikoprognose erfolgt und wird mittels der Parameter Spezifität und Sensitivität angegeben. Die Spezifität bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, mit der ein diagnostischer Test einen Gesunden als gesund einstuft und die Sensitivität die Wahrscheinlichkeit, mit der ein diagnostischer Test einen Kranken als krank diagnostiziert (Zimmer *et al.*, 2008). Beide Werte werden in Prozent angegeben. Nach Stamm *et al.* (1992) sollte für ein funktionierendes Modell zur Kariesvorhersage die Sensitivität 75 % oder höher und die Spezifität wenigstens 85 % betragen. Daher empfiehlt sich für ein

aussagekräftiges Modell zur Kariesrisikobestimmung, dass diese beiden Parameter in Kombination 160 % ergeben.

1.5.1.1 Klinische Parameter

Die Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege (DAJ) hat entsprechend der bisherigen Karieserfahrung Kriterien zur Erkennung des Kariesrisiko für Kinder bis 12 Jahren angegeben. Dabei wurden altersspezifisch bestimmte dmf-t-/DMF-T/S-Werte als Grenzwerte festgelegt, oberhalb der ein erhöhtes Kariesrisiko vorliegt (Tabelle 2). Eine Bestimmung des Kariesrisikos von bisher kariesfreien Kindern ist hierbei allerdings nicht möglich. Der dmf-t-/DMF-T/S-Index gibt die Anzahl an kariösen (engl.: Decayed), fehlenden (engl.: Missing) und gefüllten (engl.: Filled) Zähnen (engl.: Tooth) beziehungsweise Zahnoberflächen (engl.: Surfaces) an und ist seit Jahrzehnten ein weltweit verwendeter und vergleichbarer Messwert. Zwar gibt der DMF-T-Index Auskunft über den vorangegangenen Zerstörungsgrad der Zähne, dieser muss allerdings nicht in Zusammenhang mit der bisherigen Karieserfahrung stehen (Laurisch, 2009, S. 23). Die Früherkennungsuntersuchung (FU) für 2- bis 6-jährige Kinder basiert ebenfalls auf der Definition der Kariesrisikobestimmung der DAJ.

Tabelle 2: Bestimmung von Kindern mit hohem Kariesrisiko im Rahmen der gruppenprophylaktischen Reihenuntersuchungen nach den Kriterien der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege (DAJ, Stand 2012)

Alter	dmf-t/DMF-T/S - Index
Bis 3 Jahre	nicht kariesfrei, dmf-t > 0
4 Jahre	$dmf-t \ge 2$
5 Jahre	$dmf-t \ge 4$
6 bis 7 Jahre	dmf-t, DMF-T > 5 oder DT > 0
8 bis 9 Jahre	dmf-t, DMF-T > 7 oder DT > 2
10 bis 12 Jahre	DMF-S > 0 an Approximal- und Glattflächen

Mit der Dentoprog-Methode entwickelte in den 1990er Jahren die Schweizer Arbeitsgruppe um Marthaler (1991; 1990) eine Methode zur Früherkennung von kariesgefährdenden Kindern. Hierbei wurde erstmals die Gesundheit als ein Prädiktor verwendet. In einer vierjährigen Längsschnittstudie wurden verschiedene mögliche Prädiktoren erhoben und ermittelt in welcher Kombination die beste Vorhersage für den später eingetretenen Karieszuwachs getroffen werden konnte. Bei der Methode werden daher die Anzahl der gesunden Milchmolaren sowie die verfärbten Fissuren und Initialläsionen "white spots" an oralen und vestibulären Glattflächen der ersten bleibenden Molaren einbezogen und altersspezifisch in

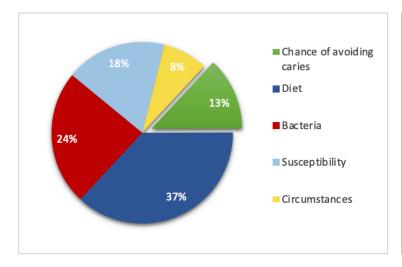
einer mathematischen Formel angegeben. Für eine einfache Handhabung wurde ein Schieber entwickelt, bei dem die klinisch erhobenen Parameter angegeben werden und das Risiko abgelesen werden kann. Ein Dentoprog-Wert von 0 bedeutet ein minimales Risiko und der Maximalwert von 100 % zeigt ein hohes Karieserkrankungsrisiko an. Die Dentoprog-Methode hat eine Sensitivität von 70 % und eine Spezifität von 77 % (Zimmer, 2012). Der Nachteil des Verfahrens beruht auf seiner Beschränkung auf Kinder im Alter von 6 bis 12 Jahren.

Das Cariogram ist ein computerbasiertes Modell, das die Interpretation biologischer Daten und deren Interaktion erleichtert und das individuelle Kariesrisiko des Patienten graphisch in einem Tortendiagramm darstellt. Es vereint viele prädiktorische Faktoren gleichzeitig und wird somit der Karies als multifaktorieller Prozess gerecht. Die Faktoren – vorwiegend biologische Faktoren – werden mittels eines Algorithmus, der sie entsprechend gewichtet, ausgewertet. Wobei diese Gewichtung aufgrund fehlender valider Kriterien kritisch diskutiert wird (Celik *et al.*, 2012; Giacaman *et al.*, 2013). Darüber hinaus drückt das Cariogram das Ausmaß der einzelnen ätiologischen Faktoren aus, die individuell das Kariesrisiko des Patienten mitbestimmen und ermöglicht so die Möglichkeit gezielte Strategien auszuwählen (Bratthall und Hänsel Petersson, 2005).

Die prädiktorischen Faktoren werden in vier Bereiche des Tortendiagramms zusammengefasst (Abbildung 2):

- "Bacteria" (deut.: Bakterien) roter Bereich
 Kombination aus Plaquemenge und der Konzentration von Mutans-Streptokokken im Speichel
- "Diet" (deut.: Ernähung) dunkelblauer Bereich
 Kombination der Ernährungsqualität (Zuckermenge) und der
 Ernährungsgewohnheiten (Zuckerfrequenz)
- "Susceptibility" (deut.: Anfälligkeit / Empfänglichkeit) hellblauer Bereich Kombination der Fluoridanwendung, der Speichelsekretion und der Speichel-Pufferkapazität
- "Circumstances" (deut.: Begleitumstände) gelber Bereich Kombination der Karieserfahrung und der vorhandenen Allgemeinerkrankungen

Ein fünfter Bereich "Chance of avoiding caries" (grüner Bereich) beschreibt die Chance, das Vorkommen von Karies zu vermeiden und dementsprechend im Umkehrschluss das Kariesrisiko (Bratthall und Hänsel Petersson, 2005)



Caries relevant factors		
Caries experience	2	0-3
Related diseases	0	0-3
Diet contents	3	0-3
Diet frequency	3	0-3
Plaque amount	2	0-3
Mutans streptococci	2	0-3
Fluoride program	2	0-3
Saliva secretion	0	0-3
Buffer capacity	1	0-3
Clin. judgement	1	0-3

Abbildung 2: Beispiel einer Analyse mittels des Cariograms, welches ein hohes Kariesrisiko anzeigt, da die "Chance of avoiding caries" nur bei 13 % liegt (Quelle: L.-S. Reissfelder nach Bratthall und Hänsel Petersson, 2005)

Mit dem Plaque Formation Rate Index (PFRI, deut.: Index der Plaquebildungsrate) verfolgte Axelsson (1990; 1991) einen anderen Weg zur Kariesrisikobestimmung. Der PFRI beschreibt die Geschwindigkeit mit der sich Plaque an einer 24 Stunden zuvor professionell gereinigten Zahnoberfläche bildet. Dafür wird die Plaqueentstehung an sechs definierten Stellen des Zahnes mit Ausnahme der Kaufläche (bukkal, mesio- und disto-bukkal, oral, mesio- und disto-oral) beurteilt und in folgender Einteilung zusammengefasst (Tabelle 3). Das Vorliegen des Grades III, IV oder V weist auf ein erhöhtes Kariesrisiko hin (Axelsson, 1990; Axelsson, 1991).

Tabelle 3: PFRI-Einteilung in 5 Gruppen

Grad	PFRI in %
I	1-10
II	11-20
III	21-30
IV	31-40
V	> 40

Für eine verbesserte Vorhersage ergänzte Axelsson (1994) seine Methode um die Bestimmung der Anzahl von Mutans-Streptokokken.

Tabelle 4: Schema zur Bewertung des Mutans-Streptokokken-Tests

Grad	Anzahl Mutans-Streptokokken
0	negativ
1	< 0,5 Millionen Keime pro ml Speichel
2	> 0,5 Millionen Keime pro ml Speichel

Aus der Kombination beider Tests ergibt sich ein Schema zur Kariesvorhersage und Einteilung der Patienten in Risikogruppen (Abbildung 3). Patienten, bei denen keine Mutans-Streptokokken nachgewiesen wurden, wurde nach Axelsson ein niedriges Kariesrisiko zugeordnet. Beim Nachweis von Mutans-Streptokokken stellen Grad I-II ein niedriges und Grad III-V ein mittleres Risiko dar. Bei einer Kombination des fünften PFRI-Grads mit einem hohen Vorkommen an Mutans-Streptokokken wurde ein hohes Kariesrisiko angenommen.

SM/ml	PFRI-Grad				
	1	II	III	IV und V	
0	kein Risiko 25%				
< 0,5 Millionen	Ris	riges iko)%	mittleres Risiko 20%		
> 0,5	30	770			hohes
Millionen					Risiko 5%

Abbildung 3: Kombination des PFRI-Tests mit der Anzahl der Mutans-Streptokokken pro Milliliter Speichel (SM/ml) zur Bestimmung eines individuellen Kariesrisikos (Quelle: L.-S. Reissfelder nach Axelsson, 1990)

1.5.1.2 Nichtbakterielle Speichelparameter

Als nichtbakterielle Speichelparameter im Rahmen der Kariesrisikobestimmung werden in der Regel quantitative und qualitative Parameter wie die Speichelflussrate, die Pufferkapazität und der pH-Wert bestimmt. Ein stimulierter Speichelfluss hat nach dem Modell von Dawes eine Auswirkung auf die Clearance des Speichels und verdünnt und entfernt somit kariogene und saure Bestandteile aus der Mundhöhle (Dawes, 1983). Auch wenn Studien zeigten, dass es bei einer pathologisch bedingten chronisch niedrigen Speichelflussrate zu einer drastischen Erhöhung des Kariesvorkommens kommt (Dreizen *et al.*, 1977) und diese somit einen starken Indikator für ein erhöhtes Kariesrisiko darstellt, konnten im Umkehrschluss nur extrem niedrige Werte für den Zusammenhang der Speichelflussrate und Karies ermittelt werden (Dawes, 1998, S. 152; Shannon und Terry, 1965). Der Parameter einer pathologisch chronisch niedrigen Speichelflussrate hat nur eine geringe Sensitivität von 20 % und eine Spezifität von 80 %. Daher

ist es nicht überraschend, dass bei gesunden Patienten nur geringe bis keine Vorhersagen gemacht werden können (Leone und Oppenheim, 2001). Für die Pufferkapazität wurde, auch wenn sie mittels kommerziell erhältlichen Teststreifen einfach bestimmt werden kann, bislang keine signifikante Beziehung zum Kariesrisiko gefunden (Alaluusua *et al.*, 1990; Scheinin *et al.*, 1992, S. 225; Stößer *et al.*, 1998). Auch sie weist – wie eine niedrige Speichelflussrate – bei einer Erniedrigung gleiche Werte für die Sensitivität und Spezifität auf (Leone und Oppenheim, 2001). Für den Speichel-pH-Wert konnte ebenfalls keine signifikante Verbindung zum Kariesrisiko festgestellt werden (Stößer *et al.*, 1998, S. 225). Insbesondere wenn der Speichel-pH-Wert unabhängig von der Pufferkapazität betrachtet wird, erweist er sich als relativ schlechter Indikator für die Kariesrisikobestimmung (Leone und Oppenheim, 2001). Somit eignen sich die nichtbakteriellen Speichelparameter für die Prognose der Erkrankungswahrscheinlichkeit nur geringfügig und bedürfen für eine bessere Aussagekraft eine Verknüpfung mit anderen Parametern wie beispielsweise bakteriellen Prädiktoren.

1.5.1.3 Mikrobiologische Parameter

Es wurde nachgewiesen, dass eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der Mutans-Streptokokken sowie der Laktobazillen in der Plaque und dem Speichel besteht. Demnach spiegelt ein mikrobiologischer Speichelbefund die Situation in der Zahnplaque annähernd wider und rechtfertigt den Einsatz von Speicheltests zur Beurteilung der Kariogenität der Plaque (Kneist et al., 1998a, S. 232; Mundorff et al., 1990; Shi et al., 2018). Es sind verschiedene Tests auf dem Markt vorhanden, um kariesassoziierte Keime nachzuweisen. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht über die kommerziell erhältlichen Tests zur Kariesrisikobestimmung. Die Testverfahren zur Kultivierung der bestimmten Leitkeime nutzen vorgefertigte Nährbodenträger, wie ein Mitis-Salivarius-Bacitracin-Agar bzw. Rogosaagar für die Routinediagnostik der Mutans-Streptokokken bzw. der Laktobazillen (Gold et al., 1973; Rogosa et al., 1951). Der Mitis-Salivarius-Agar enthält Bacitracin, gegen die die Mutans-Streptokokken eine hohe Resistenz zeigen und somit ihr Nachweis verbessert wird (Gold et al., 1973). Die Selektivität der Laktobazillen wird beim Rogosaagar durch den niedrigen pH-Wert des Mediums und die Präsenz von Natriumacetat und Ammoniumcitrat bestimmt (Rogosa et al., 1951). Die ersten kommerziell erhältlichen Tests um die Leitkeime auch bei der zahnärztlichen Routinediagnostik nachzuweisen, waren die Tests von Dentocult® (Orion Diagnostica, Espoo/Finnland). Der Nachweis der Mutans-Streptokokken (Dentocult® SM Strip Mutans) erfolgt hierbei mit einem Spatel, mit dem die Speichelprobe entnommen und dieser

anschließend in einer Nährlösung aus Mitis-salivarius-Bouillon inkubiert wird (Jensen und Bratthall, 1989). Beim Dentocult® LB wird eine Speichelprobe auf eine Trägerplatte mit Rogosaagar gegeben und nach der Inkubation die Anzahl der Laktobazillen abgelesen (Larmas, 1975). Der CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent, Ellwangen) und der CarioCheck® SM/LB plus (Hain Lifescience, Nehren) vereinfachten die Anwendung durch einen doppelte Trägerplatte (Dip-Slide-Technik), die eine gleichzeitige Inkubation der beiden Leitkeime ermöglicht (Zimmer und Seemann, 2000).

Ein weiterer Test zur Kariesrisikodiagnostik ist der biochemische Schnelltest Clinpro™ Cario L-Pop™ (3M ESPE, Seefeld). Bei diesem Test handelt es sich nicht um einen reinen Speicheltest, da die Probeentnahme auf dem Zungenrücken entnommen wird. Im Vordergrund des Testverfahrens steht der Nachweis von Milchsäure, die von kariogenen Mikroorganismen nach Aufnahme von Zucker gebildet wird und verantwortlich für den Demineralisationsprozess ist (Van Houte, 1994). Somit beschränkt sich dieser Test nicht auf die Identifizierung und Anzahl der kariogenen Mikroorganismen, sondern umfasst auch die Bestimmung der Milchsäurebildungsrate und somit deren Stoffwechselaktivität. Eine erhöhte Stoffwechselaktivität kann anhand eines Farbumschlags des Indikatorstäbehens abgelesen werden und soll nach Angaben der Firma mit dem erhöhten Potenzial der Mikroorganismen, eine Karies zu verursachen, korreliere (3M ESPE, 2003).

Tabelle 5: Übersicht über kommerziell erhältliche Speicheltests zur Kariesrisikodiagnostik (nach Heckl, 2007)

Untersuchte Parameter	Handelsname des Tests	Testverfahren	Dauer
	(Hersteller)		
Pufferkapazität des Speichels	BuffCheck®	pH-Wert-Bestimmung	Sofort
	(Hain Lifescience, Nehren)	nach Säurestimulation	
	Dentobuff®		
	(Orion Diagnostica, Espoo/ Finnland)		
Pufferkapazität des Speichels	CRT buffer	pH-Wert-Bestimmung	Sofort
	(Ivoclar Vivadent, Ellwangen)		
Pufferkapazität des Speichels	Dentocult	pH-Wert-Bestimmung	Sofort
	(Orion Diagnostica, Espoo/ Finnland)		
Streptococcus-mutans	Dentocult SM Strip mutans,	Spatel-Methode	2 Tage
	Dentucult SM Site Strips		
	(Orion Diagnostica, Espoo/Finnland)		
Laktobazillen	Dentocult LB	dip-slide	4 Tage
	(Orion Diagnostica, Espoo/ Finnland)		

Streptococcus-mutans	CRT bacteria	dip-slide, doppelseitig	2 Tage
Laktobazillen	(Ivoclar Vivadent, Ellwangen)		
Streptococcus-mutans	CarioCheck-Plus	dip-slide, doppelseitig	2 (-3)
Laktobazillen,	(Hain Lifescience, Nehren)		Tage
Salivationsrate,			
Pufferkapazität,			
Plaquebildungsindex			
Streptococcus-mutans,	LCL-Karies-Test	2 Phasen:	10
Pufferkapazität	(LCL biokey, Aachen)	1. Gensonde	Tage
		2. PCR	
		Glycosyltransferase	
Milchsäureaktivität	Clinpro™ Cario L-Pop™	Bestimmung der Laktat-	Sofort
der Bakterie	(Fa. 3M ESPE, Seefeld)	dehydrogenaseaktivität	

Einer Stellungnahme der DGZMK zufolge sind "Weder ein einzelner Speicheltest noch die Gesamtheit der heute kommerziell angebotenen Speicheldiagnostika [...] in der Lage, das Kariesrisiko einer Einzelperson hinreichend genau vorherzusagen" (Reich und Bößmann, 1994). Die Effizienz der Speicheldiagnostik zur Kariesrisikodiagnostik wird bis heute kontrovers diskutiert. Problematisch ist hier zunächst, dass die meisten Speicheltests häufig nur einmalig durchgeführt werden und die Ergebnisse folglich mit einem hohen Zufallsrisiko behaftet sind. Zudem stellt die unklare Abgrenzung, ab wann ein erhöhtes Kariesrisiko besteht, 1998, ein Problem dar (Bößmann, S.158-159; Reich und Bößmann, 1994). Gleichwohl ist der kariogene Charakter der Mutans-Streptokokken sowie ihre bedeutende Rolle Kariesinitiation und -progression nachgewiesen (Loesche, Diese Erkenntnis lässt sich aus folgenden Fakten ableiten: (1) die gehäufte Isolation von Mutans-Streptokokken aus kariösen Läsionen (Duchin und Van Houte, 1978; Takahashi und Nyvad, 2008), (2) die durch Mutans-Streptokokken induzierte Kariesbildung bei Tieren nach Gabe einer saccharosehaltigen Kost (Orland et al., 1955), (3) die stark azidurische und azidogene Fähigkeit der Mutans-Streptokokken (Hamada und Slade, 1980), sowie (4) ihre Fähigkeit zum Anhaften an Zahnoberflächen sowie untereinander (Gibbons, 1984; Kolenbrander und London, 1993; Rosan und Lamont, 2000). Zudem zeigten verschiedene Studien, dass bei Kindern, die hohe Zahlen an Mutans-Streptokokken im Speichel aufwiesen, ein hoher Kariesbefall festgestellt wurde (Alaluusua und Rekonen, 1983; Kneist et al., 1998b, S. 201, S. 210; Thenisch et al., 2006). Darüber hinaus belegt eine Untersuchung zum Cariogram von 2010, dass die Genauigkeit der Kariesvorhersage beim Verzicht auf die Bestimmung der Anzahl der Mutans-Streptokokken signifikant

beeinträchtigt wird. Daraus ließe sich schließen, dass die Anzahl der Mutans-Streptokokken der wichtigste Speichelparameter sei (Petersson al., 2010). et Dennoch wird eine absolute Beziehung der Mutans-Streptokokken und der Karies von einigen neueren Studien in Frage gestellt. Dies liegt darin begründet, dass Mutans-Streptokokken nicht in allen Fällen in der kariesassoziierten Plaque nachgewiesen wurden und diese im Gegenzug auch bei kariesfreien Patienten vorkommen (Aas et al., 2008; Kleinberg, 2002; Takahashi und Nyvad, 2008). Aas et al. (2008) zeigten, dass bei 10 % der untersuchten Patienten, die ausgeprägte kariöse Läsionen aufwiesen, keine Konzentrationen von Mutans-Streptokokken nachgewiesen werden konnten. Bislang stand in der Kariesrisikodiagnostik die Bestimmung der Art der Mikroorganismen sowie deren Anzahl im Vordergrund. Demnach kann die Bestimmung des Säurebildungspotentials der Mikroorganismen in ihrer Gesamtheit wertvolle Hinweise für die Kariesrisikodiagnostik liefern. Aus einem Blickwinkel der ökologischen Plaquehypothese stellt diese Vorgehensweise zur Kariesrisikodiagnostik – aufgrund eines direkten Einflusses auf die Verschiebung der Homöostase – einen interessanten Ansatzpunkt dar, der noch weiterer Erkenntnisse für eine verbesserte Bestimmung des Kariesrisikos bedarf.

1.6 Zielsetzung der Studie

Ziel der vorliegenden Studie ist die Bestimmung des Säurebildungspotentials im Speichel von naturgesunden und an Karies erkrankten Probanden im Vergleich zu verschiedenen kommerziellen Speicheltests sowie der Sequenzierung des Speichelmikrobioms.

1.6.1 Hypothese

Es wird vermutet, dass Probanden mit einem erhöhten intraoralen Säurebildungspotential mehr kariespathogene und kariesassoziierte Keime im Speichel aufweisen als Probanden ohne erhöhtes intraorales Säurebildungspotential.

Als Nullhypothese ergibt sich somit, dass Probanden, die kein erhöhtes intraorales Säurebildungspotential aufweisen weniger kariespathogene und kariesassoziierte Keime im Speichel aufweisen als Probanden mit erhöhtem intraoralem Säurebildungspotential.

Methoden und Material 24

2 Methoden und Material

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine explorative Pilotstudie, die im Rahmen kontrollierten Querschnittsuntersuchung an der **Poliklinik** Zahnerhaltungskunde der Klinik für Mund-, Zahn- und Kieferkrankheiten am Universitätsklinikum Heidelberg durchgeführt wurde. Nach der Vorlage eines positiven schriftlichen Votums (Kennzeichen S-389 / 2017) der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg am 27.07.2017 (siehe Anhang) wurde mit der Rekrutierung der Probanden und der Datenerhebung begonnen. Alle zahnmedizinischen Untersuchungen wurden von derselben Zahnärztin (L-S. Reissfelder) durchgeführt und fanden im Zeitraum von Januar 2018 bis April 2019 statt. Die Daten der Probanden sowie alle vertraulichen (Patienten-)Informationen unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht, den Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes und wurden seit dem 25. Mai 2018 nach der europäischen Datenschutz-Grundverordnung besonders geschützt (Bewilligung der nachträglichen Änderung im Rahmen der DSGVO der Ethikkommission mit einem Amendment vom 11.05.2018 siehe Anhang). Dritten wird kein Einblick in die Probandenunterlagen gewährt und die für die statistische Auswertung erforderliche Datenweitergabe wird in einer anonymisierter Form durchgeführt.

2.2 Auswahl der Probanden

Die Studie umfasste zwei Untersuchungsgruppen mit jeweils n = 25 Probanden. Die Probanden wurden an der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde der Klinik für Mund-. Zahnund Kieferkrankheiten am Universitätsklinikum Heidelberg rekrutiert und umfassten Patienten/innen, Mitarbeiter/innen und Studierende der Klinik. Die Teilnahme der Probanden an der Studie war freiwillig und ihre Zustimmung konnte zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen zurückgezogen werden. Nach der Erhebung einer Anamnese und der Durchführung eines zahnärztlichen Befundes konnten die Probanden den zwei Untersuchungsgruppen "Gesund" und "Karies" zugeteilt werden. Bei den Probanden der "Gesund"-Gruppe handelte es sich um naturgesunde Patienten, die bislang keinerlei Karieserfahrung aufweisen und bei denen somit keine invasiven restaurativen zahnmedizinischen Behandlungen aufgrund von Karies durchgeführt wurden. Im Rahmen der Studie sind das Vorhandensein von individualprophylaktischen konservativen Behandlungen in Form von Fissurenversieglungen sowie inaktiven initialkariösen Läsionen keine Ausschlusskriterien. Hierbei wurden allerdings

Methoden und Material 25

strikt zwischen den initialkariösen Läsionen unterschieden. "White spots" mit einer opaken, kreidigen Oberfläche wurden der aktiven Karies zugeordnet, während "white spots" mit einer intakten, glatten und glänzenden Oberfläche sowie "brown spots" als inaktive Karies gewertet wurden. Eine Röntgendiagnostik wurde bedarfsgerecht und unter Berücksichtigung einer rechtfertigenden Indikation durchgeführt. Als Vergleichsgruppe wurden für die "Karies"-Gruppe Probanden mit mindestens einer aktiven kavitierten Dentinkaries gewählt.

Für die Studie wurden folgende Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt:

2.2.1 Einschlusskriterien

- Proband/in ist einwilligungsfähig
- Proband/in hat die Einverständniserklärung unterschrieben
- Proband/in ist über 18 Jahre
- Proband/in weist einen DMF-T-Wert = 0 oder (Gruppe "Gesund")
- Proband/in weist einen DMF-T-Wert > 0 und eine aktive kavitierte Dentinkaries auf (Gruppe "Karies")

2.2.2 Ausschlusskriterien

- Hyposalivation bedingt durch:
 - Systemische Erkrankungen (Sjögren-Syndrom, Speicheldrüsenerkrankungen, Diabetes mellitus, neurologische Erkrankungen)
 - Tumore, OPs und /oder Bestrahlungen im Kopf-Hals-Bereich
 - Psychologische Störungen
 - Medikamente mit antisialogem Effekt (z.B. Psychopharmaka, Appetitzügler, blutdrucksenkende Mittel, Antihistaminika, Diuretika, Zytostatika)
 - Vermindertes Kauvermögen
- Einnahme eines Antibiotikums in den letzten 14 Tagen
- Verwendung antibakterieller Mundspüllösungen in den letzten 12 Stunden
- Rauchen oder Kaugummi kauen 2 Stunden vor der Untersuchung
- Essen oder trinken direkt vor der Untersuchung

2.3 Datenerhebung

Bei allen Probanden wurde eine standardisierte klinische Untersuchung durchgeführt. Die Untersuchungen beinhalteten neben einer zahnärztlichen Befunderhebung die Durchführung von Speicheltests und die Probengewinnung zur Mikrobiomsequenzierung. Zu Beginn der Untersuchung wurden die Probanden in einem Eingangsgespräch mündlich und schriftlich über den Studienablauf, das Ziel der Studie und mögliche Risiken für den Probanden aufgeklärt. Alle Probanden hatten eine Einverständniserklärung unterschrieben.

2.3.1 Zahnärztlicher Befund

Die Erhebung des zahnärztlichen Befundes umfasste eine extra- und intraorale Untersuchung. Bei der extraoralen Befunderhebung wurden Strukturen außerhalb des Mundraumes wie Kaumuskulatur, Lymphknoten und Nervenaustrittspunkte beurteilt. Bei der intraoralen Untersuchung wurde neben der visuellen und taktilen Inspektion der weichen und knöchernen Gewebe des Mundraumes vorwiegend das Augenmerk auf die Erhebung eines vollständigen Zahnstatus gerichtet. Die Erhebung des Zahnstatus umfasste eine Sensibilitäts- und Perkussionsprüfung der Zähne sowie eine systematische Erfassung des Gebisszustandes mit der Erhebung des DMF-T-Index. Bei der Erhebung des DMF-T-Index wurden nach Klein et al. (1938) 28 Zähne berücksichtigt und im Fall, dass ein Zahn sowohl eine Restauration als auch eine kariöse Läsion aufwies, wurde die kariöse Läsion gewertet. Entsprechend des DMF-T-Index konnten die Probanden bei einem Wert gleich null der naturgesunden Gruppe und bei einem Wert größer null der an Karies erkrankten Gruppe zugeteilt werden. Weiterhin wurden zur Beurteilung von Entzündungen der Gingiva beziehungsweise des Zahnhalteapparats zwei Sondierungstiefen mesio- und disto-bukkal jedes Zahnes erhoben. Die Stellen, die eine Blutung als Folge der Sondierung aufwiesen, wurden in Form des "Bleeding-on-Probing"-Index vermerkt. Zur weiteren Einschätzung des möglichen Entzündungsgrads der Gingiva wurde der Blutungsindex nach Ainamo und Bay (1975) erhoben. Hierbei werden nach dem Ausstreichen des Zahnfleischsulkus mit einer genormten Parodontalsonde (WHO-Sonde) die marginalen Blutungen am Zahnfleischrand an vier Stellen erfasst und dokumentiert. Der Index-Wert kann durch das Verhältnis der Anzahl der blutenden Stellen zur Anzahl der insgesamt gemessenen Stellen errechnet werden. Weiterhin wurde für die Erfassung der Anhaftung von Plaque an den Zähnen der Plaqueindex "Plaque Control Record" durchgeführt (O'Leary et al., 1972). Die Anfärbelösung Mira-2-Ton® (Hager & Werken GmbH & Co. KG; Duisburg Deutschland) wurde mittels eines Wattestäbchens nach der Trocknung der Zähne mit dem Luftpuster auf der

Zahnoberfläche verteilt. Nach dem Ausspülen wurde die Anfärbung von Plaque am Zahnfleischrand an vier Stellen des Zahnes abgelesen. Eine lila-bläuliche Verfärbung entspricht älteren Belägen, eine rosafarbene Verfärbung jüngeren Belägen. Der Index wird ebenfalls durch das Verhältnis der angefärbten zu der Gesamtanzahl der Stellen berechnet.

2.3.2 Untersuchung der Speichelproben

Die Speicheltests wurden mit stimuliertem Speichel durchgeführt. Die Probanden kauten für einen Zeitraum von fünf Minuten und 30 Sekunden auf einem Stück Paraffin und regten dadurch die Speichelproduktion an. Der in den ersten 30 Sekunden angefallene Speichel wurde verworfen und nur der Speichel der folgenden fünf Minuten in einem Messbecher gesammelt.

2.3.2.1 Sekretionsrate

Die über den Zeitraum von fünf Minuten gebildete Speichelmenge wurde an der Skalierung des Messbechers abgelesen. Die Sekretionsrate ergibt sich durch die Division der gewonnenen Speichelmenge durch den Messzeitraum in ml/min.

2.3.2.2 Pufferkapazität

Die Pufferkapazität wurde bei 11 Probanden (G 05- G 14, K 01) mittels des CRT® (Caries risk test) buffer Tests (Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland) und bei 39 Probanden (G 16 – G G 21, G 23- G 30, G 32, K 02 – K 06, K 08 – K 13, K 15 – K 27) mittels des Saliva-Check BUFFER Tests (GC Germany; Bad Homburg Deutschland) bestimmt. Die Umstellung von CRT® buffer auf Saliva-Check BUFFER musste stattfinden, da der kommerzielle Vertrieb des CRT® buffer eingestellt wurde.

CRT® buffer

Für die Bestimmung der Pufferkapazität mittels des CRT® buffer wurde mit einer Einmalpipette ein Tropfen des stimulierten Speichels auf das Testpolster des Teststreifen appliziert. Um ein Aufquellen des Testpolsters und somit eine Verfälschung des Ergebnisses zu vermeiden, wurde der überschüssige Speichel durch einmaliges Abtupfen des Polsters auf einer saugfähigen Unterlage entfernt. Nach einer Einwirkzeit von fünf Minuten wurde das Ergebnis anhand der Verfärbung des Testpolsters abgelesen (Abbildung 4). Das Testsystem unterscheidet drei Pufferkapazitäten. Ein dunkelblauer Farbumschlag entspricht einem pH-Wert über 6 und ein

grüner Umschlag von zwischen 4,5-5,5. Zeigt das Testpolster eine gelbe Farbe entspricht dies einem pH-Wert von 4 oder weniger.



Abbildung 4: Farbkodierung zur Bestimmung der Pufferkapazität mittels CRT[®] buffer (Quelle L.-S. Reissfelder nach Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland)

Saliva-Check BUFFER

Das Vorgehen beim Saliva-Check BUFFER Tests weicht nur leicht vom bereits beschriebenen Vorgehen des CRT® buffer ab. Der Teststreifen dieses Tests besteht aus drei Testpolstern. Der Speichel wurde auf alle drei Polster gleichmäßig appliziert und ebenfalls überschüssiger Speichel entfernt. Nach einer Einwirkzeit von nur zwei Minuten wurde das Ergebnis abgelesen. Das Ergebnis wird in Form folgendes Punktesystem angegeben (Tabelle 6 und 7).



Abbildung 5: (A) Saliva-Check BUFFER (GC Germany; Bad Homburg Deutschland), (B) Teststreifen mit drei Testpolstern (Quelle: L.-S. Reissfelder)

Tabelle 6: Punktesystem des Saliva-Check BUFFER Tests, das anhand von Farbcodierungen zugeordnet wird

Verfärbung	Punkte	
grün	4	
blaugrün	3	
blau	2	
blaurot	1	
rot	0	

Tabelle 7: Bestimmung der Pufferkapazität nach dem Punktesystem. Hierfür werden die Werte aller drei Felder des Teststreifens addiert und der Gesamtscore ergibt die Pufferkapazität des Speichels

Punktzahl	Pufferkapazität	
10-12	normal bis hoch	
6-9	schwach	
0-5	sehr schwach	

Für eine vergleichbare Auswertung wurden die Ergebnisse beider Tests abgeglichen (Tabelle 8).

Tabelle 8: Vergleichstabelle der Ergebnisse des CRT buffer und Saliva-Check BUFFER

CRT® buffer	Saliva-Check BUFFER				
hoch	10-12				
mittel	6-9				
niedrig	0-5				

2.3.2.3 Bakterientests

CRT® bacteria

Mittels des CRT® bacteria (Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland) wurden die Keimzahlen der Mutans-Streptokokken und Laktobazillen der Speichelprobe ermittelt. Der Agarträger, ein doppelseitiger Dip-slide, bietet für beide Keime jeweils einen selektiven Nährboden und somit die Möglichkeit beide Keime in einem einmaligen Verfahren zu ermitteln. Zur Bestimmung der Mutans-Streptokokken wird die blaue Agarfläche mit einem Mitis-salivarius-Bacitracin-Agar genutzt. Dieser enthält neben Bacitracin eine Kombination aus Saccharose und einem Polypeptidantibiotikum, gegen die die Mutans-Streptokokken eine hohe Resistenz zeigen und somit ihr Nachweis verbessert wird (Gold *et al.*, 1973). Bei der hellen Agarfläche handelt es sich um einen Rogosaagar, der die Laktobazillen durch den niedrigen pH-Wert des Mediums und die Präsenz von Natriumacetat und Ammoniumcitrat selektiert (Rogosa *et al.*, 1951).



Abbildung 6: (A) CRT[®] bacteria. Mitis-salivarius-Bacitracin- Agar zum Nachweis von Mutans-Streptokokken, (B) Rogosaagar zum Nachweis von Laktobazillen (Quelle: L.-S. Reissfelder)

Vor dem Gebrauch wird der Agarträger aus dem Teströhrchen genommen und die Schutzfolien werden von den Nährböden vorsichtig entfernt. Die beigelegte Natriumhydrogencarbonat-Tablette wird auf dem Boden des Röhrchens gelegt. Nun können beide Nährböden mittels einer Einmalpipette mit stimuliertem Speichel befeuchtet werden. Durch eine schräge Haltung der Nährböden kann der überschüssige Speichel abtropfen. Danach wurde der Agarträger zurück in das Teströhrchen gegeben und für 48 Stunden in einem Brutschrank bei 37 ° Grad Celsius inkubiert. Anhand einer vom Hersteller gelieferten Vorlage können die koloniebildenden Einheiten (CFU, engl.: Colony Forming Units) der Mutans Streptokokken beziehungsweise der Laktobazillen pro Milliliter Speichel bestimmt werden. Für eine präzisere Auswertung wurden die Beispielbilder einem Score von null bis fünf zugeordnet.

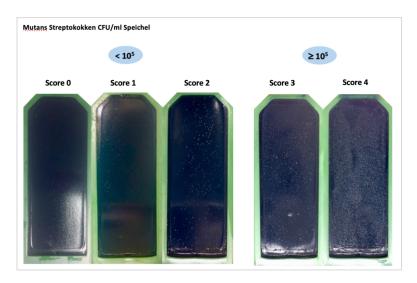


Abbildung 7: Einteilung der CFU der Mutans-Streptokokken nach einem Score von 0-5 anhand von Beispielbildern der vorliegenden Studie (Quelle: L.-S. Reissfelder)

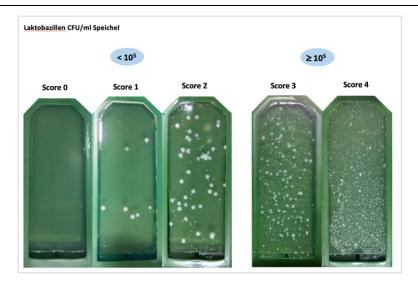


Abbildung 8: Einteilung der CFU der Laktobazillen nach einem Score von 0-5 anhand von Beispielbildern der vorliegenden Studie (Quelle: L.-S. Reissfelder)

2.3.2.4 Neuartige Methode zur Bestimmung der pH-Differenz/ Säurebildungspotential

Mit dem neuartigen Speicheltest wurde die Ermittlung des Säurebildungspotentials des Speichels erprobt. Jeweils ein Milliliter des Nährmediums dieses Tests wurde in einem Röhrchen kühlgelagert und vor dem Gebrauch auf Zimmertemperatur erwärmt. Mittels der pH-Indikatorstäbehen MCloropHastTM pH 6,5 - 10,0 (Merck KGaA; Darmstadt Deutschland) wurde der pH-Wert des Speichels gemessen und dokumentiert. Hierfür wurde das Testpolster des Indikatorstäbehens mit einem Tropfen stimuliertem Speichel beschickt und der überschüssige Speichel durch das Abtupfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernt. Nach 15 Sekunden wurde der pH-Wert dem Farbumschlag entsprechend abgelesen. In einem zweiten Schritt wurde mit einer Einmalspritze ein Milliliter des stimulierten Speichels in das Nährmedium des Tests gegeben, vermischt und das Teströhrchen für eine Stunde in einem Brutschrank bei 37 ° Grad Celsius inkubiert. Nach Ablauf der Stunde wurde jeweils ein Tropfen der inkubierten Lösung auf die zwei Testpolster der pH-Indikatorstäbehen "Special Indicator" MCloropHastTM pH 5,2 - 7,2 (Merck KGaA; Darmstadt Deutschland) pipettiert. Der Farbumschlag wurde mittels der vom Hersteller angegebenen Grafik bestimmt und dokumentiert. Das Säurebildungspotential ergibt sich durch die Differenz des Ausgangs-pH-Wertes zum pH-Wert der inkubierten Lösung. Nach Angabe des Entwicklers bedarf es zur Feststellung des individuellen Kariesrisikos zusätzlich einen semiquantitativen Nachweis von Mutans Streptokokken und Laktobazillen (Tabelle 9).

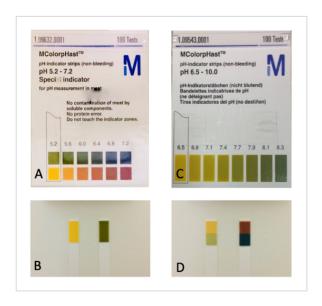


Abbildung 9: (A) pH-Indikatorstäbchen MCloropHastTM pH 6,5 - 10,0 (Merck KGaA; Darmstadt Deutschland), (B) pH-Wert-Bestimmung des stimulierten Speichels vor Inkubation, (C) pH-Indikatorstäbchen "Special Indiactor" MCloropHastTM pH 5,2 - 7,2 (Merck KGaA; Darmstadt Deutschland), (D) pH-Wert-Bestimmung der inkubierten Lösung (Quelle: L.-S. Reissfelder)

Tabelle 9: Kategorisierung des Säurebildungspotentials und der entsprechenden Kariesgefährdung in Abhängigkeit der pH-Wert-Differenz des neuartigen Speicheltests. (Quelle: Entwickler)

pH-Wert-	Säurebildungs-	Kariesgefährdung
Differenz	potential	
≤ 0,5	gering	in Verbindung mit geringer Keimzahl von MS und/oder LB keine
		Kariesgefährdung
> 0,5 < 1	mittel	in Verbindung mit mittlerer bis hoher Keimzahl von MS und/oder
		LB <u>erhöhte</u> Kariesgefährdung
≥ 1	hoch	in Verbindung mit hoher Keimzahl von MS und/oder LB hohe
		Kariesgefährdung
≥ 1,2	extrem hoch	sehr hohe Kariesgefährdung

MS = Mutans-Streptokokken, LB = Laktobazillen

2.3.3 Mikrobiologische Auswertung

Vor der zahnärztlichen Untersuchung wurde von allen Probanden 2 ml unstimulierter Speichel für eine mikrobiologische Auswertung abgenommen und bis zur Analyse bei -25 ° Celcius eingefroren. Die Sequenzierung des Mikrobioms des Speichels und somit die Ermittlung der enthaltenden Mikroorganismen wurden von der Abteilung "Medizinische Mikrobiologie und Hygiene" des Universitätsklinikum Heidelberg durchgeführt. Hierfür wurde die bakterielle DNA mittels des QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland) extrahiert. Dabei wurden die Angaben des Herstellers des Kapitels "Isolierung genomischer DNA aus

grampositiven Bakterien", "Anhang D" auf Seite 55 mit teilweisen Modifikationen – wie zuvor von Boutin *et al.* (2017) beschrieben – befolgt. Die Modifikationen bestanden in der Verwendung von 180 μL Lysozym (20 mg/mL) während der ersten Lyse bei 37 °C für 30 Minuten, dann wurden 20 μL Proteinase K und 200 μL Puffer AL hinzugefügt. Um einen DNA-Abbau zu verhindern wurde nur für 10 Minuten und nicht in einem weiteren Schritt für 15 Minuten bei 95 °C lysiert. Die DNA-Quantität und -Qualität wurden mit einem NanoDrop 1000 Spektrophotometer analysiert (Thermo Fisher Scientific Germany BV & Co KG, Braunschweig, Deutschland).

Für die Vorbereitung des Next Generation Sequencing (NGS) wurde die DNA mit universellen bakteriellen Primern, welche auf die V4-Region des 16S rRNA-Gens (515F un806R aus (Caporaso et al., 2012)) abzielen, amplifiziert. Jeder Primer wurde mit dem Illumina-Adapter verbunden und mit einem Barcode versehen, um die Sequenzen den Proben zuordnen zu können. Der PCR-Reaktionsmix enthielt den Q5 High-Fidelity 1X Master Mix (New England BiolabsGmbH, Deutschland), 0,5 µM jedes Primers, 2 µL DNA und steriles Wasser für ein Endvolumen von 25 µL. Die thermische Reaktion verlief folgendermaßen: eine erste Denaturierung bei 94 °C für 3 Minuten, 30 Amplifikationszyklen (94 °C für 45 Sekunden, 50 °C für 1 Minute und 72 °C für 1 Minute 30 Sekunden) und eine abschließende Verlängerung bei 72 °C für 10 Minuten (Cycler: Primus 25, Peglab Biotechnologie GmbH, Deutschland oder FlexCycler², Analytik Jena AG, Deutschland). Gleichzeitig wurden Negativkontrollen zur Kontaminationskontrolle unter Verwendung von sterilem Wasser als Vorlage verarbeitet. Positivkontrollen wurden auch durch die Verarbeitung von DNA aus einer mock community (HM-782D, Bei Ressourcen) durchgeführt, um die PCR- und Sequenzierungsfehlerrate zu kontrollieren. Die PCR-Produkte wurden mittels einer Agarose-Gelelektrophorese (2 %) auf das Vorhandensein von Amplikons untersucht und dann unter Verwendung von Agencourt AMPure XP Beads (Beckman Coulter, Deutschland) nach Anweisung des Herstellers gereinigt. Die gereinigten Produkte wurden unter Verwendung von Quant-iTTM PicoGreen® dsDNA Assay Kit (ThermoFisher scientific GmbH, Dreieich, Deutschland) und Qiaxcel (QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland) auf Qualität und Konzentration geprüft. Die äquimolare Mischung aller PCR-Produkte wurde dann auf einem Illumina Miseq Sequenziersystem sequenziert (2 x 300 Zyklen).

Zur Analyse der Sequenzen wurden die gepaarten Sequenzen gereinigt und mit dem R-Paket dada2 zusammengesetzt (Callahan *et al.*, 2016). Die Rohsequenzen wurden gefiltert und nach den folgenden Parametern beschnitten: maximale Mehrdeutigkeit: 0, Anzahl der erwarteten Fehler für jede gelesene Sequenz: 1, abgeschnittene gelesene Sequenzen bei der ersten Instanz einer Qualitätsbewertung von weniger als 2. Die Lesevorgänge wurden dann als Contigs zusammengeführt und mit den Standardparametern auf Chimären überprüft. Ribosomale Sequenzvarianten (RSV) wurden mit Hilfe der Silva-Datenbank (Version 132) der Taxonomie zugeordnet. Die RSVs, die Eukaryonten, Archae und Chloroplasten zugeordnet werden konnten, wurden aus der Analyse entfernt.

2.4 Statische Auswertung

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde eine deskriptive Statistik am Institut für Medizinische Biometrie und Informatik des Universitätsklinikums Heidelberg und eine mikrobiologische Statistik von der Abteilung "Medizinische Mikrobiologie und Hygiene" des Universitätsklinikums Heidelberg durchgeführt.

Die deskriptive Datenanalyse erfolgte mit der Software R, Version 3.6.3 (R Development Core Team, 2020). Die erhobenen Daten beider Gruppen wurden in einer deskriptiven Tabelle dargestellt. Diese umfasst den Mittelwert, die Standardabweichung, den Median, 1. und 3. Quartil sowie die Spannweite kontinuierlicher Variablen und absolute sowie relative Häufigkeiten der Kategorien faktorieller Variablen. Für die Überprüfung des Unterschieds der pH-Differenz, der Scores von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen, der Indices GBI und PCR und der Pufferkapazität zwischen den Probandengruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test für zwei unabhängige Stichproben durchgeführt. Alle p-Werte sind rein deskriptiv. Weiterhin wurden zur grafischen Darstellung der Verteilung dieser Variablen Boxplots angefertigt. Zur Bewertung der diagnostischen Güte wurden Grenzwertoptimierungskurven, auch "Receiver Operating Characteristic"-Kurven (ROC) genannt, erstellt und die "Area Under the Curve" (AUC) berechnet. Die ROC-Kurve und die AUC zeigen, wie gut eine Variable geeignet ist, zwischen den beiden Gruppen zu unterscheiden. Die AUC liegt zwischen 0 und 1 und Werte > 0,5 sind wünschenswert. Eine AUC von 1 bedeutet, dass die Variable perfekt zwischen den beiden Gruppen trennen kann.

Für die statistische Analyse der mikrobiologischen Daten wurden deskriptive Indizes wie Alpha-Diversität (Shannon-Index), Richness (Anzahl der beobachteten RSVs),

Gleichmäßigkeit (Pielou-Index) und Dominanz (Bergerparker-Index) mit Hilfe des Paketmikrobioms berechnet. Ein PermaNova Verfahren wurde durchgeführt, um die statistische Signifikanz der Unterschiede zwischen den Proben der beiden Gruppen zu bewerten. Weiterhin wurde eine DESeq2-Analyse, um unterschiedlich häufige ribosomale Sequenzvarianten (RSVs) zwischen den Gruppen nachzuweisen, durchgeführt. Die Korrelationen zwischen den Mikrobiom-Indizes, den relativen Häufigkeiten der RSVs und den quantitativen klinischen Parametern wurden mit dem Spearman-Korrelationstest berechnet, und die p-Werte wurden mit der Benjamini-Hochberg-Korrekturmethode angepasst. Alle statistischen Analysen wurden mit R 3.1.4 durchgeführt (R Development Core Team, 2014)

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Ergebnisse

3.1.1 Probandenkollektiv

Die gewählten Probandengruppen (1) naturgesunde Probanden und (2) Probanden mit mindestens einer aktiv kavitierten Dentinkaries wurden anhand des DMF-T-Werts eingeteilt. Dementsprechend beträgt der DMF-T-Wert der naturgesunden Gruppe für alle Variablen (D (T), M (T), F (T)) wie auch insgesamt 0. Für die Probanden der Gruppe "Karies" trägt dieser im Mittelwert 13,64 mit einer Standardabweichung von \pm 6,08. Hierbei nimmt die Variable F (T) ("Filled") – welche die gefüllten Zähne angibt – mit 7,72 im Mittelwert den größten Anteil ein. Die Werte der Variablen D (T), M (T), und F (T), sowie das Alter und Geschlecht der Probanden werden in der Tabelle 10 wiedergegeben. Die Gesamtgruppe der untersuchten Probanden unterteilt sich in 48% Frauen und 52% Männer. Hierbei setzt sich die naturgesunde Gruppe aus 44% weiblichen und 56% männlichen Probanden und die Kariesgruppe aus 52% weiblichen und 48% männlichen Probanden zusammen. Die Verteilung stellt sich folglich recht ausgeglichen dar. Das Alter des gesamten Probandenkollektivs beträgt im Mittel 28,8 ± 10,9 Jahre. Dabei sind die Probanden der Kariesgruppe im Durchschnitt 8,5 Jahre älter und ihre Spannweite erstreckt sich von 18 bis 65 Jahren, während die 31 naturgesunde Gruppe nur Probanden von 19 bis Jahren einschließt.

Tabelle 10: Epidemiologische und klinische Daten des Patientenkollektivs

		Pro- banden	Gesc	hlecht	Alter _ (Jahre)	DMF(T)	D(T)	M(T)	F(T)
Gruppe	gesamt	n = 50	w 48 %	m 52 %	28.8 ± 10.9 (18-65)	6,82 ± 8,10	2,0 ± 2,91	0,92 ± 2,18	3,86 ± 4,82
	"Gesund"	n = 25	44 %	56 %	$24,5 \pm 3,2$ (19-31)	(0-26) 0.0 ± 0.0 (0-0)	(0-11) $0,0 \pm 0,0$ (0-0)	(0-10) $0,0 \pm 0,0$ (0-0)	(0-15) $0,0 \pm 0,0$ (0-0)
	"Karies"	n = 25	52 %	48 %	33.0 ± 13.9 (18-65)	13,64 ± 6,08 (1-26)	4,0 ± 2,99 (1-11)	1,83 ± 2,82 (0-10)	7,72 ± 4,06 (0-15)
Mann-W	hitney-U-To	est (p)	0,575		0,01*				

Alle DMF(T)-Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung (Spannweite)

Im Rahmen der Studie wurden weiterhin verhaltensbezogene Daten der Probanden abgefragt und ebenfalls deskriptiv ausgewertet. Dabei zeigt sich, dass 88 % des Probandenkollektivs eine fluoridhaltige Zahnpasta nutzt. Die übrigen 12 % machten hierzu keine Angaben.

Chlorhexidinhaltige Mundspüllösungen werden von keinem der Probanden verwendet. Andere Mundspüllösungen werden von 48 % der Probanden der Kariesgruppe, jedoch nur von 16 % der naturgesunden Probanden regelmäßig genutzt. Hinsichtlich des Alkoholkonsums ist die Anzahl bei den Angaben "wenig" und "moderat" recht ausgeglichen. Der einzig auffallende Unterschied ist bei der Angabe von häufigem Konsum (wöchentlich bis täglich) auszumachen. Dies geben nur 4 % der Kariesgruppe gegenüber 20 % der naturgesunden Gruppe an (Tabelle 11). Der Anteil der Raucher stellt sich in der Kariesgruppe größer dar. Dabei rauchen 36 % der Probanden der Kariesgruppe und nur 12 % der naturgesunden Gruppe (Tabelle 11). Die Probanden der Kariesgruppe nehmen sowohl zuckerhaltige Nahrung als auch zuckerhaltige Getränke am häufigsten zu sich (Tabelle 12). Im Mittelwert konsumiert die Kariesgruppe 3,23 Mal pro Tag zuckerhaltige Nahrung die naturgesunde Gruppe hingegen nur 2,65 Mal. Ein noch deutlicherer Unterschied ist bei zuckerhaltigen Getränken zu erkennen. Die Probanden der Kariesgruppe nehmen 2,17 Mal pro Tag Getränke mit Zuckergehalt zu sich, während die naturgesunde Gruppe nur 0,66 Mal pro Tag zuckerhaltige Getränke trinkt. Bei allen weiteren verhaltensbezogenen Faktoren sind keine nennenswerten Auffälligkeiten zu erkennen. Die Ergebnisse sind einer Tabelle zusammengefasst. in im Anhang

Tabelle 11: sozioökonomische Status und Konsumverhalten des Patientenkollektivs

	Kategorien	"Gesund" (in %)	"Karies" (in %)	
Bildungsgrad	Aushilfskraft ohne Berufsausbildung	0	16	
	Arbeiter/ Angestellter mit abgeschlossener	4	36	
	Berufsausbildung			
	Akademiker	96	40	
	In der Ausbildung	0	8	
Raucherstatus	Nichtraucher	88	60	
	Raucher	12	36	
	Ehemaliger Raucher	0	4	
Alkoholkonsum	wenig	36	44	
	moderat	44	40	
	häufig	20	4	
	NA	0	12	

NA = nicht angegeben

Tabelle 12: Tabellarische Darstellung statistischer Maßzahlen der zuckerhaltigen Ernährung des Patientenkollektivs

	Statistische Maßzahl	"Gesund"	"Karies"
Zuckerhaltige Lebensmittel (pro Tag)	M	2,65	3,23
	SD	1,49	1,51
	med	2,5	3
	Q1-Q3	1,38 - 4	2,5 - 3,62
	Spw	0 - 5	1 - 7,5
	n. inf	24	24
Zuckerhaltige Getränke (pro Tag)	M	0,66	2,17
	SD	0,73	2,36
	med	1	1,5
	Q1-Q3	0 - 1	1 - 3,5
	Spw	0 - 3	0 - 10
	n. inf	25	21

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, med = Median, Q1-Q3 = 1.- 3. Quantil, Spw = Spannweite, n inf. = Anzahl informativer Werte

3.1.2 Indizes

Bei den erhobenen Indices sind deutliche Unterschiede zwischen beiden Gruppen zu sehen. In der Kariesgruppe liegt generell ein höherer GBI-Wert vor. Dies spiegelt sich sowohl im Mittelwert von 5,7 – welcher in der naturgesunden Gruppe nur 1,5 beträgt – als auch grafisch im Boxplot wieder (Tabelle 13, Abbildung 10). Der p-Wert mit 0,00563 ist recht klein und verdeutlicht den signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen.

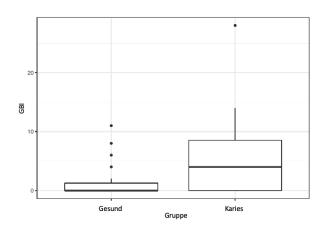


Abbildung 10: Vergleich der klinisch erhobenen Werte des GBI (Abk.: Gingiva Bleeding Index) der Probandengruppen (1) Gesund (n = 24) und (2) Karies (n = 24). In der Kariesgruppe liegt generell ein höherer GBI vor (p = 0,00563). Dargestellt sind die Ergebnisse in Box-and-Whiskers Plots mit Medianen und Quartilen. Quelle: Samuel Kilian

Tabelle 13: deskriptive Daten des erhobenen	GBI der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	NA	M	SD	med	Q1-Q3	Spw
Gruppe	"Gesund"	n=24	n=1	1,5	2,9	0	0 - 1,25	0 - 11
	"Karies"	n=24	n=1	5,67	6,75	4	0 - 8,5	0 - 28
Mann-Whitney-U-Test (p)		0,00563*						

NA = nicht angegeben, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, med = Median, Q1-Q3 = 1.- 3. Quantil, Spw = Spannweite

Beim PCR-Index ist – entsprechend der Erwartungen der Gruppe mit aktiver Karies – ein noch größerer Unterschied zur naturgesunden Gruppe zu sehen. Der p-Wert beträgt 0,00129. Der Mittelwert der PCR-Werte beträgt 46,42 (naturgesunde Gruppe: M: 28,42) und hat eine Spannweite von bis zu 78 % (Tabelle 14). Der Unterschied zwischen den Gruppen ist im Boxplot grafisch dargestellt (Abbildung 11).

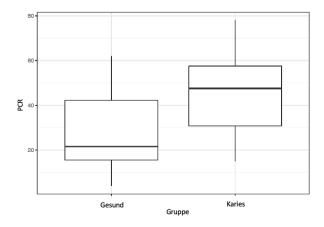


Abbildung 11: Vergleich der klinisch erhobenen Werte des PCR-Index (Plaque Control Record) der Probandengruppen (1) Gesund (n = 24) und (2) Karies (n = 24). In der Kariesgruppe liegt generell ein höherer PCR vor (p = 0,00129). Dargestellt sind die Ergebnisse in Box-and-Whiskers Plots mit Medianen und Quartilen. Quelle: Samuel Kilian

Tabelle 14: deskriptive Daten des erhobenen PCR-Index der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	NA	M	SD	med	Q1-Q3	Spw
Gruppe	"Gesund"	n = 24	n = 1	28,42	18,01	21,5	15,5 - 42,25	4 - 62
	"Karies"	n = 24	n = 1	46,42	17,25	47,5	4 - 62	15 -78

Mann-Whitney-U-Test (p) 0,00129*

NA = nicht angegeben, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, med = Median, Q1-Q3 = 1.-3. Quantil, Spw = Spannweite

3.1.3 pH-Differenz/Säurebildungspotential

Die pH-Differenz beschreibt die Differenz zwischen dem Ausgangs-pH-Wert des stimulierten Speichels der Probanden und dem pH-Wert nach einer Inkubation von 60 Minuten im Nährmedium des neuartigen Speicheltests. Der Ausgangs-pH-Wert beider Gruppen hat einen identischen Median von 7,7 und auch im Mittelwert unterscheiden sich die pH-Werte nur gering (naturgesunde Gruppe: M:7,6, Kariesgruppe: M: 7,49) (Anhang 7.3. Tabelle der deskriptiven Ergebnisse). Somit besteht ein ähnlicher Ausgangspunkt und unterstreicht den Unterschied der beiden Gruppen, der in der pH-Differenz festgestellt wurde. Die pH-Wert-Differenz beträgt im Mittelwert in der naturgesunden Gruppe 1,07 während in der Kariesgruppe ein Mittelwert von 1,42 berechnet wurde (Tabelle 15). Mittels des Mann-Whitney-U-Tests wurde ein p-Wert von 0,03536 errechnet. Bei einem gesetzten Signifikanzniveau von 5 % liegt dieser somit im signifikanten Bereich. Die Boxplots verdeutlichen grafisch, dass die Gruppe der Kariespatienten eine höhere pH-Wert-Differenz aufweist (Abbildung 12).

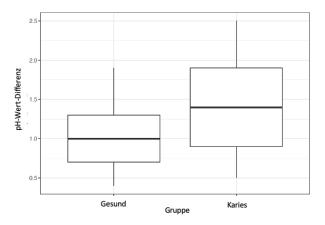


Abbildung 12: Vergleich der klinisch erhobenen pH-Wert-Differenz (Ausgangs-pH-Wert - pH-Wert nach 60 min Inkubation im Nährmedium des neuartigen Speicheltests) der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Die Grafik zeigt einen Unterschied zwischen den Gruppen. Die Kariesgruppe weist eine höhere pH-Wert-Differenz auf (p = 0.03536). Dargestellt sind die Ergebnisse in Box-and-Whiskers Plots mit Medianen und Quartilen. Quelle: Samuel Kilian

Tabelle 15: deskriptive Daten der erhobenen pH-Wert-Differenzen der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	M	SD	med	Q1-Q3	Spw
Gruppe	"Gesund"	n = 25	1,07	0,41	1	0,7 - 1,3	0,4 - 1,9
	"Karies"	n = 25	1,42	0,58	1,4	0,9 - 1,9	0,5 - 2,5
Mann-Whitney-U-Test (p)		0,03536*					

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, med = Median, Q1-Q3 = 1.- 3. Quantil, Spw = Spannweite

Die ROC-Kurve stellt sich bei diesem Testverfahren nur marginal besser als eine Diagonale dar. Die AUC, die ein Indikator dafür ist, wie gut die pH-Differenz als Variable geeignet ist, beträgt 0,6712 (Abbildung 13). Ein Wert von 1 gibt eine perfekt gewählte Variable an. Der errechnete Wert der AUC nähert sich an diesen Idealwert an und liegt folglich in einem wünschenswerten Bereich. Die pH-Differenz ist mithin eine geeignete Variable.

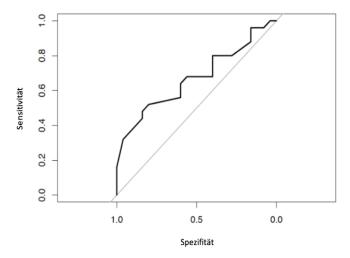


Abbildung 13: Darstellung der ROC-Kurve der gemessenen pH-Wert-Differenzen der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Als ein Maß für die Bewertung der Eignung der Variable, stellt die ROC-Kurve sich nur marginal besser als die eingezeichnete Diagonale dar. Die AUC – Area Under the Curve – die sich zwischen ROC-Kurve und Diagonale ergibt, beträgt 0,6712 und bewegt sich somit in einem wünschenswerten Bereich (1 = ideal). Quelle: Samuel Kilian

Entsprechend der Größe der pH-Wert-Differenz wurde den Probanden ein Säurebildungspotential (gering, mittel, hoch, hoch) zugeordnet. extrem Die Ergebnisse des Säurebildungspotentials zeigen den Unterschied der beiden Gruppen prozentual an. Der Unterschied wird vor allem im Bereich eines extrem hohen Säurebildungspotential deutlich (Tabelle 16).

Tabelle 16: deskriptive Daten des erhobenen Säurebildungspotential entsprechend der pH-Wert-Differenzen der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	Säurebildungspotential					
			gering	mittel	hoch	extrem hoch		
pH-Wert- Differenz			≤ 0,5	> 0,5 < 1	≥ 1	≥ 1,2		
Gruppe	"Gesund"	n = 25	8 %	32 %	20 %	40 %		
	"Karies"	n = 25	4 %	28 %	4 %	64 %		

3.1.4 Mutans-Streptokokken

Die Verteilung des – mittels des CRT-Bacteria-Tests ermittelten – Scores der Mutans-Streptokokken wird in Tabelle 17 gezeigt.

Tabelle 17: Deskriptive Daten des erhobenen Scores der Mutans-Streptokokken-Anzahl der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden			Score	2		_
			0	1	2	3	4	_
Gruppe	"Gesund"	n = 25	12%	20%	32%	20%	16%	
	"Karies"	n = 25	0%	0%	12%	20%	68%	
Mann-Whitney-U-Test (p)		2,71e-05*						

In der Kariesgruppe wiesen die Probanden weder einen Score 0 noch Score 1 auf, diese Scores werden einer Mutans-Streptokokken-Anzahl von kleiner 10⁵ koloniebildenden Einheiten zugeordnet. Hingegen wurden bei 68 % dieser Gruppe ein Score 4 ermittelt während dieser bei der Gruppe der naturgesunden Probanden nur bei 16 % vorkam. In dem Balkendiagramm wird der Unterschied der Gruppen grafisch verdeutlich (Abbildung 14). Der Unterschied spiegelt sich in einem entsprechend kleinen p-Wert von 2,571e⁻⁰⁵ wider.

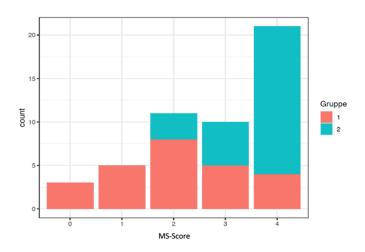


Abbildung 14: Vergleich der erhobenen Mutans-Streptokokken-Anzahl in Form eines Scores der Probandengruppen (1/rot) Gesund (n = 25) und (2/türkis) Karies (n = 25). Die Ergebnisse werden in einem Balkendiagramm dargestellt. Es zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 2,71e^{-05}$). In der Kariesgruppe tritt der Score 0 und 1 nicht auf, während der maximale Score 4 häufig vorkommt. Quelle: Samuel Kilian

Die ROC-Kurve und der hohe AUC-Wert (0,8312) zeigen, dass sich die Variable gut eignet, um zwischen den Probandengruppen zu unterscheiden (Abbildung 15).

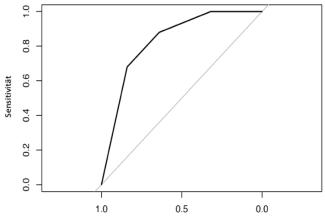


Abbildung 15: Darstellung der ROC-Kurve der erhobenen Scores der Mutans-Strepptokokken-Anzahl der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Als ein Maß für die Bewertung der Eignung der Variable, stellen sich die ROC-Kurve sowie die AUC – Area Under the Curve – gut dar. Die AUC, welche sich zwischen der ROC-Kurve und der Diagonalen ergibt, hat einen hohen Wert von 0,8312 und nähert sich somit dem Idealwert 1 an. Quelle: Samuel Kilian

3.1.5 Laktobazillen

Die Verteilung des – mittels des CRT-Bacteria-Tests ermittelten – Scores der Laktobazillen wird in Tabelle 18 gezeigt.

Tabelle 18: Deskriptive Daten des erhobenen Scores der Laktobazillen-Anzahl der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	Score				
			0	1	2	3	4
Gruppe	"Gesund"	n = 25	64 %	28 %	4 %	4 %	0 %
	"Karies"	n = 25	16 %	20 %	12 %	28 %	24 %
Mann-Whitney-U-Test (p)		2,374e-05*					

Bei 64 % der Probanden aus der naturgesunden Gruppe wurde ein Score 0 ermittelt. Bei diesem Score sind keinen sichtbaren koloniebildenden Einheiten auf den Nahrböden sichtbar. Bei den hohen Scores 3 und 4 sind die Werte dieser Gruppe mit 0 – 4 % sehr gering. Demgegenüber ist der Score 4 der Kariesgruppe der Laktobazillen mit 24 % zwar nicht so deutlich erhöht wie bei den Mutans-Streptokokken (68 %), weist aber im Vergleich zu den 0 % der naturgesunden Gruppe einen deutlichen Unterschied auf. Der Unterschied der Gruppen ist im Balkendiagramm grafisch zu sehen (Abbildung 16).

Entsprechend gibt der Mann-Whitney-U-Test einen kleinen p-Wert von 2,374e⁻⁰⁵ aus.

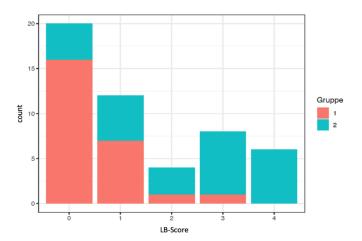


Abbildung 16: Vergleich der erhobenen Laktobazillen-Anzahl in Form eines Scores der Probandengruppen (1/rot) Gesund (n = 25) und (2/türkis) Karies (n = 25). Die Ergebnisse sind in einem Balkendiagramm dargestellt. Es zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 2,374e^{-05}$). In der naturgesunden Gruppe kommt der Score 0 deutlich am Häufigsten vor, während der Score 4 gar nicht auftritt. In der Kariesgruppe sind hingegen alle Scores – vor allem die höheren – vertreten. Quelle: Samuel Kilian

Die ROC-Kurve stellt sich gut dar. Die dadurch angezeigte gute Eignung dieser Variable für eine Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen, wird durch den hohen AUC-Wert (0,8344) bestätigt.

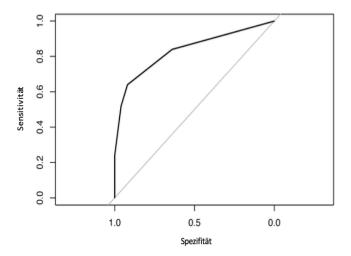


Abbildung 17: Darstellung der ROC-Kurve der erhobenen Scores der Laktobazillen-Anzahl der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). Als ein Maß für die Bewertung der Eignung der Variable, stellen sich die ROC-Kurve sowie die AUC – Area Under Curve – gut dar. Die AUC, welches sich zwischen der ROC-Kurve und der Diagonalen ergibt, beträgt einen hohen Wert von 0,8344 und nähert sich somit dem Idealwert 1 an. Quelle: Samuel Kilian

3.1.6 Pufferkapazität

Die Verteilung der Pufferkapazität der Probandengruppen ist in Tabelle 19 zu sehen.

Tabelle 19: Deskriptive Daten der erhobenen Pufferkapazität der Probandengruppe (1) Gesund und (2) Karies

		Probanden	niedrig	mittel	hoch	
Gruppe	"Gesund"	n = 25	4 %	44 %	52 %	
	"Karies"	n = 25	16 %	28 %	56 %	
Mann-Whitney-U-Test (p)		0,9047				

Hinsichtlich der Pufferkapazität ist dem Balkendiagramm kaum einen Unterschied zwischen den Gruppen zu entnehmen (Abbildung 18). Dementsprechend wurde ein sehr hoher p-Wert von 0,9047 berechnet. Somit ist dieser Parameter nicht geeignet die Gruppen zu unterscheiden.

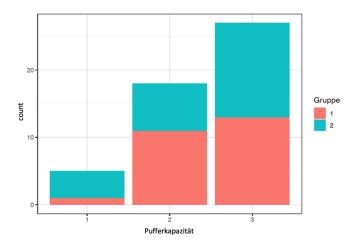


Abbildung 18: Vergleich der erhobenen Pufferkapazität (niedrig, mittel, hoch) der Probandengruppen (1/rot) Gesund (n = 25) und (27türkis) Karies (n = 25). Dargestellt sind die Ergebnisse in einem Balkendiagramm. Es ist kaum ein Unterschied zwischen den Gruppen zu erkennen (p = 0,9047). Quelle: Samuel Kilian

3.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Es wurden 50 Proben – 25 Proben pro Gruppe – des unstimulierten Speichels der Probanden mikrobiologisch untersucht. Insgesamt wurden 954209 "clean reads" (gereinigte Messwerte) von den 50 Proben erhalten und eine mock community mit durchschnittlich 19084 Sequenzen pro Stichprobe (min-max: 0 bis 6846, M: 22,32, SD: 157,26). Von den ribosomalen Sequenzvarianten (RSVs) wurden insgesamt 855 gefunden. Dabei kamen im Mittel 0,99999945 RSVs pro Speichelprobe vor (min-max: 0 bis 0,24536134, M: 0,001169591, SD: 0,008069377). In Abbildung 19 ist eine Übersicht der 25 am Häufigsten vorkommenden RSVs der im Speichel vorkommenden Mikroorganismen zu sehen. Die restlichen RSVs wurden in diesem Balkendiagramm als eine Gruppe namens "other" zusammengefasst. Beide untersuchten Gruppen zeigten ein ähnlich häufiges Vorkommen der 25 häufigsten Gattungen. Ein signifikanter Unterschied im Vorkommen zwischen den Gruppen zeigte sich bei folgenden Genera und RSVs (Tabelle 20). Alloprevotella sowie die RSVs 104 (Alloprevotella), 242 (Prevotellla), 341 (Campylobacter) und 658 (Veillonella) kamen signifikant höher in der naturgesunden Gruppe vor. Während das Auftreten der Genera Fretibacterium, Lactobacillus, Spirochaetes, Synergistetes sowie der RSV 816 (Leptotrichia) in der Kariesgruppe signifikant höher war.

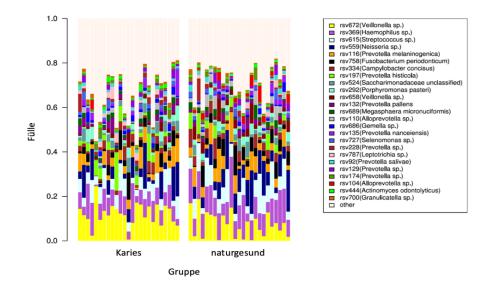


Abbildung 19: Darstellung der 25 häufigsten ribosomalen Sequenzvarianten (Gattungen) der Speichelproben der Probanden der (1) "Gesunden" Gruppe (n = 25) und der (2) Kariesgruppe (n = 25). Die anderen Gattungen wurden in der Kategorie "other" zusammengefasst. Die Ergebnisse werden in einem Balkendiagramm dargestellt. Quelle: Dr. Sébastien Boutin

Tabelle 20: Übersicht der Genera und RSVs, die einen signifikanten Unterschied im Vorkommen zwischen den Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25) zeigen. Ein positives Vorzeichen des log2FoldChange gibt ein höheres Vorkommen in der naturgesunden Gruppe an

Taxa	p-Wert	log2FoldChange	
Alloprevotella	6,40604373169881E-009	1,905078833	
Fretibacterium	0,000009801	-5,7285215655	
Lactobacillus	0,0003469981	-6,423997282	
Spirochaetes	0,0028037787	-1,9758342824	
Synergistetes	1,26675263432043E-005	-6,0684478356	
rsv104	0,0001331202	3,0710165845	
rsv242	1,98475872517405E-026	23,5964490168	
rsv341	6,42458165046146E-007	7,521990095	
rsv658	0,0002152056	1,6312492919	
rsv816	4,68582293219493E-005	-6,1921071592	

Zur Analyse von Veränderungen in der Struktur des Mikrobioms der beiden Probandengruppen wurde eine Hauptkomponentenanalyse (PCoA) auf der Grundlage der Morisita-Horn-Abstände durchgeführt (Abbildung 20). Mit dem Verfahren der Hauptkomponentenanalyse kann eine Vielzahl von Variablen auf wenige Hauptkomponenten reduziert werden, die sich in einer linearen Kombination beschreiben lassen. In der Praxis kann häufig der größte Teil der Informationen der ursprünglichen Datenmasse durch die ersten Hauptkomponenten wiedergegeben werden. Die Achsen der Hauptkomponenten - hier Achse 1 und 2 - werden hierbei so aufgespannt, dass die erste Hauptkomponente in Richtung der maximalen Varianz der Daten zeigt und somit das Maximum der Informationen zusammenfasst. Im vorliegenden Fall gibt die Hauptkomponente 1 67,1 % der Informationen wieder. Die weiteren Hauptkomponenten - hier nur Achse 2 - stehen jeweils senkrecht zur ersten Achse und weisen in Richtung der jeweils verbleibenden maximalen Varianz. Die Hauptkomponente 2 hat einen Wert von 19,4 %. Somit decken die beiden Hauptkomponenten zusammen 86,5 % der Gesamtvarianz der Variablen ab. Die Hauptkomponentenanalyse zeigt eine heterogene Verteilung der Variablen, wobei die Proben jedoch keine gut getrennten Cluster zeigen. Dies deutet darauf hin, dass die bakteriellen Strukturen der gesunden und kariösen Gruppen ähnlich waren. Die Variablen der naturgesunden Gruppe zentriert sich kreisförmig um die Achse der ersten Hauptkomponente und neigen eher dazu zu clustern, während die Variablen der Kariesgruppe verstreuter sind und sich um die Ansammlung dieser Variablen befinden. Insgesamt stellen sich die Variablen der naturgesunden Gruppe homogener dar. In der

Kariesgruppe finden sich ebenfalls Variablen in äußeren Bereichen der zweiten Hauptkomponenten-Achse. Diese Beobachtungen spiegeln sich auch in der Analyse der PermaNova wider (R^2 -Wert = 0,13056, p = 0,003).

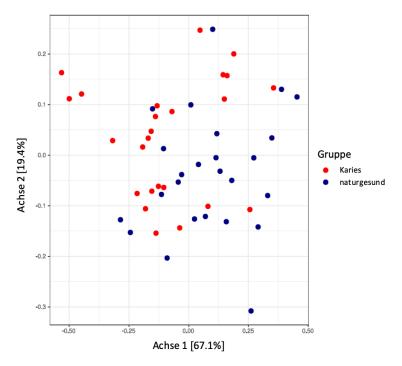


Abbildung 20: Vergleich der Mikrobiom-Struktur der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25) in Form einer Hauptkomponentenanalyse basierend auf den Morisita-Horn-Abständen. Es ist eine heterogene Verteilung zu erkennen. Es werden 86,5 % der Gesamtvarianz der Variablen wiedergegeben. Quelle: Dr. Sébastien Boutin

Weiterhin zeigte die mikrobiologische Auswertung, dass die Struktur des Speichelmikrobioms der Probanden die eine aktive kavitierte Karies vorwiesen eine größere α-Diversität (Abbildung 21(a)) sowie ein größere Richness aufweisen (Abbildung 21(b)). Die Gleichmäßigkeit des Mikrobioms der Speichelproben stellt sich in beiden Gruppen – vor allem in Form des Medians - etwas ausgeglichener dar, wobei die Daten der naturgesunden Gruppe im Bereich des unteren und oberen Quartils eine deutlich größere Spannweite einnehmen. Bei der naturgesunden Gruppe erstreckt sich das untere Quartil im Vergleich zur Kariesgruppe weiter in den Bereich der kleineren Werte (Abbildung 21(c)). Die Dominanz der Mikroorganismen in den Speichelproben stellt sich im Bereich des Medians zwischen den Gruppen ebenfalls ausgeglichen dar. Auch hier nehmen die Daten der naturgesunden Gruppe eine größere Spannweite des oberen und unteren Quartils ein (Abbildung 21(d)).

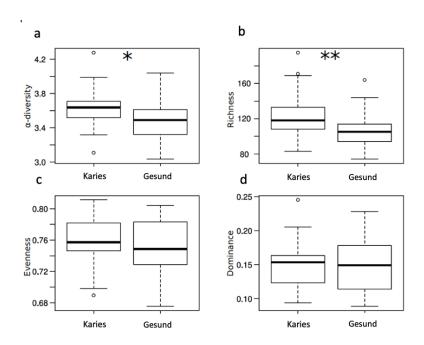


Abbildung 21: Vergleich der Mikrobiom-Struktur der Probandengruppen (1) Gesund (n = 25) und (2) Karies (n = 25). (a) Darstellung der α-Diversität basierend auf dem Shannon-Index, (b) Darstellung des Reichtums, berechnet als die Anzahl der beobachteten RSVs (c) Darstellung der Gleichmäßigkeit, basierend auf dem Pielou-Index, (d) Darstellung der Dominanz, basierend auf dem Bergerparker-Index. Bei (a) und (b) sind höhere Werte in der Kariesgruppe zu erkennen, (c) und (d) stellen sich im Bereich des Medians ausgeglichener dar. Allerdings zeigt sich bei der naturgesunden Gruppe eine größere Spannweite der Quartile. Die Ergebnisse sind in Box-and-Whiskers Plots mit Medianen und Quartilen dargestellt.

Weitere Hauptkomponentenanalysen wurden durchgeführt um den Einfluss der Mutans-Streptokokken beziehungsweise der Laktobazillen auf die Struktur des Mikrobioms zu bewerten. Hierbei zeigte sich, dass die Anzahl der Mutans-Streptokokken – angegeben in einem Score – keinen großen Einfluss auf die Mikrobiomstruktur haben (p = 0,059) und nicht mit der Diversität verbunden sind (Abbildung 22). Die Anzahl der Laktobazillen zeigte hingegen einen Einfluss auf die Struktur des Mikrobioms (p = 0,001), war aber ebenfalls nicht mit der Diversität verbunden (Abbildung 23). Des Weiteren wurde mithilfe der "Next Generation Sequenzierung" (NGS) ein Vergleich der Häufigkeit der Mutans-Streptokokken und der Laktobazillen zu ihrem eigenen Punktesystem (Score 0 - 4) aufgestellt. Im Bereich des vierten und somit höchsten Scores ist sowohl bei den Mutans-Streptokokken als auch bei den Laktobazillen das größte Vorkommen zu erkennen (Abbildung 24, 25). Ansonsten zeigt die Grafik vor allem bei den Mutans-Streptokokken eine relativ geringe Häufigkeit.

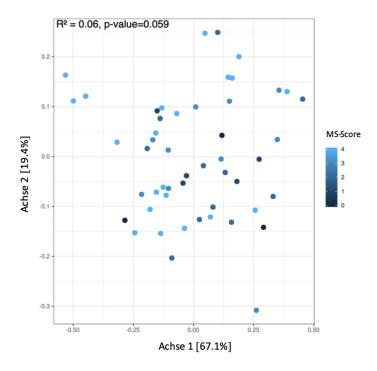


Abbildung 22: Einfluss der Anzahl der Mutans-Streptokokken (MS) – in Form eines Scores - 4 – auf die Mikrobiom-Struktur. Die Ergebnisse werden in einer Hauptkomponentenanalyse basierend auf den Morisita-Horn-Abständen dargestellt. Der MS-Score hat keinen Einfluss auf die Mikrobiom-Struktur (p = 0,059) und die Diversität.

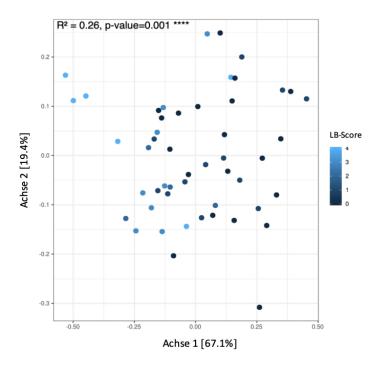


Abbildung 23: Einfluss der Anzahl der Laktobazillen (LB) – in Form eines Scores - 4 – auf die Mikrobiom-Struktur. Dargestellt werden die Ergebnisse in einer Hauptkomponentenanalyse basierend auf den Morisita-Horn-Abständen. Der LB-Score zeigt einen Einfluss auf die Mikrobiom-Struktur (p = 0,001), ist allerdings nicht mit der Diversität verbunden.

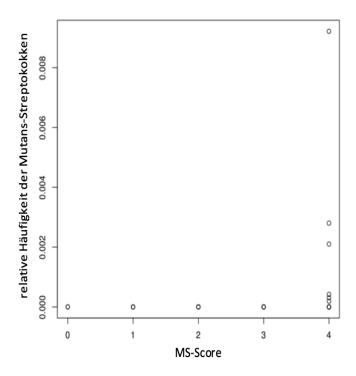


Abbildung 24: Vergleich der relativen Häufigkeit der Mutans-Streptokokken zu ihrem Punktesystem (Score 0 - 4). Es ist nur eine geringe Häufigkeit der Mutans-Streptokokken zu erkennen.

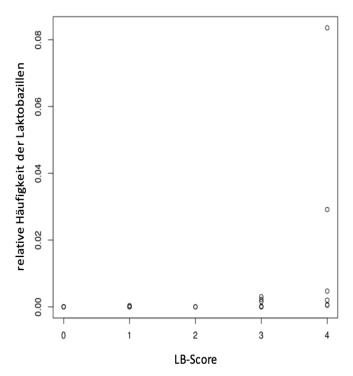


Abbildung 25: Vergleich der relativen Häufigkeit der Laktobazillen zu ihrem Punktesystem (Score 0 - 4).

4 Diskussion

Die präventive Zahnmedizin erreicht einen stetig zunehmenden Stellenwert in der zahnärztlichen Ausbildung und Praxis. Vor allem präventive Maßnahmen, die vor dem Eintreten von kariösen Läsionen ergriffen werden und somit irreversiblen Verlust der Zahnhartsubstanz verhindern können, stehen dabei vermehrt im Fokus. Hierfür ist eine gezielte und individuelle Kariesrisikobestimmung ein wichtiger Baustein. Die Bestimmung des Kariesrisikos stellt für den klinischen Alltag jedoch weiterhin eine große Herausforderung dar, da die aktuell angewandten Methoden nur unzureichend genaue Ergebnisse liefern. Trotz der Bemühungen mit verschiedenen Parametern das Kariesrisiko vorherzusagen, bleibt die bisherige Karieserfahrung der genaueste Einzelparameter (Ewoldsen und Koka, 2010; Mejàre et al., 2014; Powell, 1998; Raitio et al., 1996; Schwendicke, 2013; Twetman und Fontana, 2009; Zero et al., 2001). Der Nachteil dieses Parameters ist jedoch, dass er eine bereits erfolgte Schädigung der Zahnhartsubstanz voraussetzt. Somit steht dieser Parameter streng genommen in Widerspruch zu einem grundlegend präventiven Ansatz, der im Idealfall den Kipppunkt von Homöostase zur Dysbiose so frühzeitig erkennt, dass die Karies durch adaptierte präventive Therapie erst gar nicht entsteht. Es besteht daher Bedarf an geeigneten Testverfahren, die eine verlässliche Kariesrisikobestimmung bereits vor Auftreten der Erkrankung ermöglichen. Hier knüpft die vorliegende Studie zielgerichtet an.

Im Rahmen der Untersuchung wurde der Speichel von naturgesunden und an Karies erkrankten Probanden anhand verschiedener Speicheltests sowie der Sequenzierung Speichelmikrobioms verglichen. Darüber hinaus wurde das Säurebildungspotential der beiden Probandengruppen mittels eines neuartigen Speicheltests überprüft. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass das Säurebildungspotential der Probandengruppe, die mindestens eine aktiv kavitierte kariöse Läsion aufwies, signifikant größer ist als das der naturgesunden Probandengruppe. Die gemessene Anzahl der Mutans-Streptokokken sowie Laktobazillen unterstreichen diese Ergebnisse durch ein erhöhtes Vorkommen im Speichel der Kariesgruppe. Aus der mikrobiologischen Auswertung geht hervor, dass die Kariesgruppe eine größere α-Diversität sowie eine größere Richness im Vergleich zu der naturgesunden Gruppe aufweist.

Die Probanden wurden nach definierten Kriterien in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe umfasste naturgesunde Probanden (DMF-T = 0), die keine Karieserfahrung hatten, und aus kariologischer Sicht als der "Goldstandard" für den Gesundheitszustand betrachtet werden (Schoilew *et al.*, 2019). Demgegenüber wurde eine Gruppe mit Probanden gestellt, die

mindestens eine aktiv kavitierte kariöse Läsion aufwiesen (DMF-T > 0) (Tabelle 10). Die Verteilung des Probandenkollektivs stellt sich sehr ausgeglichen dar (48% Frauen, 52% Männer) (Tabelle 10). Die erhobenen Indices GBI und PCR zeigen beide einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (GBI-Index: p = 0.03536 (Tabelle 13, Abbildung 10), PCR-Index: p = 0.00129 (Tabelle 14, Abbildung 11)). Den Erwartungen entsprechend, erreichte die Kariesgruppe jeweils deutlich höhere Werte.

Der Speichel als diagnostisches Medium wird sowohl in Studien zur Kariesrisikobestimmung als auch bei bereits existierenden kommerziell erhältlichen Tests zur Kariesrisikodiagnostik genutzt (Fontana, 2015; Fontana und Zero, 2006; Guo und Shi, 2013; Heckl, 2007; Reich et al., 1999; Van Houte, 1993) (Kapitel 1.5.1.3, Tabelle 5). Es wurde eine positive Korrelation zwischen der Anzahl von Mikroorganismen in der Plaque und im Speichel nachgewiesen (Kneist et al., 1998a, S. 232; Larmas, 1992; Lindquist et al., 1989; Mundorff et al., 1990; Schaeken et al., 1987; Shi et al., 2018). Demnach kann angenommen werden, dass ein mikrobiologischer Speichelbefund die mikrobielle Zusammensetzung in der Zahnplaque widerspiegelt und rechtfertigt den Einsatz von Speicheltests. Dennoch wird die Aussagekraft und Effizienz der Speicheldiagnostik zur Kariesrisikobestimmung bis heute kontrovers diskutiert (Fontana, 2015; Hausen, 1997; Reich und Bößmann, 1994; Schwendicke, 2013). Laut einer Stellungnahme der DGZMK sind "Weder ein einzelner Speicheltest noch die Gesamtheit der heute kommerziell angebotenen Speicheldiagnostika [...] in der Lage, das Kariesrisiko einer Einzelperson hinreichend genau vorherzusagen. Dies wird von der häufig geringen Übereinstimmung der Testergebnisse mit dem tatsächlichen Karieszuwachs belegt." (Reich und Bößmann, 1994). Weitere Studien zeigten, dass Speichelparameter das Kariesrisikomodell zwar positiv unterstützen können, als alleinstehende Parameter jedoch keine ausreichende Aussagekraft haben (Lenčová et al., 2010; Van Palenstein Helderman et al., 2001). Bislang wurde bei Speicheltests zur Kariesrisikobestimmung das größte Augenmerk auf die traditionellen Leitkeime – Mutans-Streptokokken sowie Laktobazillen – gelegt. Auch wenn diese nachweislich aufgrund ihrer kariogenen Eigenschaften eine bedeutende Rolle bei der Kariesinitiation und -progression spielen (Hamada und Slade, 1980; Loesche, 1986; Tanzer et al., 2001), stellen neuere Studien ihr absolute Beziehung für die Kariesbildung in Frage (Aas et al., 2008; Beighton, 2005; Kleinberg, 2002; Takahashi und Nyvad, 2008). Diese begründen ihre Aussage darin, dass Mutans-Streptokokken nicht in allen Fällen in der kariesassoziierten

Plaque nachgewiesen wurden und im Gegenzug auch bei kariesfreien Patienten vorkommen (ökologische Plaquehypothese).

Bislang wurde bei der Kariesrisikobestimmung das größte Augenmerk auf die Bestimmung der Art und der Anzahl der Mikroorganismen – beziehungsweise vor allem der genannten traditionellen Leitkeime – gelegt. In Studien von Chhour et al. (2005) und Munson et al. (2004) wurde in kariösen Läsionen die Präsenz einer Diversität von Mikroorganismen aufgezeigt und zahlreiche neuartige Taxa gefunden. Dabei konnten Mutans-Streptokokken Teil der sein, wurden jedoch nicht in allen Fällen Zusammensetzung nachgewiesen. Die Kariesentstehung wird in der gegenwärtig am weitesten akzeptierten ökologischen Plaquehypothese als das Ergebnis einer Verschiebung des Gleichgewichts des ansässigen Mikrobioms, die durch die Veränderung der lokalen Umweltbedingungen verursacht wird, beschrieben (Marsh, 1994). Die Säureproduktion durch eine beliebige Anzahl von Mikroorganismen ist dabei ein Beispiel für eine dieser lokalen Umweltbedingungen (Aas et al., 2008). Die durch organische Säuren induzierte Demineralisation der Zahnhartsubstanz (Van Houte, 1994) ist bekanntermaßen ein wichtiger Schritt der Kariesätiologie. Die Betrachtung der Gesamtheit der Mikroorganismen und ihrer Stoffwechselaktivität in Säurebildungspotentials stellt somit einen interessanten neuen Blickwinkel dar. In der vorliegenden Studie wurde das Säurebildungspotential der zwei Probandengruppen mittels eines neuartigen Speicheltests gemessen. Der Ausgangs-pH-Wert beider Probandengruppen hatte einen identischen Median von 7,7 und unterschied sich auch im Mittelwert nur gering ("Gesunde" Gruppe: M: 7,6; Kariesgruppe: M: 7,49). Somit bewegte sich der Ausgangs-pH-Wert in beiden Gruppen in einem neutralen Bereich (7,0 - 7,8) für stimulierten Speichel (Klimek, 2007). Es war mithin ein sehr ähnlicher Ausgangspunkt für die Messung der pH-Wert-Differenz gegeben, was den gemessenen signifikanten Unterschied (p = 0.03536) unterstreicht. Hierbei ist zu erwähnen, dass aufgrund der Gruppengröße dieser explorativen Studie aus einem "streng" statistischen Blickwinkel in diesem Zusammenhang nicht von Signifikanz gesprochen wird. In der Kariesgruppe wurde eine pH-Wert-Differenz von 1,42 gemessen, während dieser in der naturgesunden Gruppe nur 1,07 betrug (Tabelle 15, Abbildung 12). Entsprechend der Höhe der pH-Wert-Differenzen wurde den Probanden ein Säurebildungspotential zugeordnet. Dieses wurde in vier Untergruppen kategorisiert: gering, mittel, hoch und extrem hoch. 64 % der Probanden der Kariesgruppe erreichten ein extrem

hohes Säurebildungspotential, wodurch die ermittelten Ergebnisse auch noch einmal prozentual bestätigt wurden.

Mit dem Clinpro™ Cario L-Pop™ der Firma 3M ESPE, Seefeld existiert bereits ein Test zur Kariesdiagnostik, der den Ansatz der Säureproduktion nutzt. Es handelt sich dabei um einen biochemischen Chairside Schnelltest, der durch den Nachweis von Milchsäure – das Stoffwechselprodukt kariespathogener Mikroorganismen – eine erhöhte oder verminderte Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen feststellt (3M ESPE, 2003). Jedoch gibt es in der zahnmedizinischen Literatur bisher widersprüchliche Aussagen zu der Zuverlässigkeit des Tests. Diese wurde in verschiedenen Studien von 37 % (Gerardu *et al.*, 2006) bis zu 82 % beschrieben (Schiffner und Torres-Quintero, 2005). Weiterhin stellten Gerardu *et al.* (2006) in ihrer Studie dar, dass die Ergebnisse der Milchsäurekonzentrationen im Biofilm der Zunge und in den Plaqueproben ein variables Spektrum zeigten. Auch wenn der Test in einer longitudinalen 4-Jahres-Studie seine Aussagekraft als ein ergänzender Parameter unter Beweis stellen konnte, wurde er nicht als ein alleiniger Parameter zu Kariesrisikobestimmung bestätigt (Sibbing, 2009). Der Clinpro™ Cario L-Pop™ konnte somit den Bedarf eines Tests zur alleinigen Kariesrisikobestimmung nicht decken.

Die Speichelproben der vorliegenden Studie wurden weiterhin mittels des Speicheltest CRT® bacteria (Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland) auf das Vorkommen von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen getestet. Mit Hilfe des doppelseitigen Agarträgers konnten beide Mikroorganismen in einem Schritt inkubiert und das Ergebnis nach 48 Stunden abgelesen werden. In den Ergebnissen zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Keimanzahl der Mutans-Streptokokken zwischen der naturgesunden und der Kariesgruppe (p = 2,571e⁻⁰⁵) (Tabelle 17, Abbildung 14). In den Speichelproben der Kariesgruppe wurden deutlich höhere Keimzahlen nachgewiesen. Bei 68 % der Probanden dieser Gruppe wurde der höchste Score − Score 4 − bestimmt, welcher ≥ 10⁵ koloniebildende Einheiten entspricht. Zudem konnten in jeder Speichelprobe der Kariesgruppe Mutans-Streptokokken-Kolonien ermittelt werden, was die gängige Literatur unterstützt, in der die bedeutende Rolle der Mutans-Streptokokken bei der Kariesinitiation und -progression hervorgehoben wird (Loesche, 1986). Sowohl der Score 0 − der nach der Inkubationszeit keinerlei Kolonien auf dem Nährboden zeigt − also auch der Score 1 − der eine geringe Anzahl der koloniebildenden Einheiten (< 10⁵ CFU) angibt − betragen in dieser Gruppe 0 %. Folgende Studien beschreiben den kariogenen Charakter der Mutans-

Streptokokken (Duchin und Van Houte, 1978; Gibbons, 1984; Hamada und Slade, 1980; Kolenbrander, 1993; Orland et al., 1955; Rosan und Lamont, 2000; Takahashi und Nyvad, 2008). Im Gegensatz dazu wurden in der naturgesunden Gruppe Speichelproben ermittelt, die keine Mutans-Streptokokken-Keimzahlen aufweisen. Allerdings war dies nur bei 12 % der Speichelproben der Fall. Somit wiesen 88 % der Probanden, die keine Karieserfahrung zeigten, Mutans-Streptokokken in ihrem Speichel auf. Bei 16 % der naturgesunden Probanden wurde sogar der höchste Score ermittelt. Diese Ergebnisse unterstützen die Aussage verschiedener Studien (Aas et al., 2008; Beighton, 2005; Kleinberg, 2002; Takahashi und Nyvad, 2008), dass Mutans-Streptokokken auch bei kariesfreien Patienten vorkommen. Die Studie von Aas et. al (2008) zeigt weiterhin, dass bei 10 % der untersuchten Patienten, die ausgeprägte kariöse Läsionen aufwiesen, keine Konzentrationen von Mutans-Streptokokken nachgewiesen werden konnten. Diese Aussage wiederum kann mit den Ergebnissen dieser Studie nicht bestätigt werden. Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass auch, wenn in der Kariesgruppe signifikant höhere Keimzahlen als in der naturgesunden Gruppe gefunden wurden, in der Gruppe der naturgesunden Probanden mit 88 % ebenfalls eine hohe Zahl der Proben Mutans-Streptokokken aufwies. In dieser Hinsicht unterstützen die Ergebnisse dieser Studie die oben genannte Aussage, die eine absolute Beziehung der Mutans-Streptokokken und der Karies in Frage stellt (Aas et al., 2008; Kleinberg, 2002; Takahashi und Nyvad, 2008). Wenn auch die Mutans-Streptokokken einen unterstützenden Charakter für die Kariesrisikodiagnostik haben, können sie hierfür nicht als alleinstehender Parameter herangezogen werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Feststellungen aus den Studien von Chhour et al. (2005) und Munson et al. (2004).

Auch bei den ermittelten Keimzahlen der Laktobazillen zeigt sich ein signifikanter Unterschied im Vergleich der beiden Probandengruppen (p = 2,374e⁻⁰⁵) (Tabelle 18, Abbildung 16). In 64 % der Speichelproben der naturgesunden Probanden wurde der Score 0 und somit keine Laktobazillen-Kolonien ermittelt. Die Speichelproben dieser Gruppe in denen Laktobazillen nachgewiesen wurden, weisen zudem nur sehr geringe Keimzahlen auf. Der höchste Score wurde gar nicht erreicht und nur in 4 % der Fälle konnte der Score 3 festgestellt werden. Damit wurden bei 96 % der naturgesunden Probanden Keimzahlwerte von kleiner 10⁵ koloniebildende Einheiten ermittelt (Score 0: 64 %, Score 1: 28 %, Score 2: 4 %). Diese Ergebnisse decken sich mit der Erkenntnis, dass die Laktobazillen nicht bei der initialen Entstehung, sondern nur im Rahmen der Kariesprogression von Bedeutung zu sein scheinen (Ikeda *et al.*, 1973; Tanzer *et al.*, 2001) und ihre Konzentration erst mit der fortschreitenden kariösen Entwicklung der

Läsionen ansteigt (Hemmens *et al.*, 1946). Demgegenüber wurde in der Kariesgruppe nur bei 16% der Speichelproben keine Laktobazillen-Kolonien ermittelt. Bei 52 % der Proben wurden Werte von $\geq 10^5$ koloniebildenden Einheiten erreicht (Score 3: 28 %, Score 4: 24 %).

Aus den Ergebnissen zur Pufferkapazität lässt sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen entnehmen. Der sehr hohe p-Wert von 0,9047 unterstreicht damit, die bereits in Kapitel 1.5.1.2 beschriebene, nicht signifikante Beziehung der Pufferkapazität zum Kariesrisiko (Alaluusua *et al.*, 1990; Scheinin *et al.*, 1992, S. 225; Stößer *et al.*, 1998).

Die aktuelle Forschung über das menschliche Mikrobiom zeigt, bedingt durch die schnelle Entwicklung fortgeschrittener molekularer Methoden, überwältigende Datenmengen und liefert wichtige Erkenntnisse über die komplexe Zusammensetzung der Biofilme. Dabei stellt die Mundhöhle einen der größten und komplexesten Lebensräume von Mikroorganismen dar. Lange Zeit ging man davon aus, dass über 700 verschiedene bakterielle Spezies die Mundhöhle besiedeln (Aas et al., 2005; Paster et al., 2006). Allerdings zeigte eine Studie von Keijser et al. (2008) – mittels des Einsatzes des Next Generation Sequencings – dass die Diversität in Plaque und Speichel bedeutend höher ist als bisher angenommen und das gesamte mikrobielle Artenreichtum bei mindestens 19.000 Phylotypen liegt. Diese mikrobielle Artenvielfalt in der Mundhöhle beeinflusst das orale Gleichgewicht zwischen Homöostase und Dysbiose und somit die Entwicklung von oralen Krankheiten, wie Karies und Parodontitis (Chen und Jiang, 2014). Ein Ziel dieser Studie war es, das Mikrobiom von naturgesunden und an Karies erkrankten Probanden zu analysieren, zu vergleichen und herauszuarbeiten, ob das Profil der Mikroorganismen im Speichel naturgesunder Probanden von an Karies erkrankten Probanden voneinander abweicht.

Die Diversität stellt in der mikrobiologischen Forschung einen zentralen Aspekt bei der Analyse und Interpretation dar. Dabei wird allgemein davon ausgegangen, dass ein diverses Mikrobiom – beispielsweise im Darm – einem stabilen und gesunden Zustand entspricht (Johnson und Burnet, 2016). Diese Annahme ist auch auf das orale Mikrobiom und die Kariesforschung anwendbar. Xiao *et al.* (2016) zeigten, dass die mikrobielle α-Diversität in der gesunden Plaque höher ist als bei kariösen Läsionen und die Diversität mit zunehmender Ausprägung der Karies weiter abnimmt. Diese Beobachtung wurde von weiteren Studien nicht nur für Plaqueproben sondern auch für Speichelproben bestärkt (Belstrøm *et al.*, 2014; Kianoush *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2005; Preza *et al.*, 2008; Schoilew *et al.*, 2019).

Li et al. (2005) sowie Belstrøm et al. (2014) verwendeten – wie in dieser Studie – Speichelproben. Gleichwohl sind die Ergebnisse der vorliegenden Studie im Widerspruch zu den oben zitierten Quellen. Die α-Diversität stellt sich in der Kariesgruppe größer als in der naturgesunden Gruppe dar (Abbildung 21(a)). Yang et al. (2012) und Luo et al. (2012) unterstützen mit ihren Studien dieses Ergebnis. Sie stellten in ihren Studien fest, dass das Mikrobiom der Probanden mit Karies signifikant variabler ist als das der gesunden Probanden. Die Ergebnisse dieser Studie bilden somit nicht einen alleinigen Ansatzpunkt. Darüber hinaus wurde in einer aktuellen Studie von Jiang et al. (2019) kein signifikanter Unterschied in der Diversität und Richness zwischen einer Kariesgruppe und einer Karies-freien Gruppe gefunden. Weiterhin sollte beachtet werden, dass eine hohe Diversität an sich nicht unweigerlich mit einem stabilen Mikrobiom verbunden ist, wie weitere Studien zeigten (Coyte et al., 2015; Johnson und Burnet, 2016). Folglich ist nicht nur alleinig die Diversität, sondern auch die Stabilität des Mikrobioms von entscheidender Bedeutung für den Gesundheitszustand (Coyte et al., 2015). Speichel ist zudem ein fluides Medium, welchen zirkadianen Schwankungen unterliegen kann und eine deutlich niedrigere absolute Menge an Mikroorganismen aufweise als die dentale Plaque. Um eine finale Beantwortung der Frage, ob kariesaktive Personen im Speichel eine größere oder kleinere mikrobielle Diversität als kariesfreie Personen aufweisen und welche Auswirkung dies auf den Gesundheitszustand hat, bedarf es noch weiterer Forschung. Faktoren wie verschiedene Probengrößen, Sequenzierungsmethoden, die Verwendung von Speichel- oder Plaqueproben sowie individuelle Variationen könnten die Ergebnisse möglicherweise beeinflussen. In jedem Fall impliziert dieses Ergebnis, dass Veränderungen in der Struktur des Mikrobioms mit dem Übergang von Gesundheit zu Krankheit einhergehen und bildet einen interessanten Ansatzpunkt für weitere Forschung.

Die Studienlage zur Veränderung der Richness von gesunden und an Karies erkrankten Probanden ähnelt der der Diversität. Verschiedene Studien zeigten eine Abnahme der bakteriellen Vielfalt nach dem Ausbruch von Karies (Hao *et al.*, 2015; Tao *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2018). Diese Aussage steht ebenfalls im Widerspruch zu den Ergebnissen dieser Studien, die eine größere Richness bei Probanden mit mindestens einer aktiven kariösen Läsion nachwies (Abbildung 21(b)). Auch wenn Tao *et al.* (2013) feststellten, dass Karies von einer sinkenden Richness begleitet wird, erreichten ihre Ergebnisse keine statistische Signifikanz. Die Veränderung der äußeren Bedingungen durch das Fortschreiten der Karies – unter anderem der Säureproduktion – bringen nach der erweiterten ökologischen Plaquehypothese das

intraorale Gleichgewicht ins Schwanken. Der resultierende sinkende pH-Wert erschwert dabei vielen Mikroorganismen das Überleben und könnte somit eine Verringerung der Artenvielfalt bei Kariesprogression erklären.

Bei der mikrobiologischen Auswertung dieser Studie wurden signifikante Unterschiede im Vorkommen von verschiedenen Genera und RSVs zwischen den Gruppen festgestellt (Tabelle 20). Dabei wurde ein signifikant höheres Vorkommen der Genera Lactobacillus, Fretibacterium, Spirochaetes, Synergistetes sowie der RSV 816 (Leptotrichia) in der Kariesgruppe nachgewiesen. Das höhere Vorkommen der Lactobazillen deckt sich mit den oben bereits beschriebenen Ergebnissen des Speicheltests CRT® bacteria (Ivoclar Vivadent; Ellwangen Deutschland) (Tabelle 18, Abbildung 16) bei dem auch bei 52 % der Probanden mit Karies Werte von $\geq 10^5$ koloniebildenden Einheiten von Laktobazillen nachgewiesen wurden. Die Laktobazillen zählen nicht nur traditionell zu den Kariesmarkerkeimen (Beighton, 2005; Van Houte, 1994), sondern werden vorwiegend mit der Kariesprogression in Verbindung gebracht (Ikeda et al., 1973; Tanzer et al., 2001), wie auch von weiteren Studien im Vergleich mit gesunden Gruppen erhöht bei kariesassozierten Gruppen nachgewiesen (Aas et al., 2008; Chhour et al., 2005; Lapirattanakul et al., 2020; Munson et al., 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stehen somit im Einklang mit der gängigen Literatur. Weiterhin wurde die Gattung der Spirochäten nachgewiesen. Es handelt sich dabei um gramnegative Bakterien. Spirochäten – vor allem die Gattung Treponema – werden traditionell mit Parodontalerkrankungen in Zusammenhang gebracht (Dewhirst et al., 2000; Listgarten und Hellden, 1978; Loesche, 1988; Moore et al., 1991). In der Literatur zeigten sich bisher keine häufigen Verbindungen mit Karies, gleichwohl in einer Studie von He et al. (2018) von einem signifikant höheren Vorkommen von Spirochäten – wie auch in der vorliegenden Studie – in Kariesgruppe im Vergleich mit einer gesunden Gruppe berichtet Bei Leptotrichia handelt es sich ebenfalls um gram-negative Bakterien, welche vor allem wegen ihres hohen saccharolytischen Potentials - der Fermentierung von einer Vielzahl von Monound Dissechariden zu Milchsäure – mit der Kariesentstehung verknüpft werden (Thompson und Pikis, 2012). Verschiedene Studien zeigten, dass Leptotrichia sehr reichlich im oralen Mikrobiom von Gesunden und an Karies Erkrankten vorkommt (Jiang et al., 2013; Schoilew et al., 2019). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind im Einklang mit den Studien von Ling et al. (2010) und Qudeimat et al. (2020), die Leptotrichia ebenfalls signifikant höher in kariesaktiven Gruppen nachwiesen. In weiteren Studien wurden hingegen von einem höheren Vorkommen von Leptotrichia im Mikrobiom von gesunden Patienten berichtet (Aas et al.,

2008; Schoilew *et al.*, 2019). *Synergistetes* kommen in verschiedenen Bereichen der Mundhöhle vor und sind an verschiedenen pathologischen Vorgängen beteiligt. Dazu zählen endodontische Infektionen (Munson *et al.*, 2002; Siqueira Jr und Rôças, 2007), kariöse Läsionen (Munson *et al.*, 2004) und Parodontitis (Vartoukian *et al.*, 2009). *Fretibacterium* ist eine Gattung dieser Familie und wurde ebenfalls bei Kariespatienten in höherem Vorkommen nachgewiesen (Eriksson *et al.* 2017). Xiao *et al.* (2016) identifizierte unter anderem *Fretibacterium* als ein neues kariogenes Bakterium.

Das signifikant höhere Auftreten folgender Genera und RSVs wurde in der naturgesunden Gruppe beobachtet: Alloprevotella, RSV 104 (Alloprevotella), RSV 242 (Prevotella), RSV 341 (Campylobacter) sowie RSV 658 (Veillonella). Dabei ist auffallend, dass drei der Genera zu der Familie der Prevotellaceae (Alloprevotella, RSV 104 und 242) gehören. Bei der Familie der Prevotellaceae (Phylum: Bacteroidetes) handelt es sich um gram-negative anaerobe Bakterien, die sich aus vier Genera zusammensetzen: Prevotella, Alloprevotella, Hallella und Paraprevotella. Sowohl Prevotella als auch Alloprevotella wurden mit einem signifikant höheren Vorkommen in der Gruppe der naturgesunden Probanden nachgewiesen. Interessant dabei ist, dass zahlreiche Studien Prevotella mit dem Vorkommen von Karies in Verbindung bringen (Chhour et al., 2005; Martin et al., 2002; Massey et al., 1993; Yang et al., 2012; Zhang et al., 2020). Dabei wird Prevotella mit endodontischen (Rôças und Siqueira Jr, 2009) und parodontalen (Serrano et al., 2009) Infektionen sowie Dentinkaries (Massey et al., 1993) in Verbindung gebracht. Yang et al. (2012) fanden ebenfalls ein erhöhtes Vorkommen von Prevotella im Kariesmikrobiom im Vergleich zu dem Mikrobiom von Gesunden. Darüber hinaus beobachteten sie, dass unterschiedliche Prevotella-Arten sowohl in gesunden als auch kariesaktiven Wirten vorkommen und die Arten nicht gleichmäßig auf diese verteilt waren. In einer aktuellen Studie zu ECC (Early Childhood Caries) kamen Zhang et. al (2020) zu dem Ergebnis, dass von den zwei getesteten Prevotella-Arten – Prevotella denticola und Prevotella pallens – nur Prevotella denticola signifikant erhöht in der Gruppe von Kindern mit S-ECC (Severe Early Childhood Caries) nachgewiesen werden konnte, während das Vorkommen von Prevotella pallens nahezu gleich in den Vergleichsgruppen vertreten war. In einer weiteren aktuellen Studie von Schoilew et al. (2019) zählte Prevotella sogar zu einer von 11 Genera, die in einer naturgesunden Gruppe im Vergleich zu einer Kariesgruppe, signifikant häufiger auftrat. Diese neueren Studien stützen - wie auch die vorliegende Studie - die Aussage, dass Mirkoorganismen der Familie der *Prevotellacea* – vor allem *Prevotella* – sowohl bei an Karies erkrankten Patienten aber durchaus auch bei Gesunden und dies sogar signifikant häufiger

vorkommen. Die Rolle von *Prevotellaceae* als pathologischer Mitspieler bei der Kariesentstehung sollte folglich überdacht werden. Es bedarf insbesondere einer getrennten Betrachtung der verschiedenen Arten, da allein von *Prevotella* derzeit circa 30 Arten bekannt sind.

Eine weitere Gattung, die ein höheres Vorkommen in der naturgesunden Gruppe aufweist, ist Veillonella (RSV 658). Es handelt sich bei dieser Gattung ebenfalls um gram-negative anaerobe Bakterien, die reichlich im menschlichen Mikrobiom vorkommen und in der gesamten Mundhöhle zu finden sind – insbesondere auf dem Zungenrücken und im Speichel (Aas et al., 2005; Mager et al., 2003). Die Bedeutung von Veillonella spp. bei menschlichen Infektionen ist laut Vesth et al. (2013) bisher noch ungewiss und sie werden allgemein als wenig virulent betrachtet. Gleichwohl werden Veillonella spp. auch mit der Kariesentstehung in Verbindung gebracht (Becker et al., 2002; Qudeimat et al., 2020; Tanner et al., 2011). So werden sie zu den frühen Kolonisierern des Zahnschmelzes gezählt (Diaz et al., 2006; Meyer und Enax, 2018) und es wurde herausgefunden, dass sie oft mit Streptokokken spp. Biofilme ausbilden. Diese wurden in einer Studie von Olson et al. (2011) häufiger bei Patienten mit einer schlechten Mundhygiene nachgewiesen. In einer Studie von Becker et al. (2002) wurde bei allen Probanden Veillonella in hohen Konzentration nachgewiesen und war signifikant zahlreicher bei tiefen Dentiläsionen als an jedem anderen Standort. Veillonella spp. metabolisieren die Milchsäure, die von anderen Arten gebildet wird, zu Propion- und Essigsäuren. Auch wenn diese Säuren schwächer sind als Milchsäure und daher den Zahnschmelz weniger lösen, zeigten in-vitro Studien, dass die Kombination von Veillonella spp. und Mutans-Streptokokken mehr Säure produziert und eine größere Demineralisierung ermöglichet als Mutans-Streptkokken alleine (Noorda et al., 1988). Zudem könnte die Verwendung von Milchsäure sowie die Nitratreduktion – welche schon in niedrigen Konzentrationen (0,2mM) zur vollständigen Tötung von Mutans-Streptokokken führt - durch Veillonella spp. säureproduzierenden Mikroorganismen einen Schutz bieten und somit ein wichtiger Faktor im Kariesprozess sein (Becker et al., 2002; Doel et al., 2005; Silva Mendez et al., 1999). Auch wenn in der Studie von Aas et al. (2008) nachgewiesen wurde, dass Veillonella spp. in allen Stadien intakten Schmelz tiefen Dentinkavitäten vom bis zu vorkommt, wird Veillonella wie oben dargestellt vorwiegend mit dem Kariesprozess in Zusammenhang gebracht. Zu dieser Beobachtung stehen die Ergebnisse der vorliegenden Studie im Widerspruch, die ein signifikant höheres Vorkommen dieser Gattung bei gesunden Probanden Probanden im Vergleich zu der Kariesgruppe nachweisen.

Diskussion 62

Bei der letzten Gattung handelt es sich um Camphylobacter. Diese ist ebenfalls ein gramnegatives Bakterium, welches vor allem durch das Hervorrufen der Campylobacter-Enteritis bekannt ist. Auch bei Camphylobacter zeigt die Studienlage unterschiedliche Ergebnisse bei den verschiedenen Arten dieser Gattung. So wurde C. concisus aus der Mundhöhle von Patienten mit Gingivitis und Parodontitis isoliert (Tanner et al., 1981) – wobei sonst Studien keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen C.concisus und Gingivitits und Parodontitis aufzeigen konnten (Liu et al., 2018). C.showae und C.rectus wurde mit Gesundheit und C.gracilcis mit Karies bei bleibenden Zähnen in Verbindung gebracht (Aas et al., 2008). Die vorliegende Studie unterstützt somit weiterhin die Annahme, dass Camplyobacter im Mikrobiom der oralen Gesundheit vorkommen.

Bei der vorliegenden Studie sollten abschließend eigene Einschränkungen nicht außer Acht gelassen werden. So sollte erwähnt werden, dass die Untersuchung nur von einer einzelnen Zahnärztin durchgeführt wurde. Auch wenn dies gewährleistet, dass das Ablesen der Ergebnisse somit immer gleich erfolgte, handelt es sich nicht um eine verblindete Studie. Weiterhin sollte beachtet werden, dass es sich bei dieser Studie um eine explorative Pilotstudie handelt und die gewählte Gruppengröße mit jeweils 25 Probanden eher gering ist. Dieser Aspekt ist im Hinblick auf die Aussagekraft der statistischen Ergebnisse zu beachten. Trotz aller Kritikpunkte, zeigt die Studie deutliche Unterschiede im Mikrobiom der beider Gruppen wie auch ein deutlich erhöhtes Säurebildungspotential in der Kariesgruppe auf. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse erstmals eine umfassende Untersuchung von Speichel anhand von verschiedenen Speicheltests in Vergleich zu einer umfassenden Sequenzierung des Speichelmkrobioms. Zudem hat sich die Messung Säurebildungspotentials (pH-Differenz) des Speichels als valide Methode zur Feststellung des individiuellen Kariesrisikos erwiesen. Da Speichel als fluides Medium zur Diagnostik intraoraler Erkrankungen und zur Erstellung von individuellen Risikostratifizierungen einfach angewendet werden könnte, hat diese Pilotstudie das Potential zahlreiche Folgestudien auf diesem Gebiet anzuregen und leistet somit einen wertvollen Beitrag zum Ausbau und der Stärkung der präventiven Zahnmedizin vor allem in Hinblick auf die Bestimmung des individuellen Kariesrisikos.

Zusammenfassung 63

5 Zusammenfassung

Eine individuelle Kariesrisikobestimmung ist unverzichtbar, um präventive Interventionen zu ergreifen bevor der kariöse Prozess beginnt und es zu einem irreversiblen Verlust von Zahnhartsubstanz kommt. Trotz der Bemühungen, mit verschiedenen Parametern das Kariesrisiko vorherzusagen, bleibt die bisherige Karieserfahrung der genaueste Einzelparameter.

Ziel der vorliegenden Studie ist die Bestimmung des Säurebildungspotentials im Speichel von naturgesunden und an Karies erkrankten Probanden im Vergleich zu verschiedenen kommerziellen Speicheltests sowie der Sequenzierung des Speichelmikrobioms. Mittels einer neuartigen Methode wird das intraorale Säurebildungspotential der zwei Probandengruppen auf Eignung als valide Messmethode überprüft. Für die Untersuchung wurden zwei Gruppen gewählt, die sich jeweils aus n = 25 Probanden zusammensetzten. Eine Gruppe umfasste dabei naturgesunde Probanden, ohne Karieserfahrung, und eine Gruppe umfasste Probanden, die mindestens eine aktive kavitierte kariöse Läsion aufwiesen. Es wurde ein ausführlicher klinischer Befund sowie ein Blutungs- und Plaqueindex erhoben. Der Speichel dieser Probanden wurde mit Hilfe verschiedener kommerzieller Speicheltests Sequenzierung des Speichelmikrobioms untersucht und mit dem intraoralen Säurebildungspotential, der sog. pH-Wert-Differenz, der beiden Probandengruppen verglichen. Für die Überprüfung des Unterschieds der pH-Differenz, der Anzahl von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen, der Mundhygieneindizes und der Pufferkapazität zwischen den Probandengruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Zur Bewertung der diagnostischen Güte wurden Grenzwertoptimierungskurven erstellt und die "Area Under the Curve" als Maß der Übereinstimmung berechnet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass hinsichtlich der Mundhygieneindizes in der Kariesgruppe ein höherer Blutungsindex (p = 0.00563) sowie ein erhöhter Plaqueindex vorlag (p = 0.00129). Die pH-Wert-Differenz beim Säurebildungspotential des Speichels nach einer Stunde betrugt im Mittelwert in der naturgesunden Gruppe 1,07 während in der Kariesgruppe ein signifikant erhöhter Mittelwert von 1,42 festgestellt wurde (p = 0.03536). Der Wert für die "Area Under the Curve" der Grenzwertoptimierungskurven beträgt 0,6712 (1 = 1.0000) und liegt im wünschenswerten Bereich.

Anhand weiterer kommerzieller Speicheltests wurde ein signifikant erhöhtes Vorkommen der Anzahl von Mutans-Streptokokken (p = 2,71e-05) sowie von Laktobazillen (p = 2,374e-05) in der Kariesgruppe gemessen, welches die Aussagekraft des gemessenen

Zusammenfassung 64

Säurebildungspotentials weiterhin unterstreicht. Die Werte für die "Area Under the Curve" der Grenzwertoptimierungskurven betragen 0,8312 für Mutans-Streptokokken und 0,8344 für Laktobazillen (1= ideal). Im Bereich der Pufferkapazität des Speichels konnte kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden.

Bei der mikrobiologischen Auswertung ergaben sich ebenfalls signifikante Unterschiede in Korrespondenz zum Säurebildungspotential. Die Kariesgruppe zeigte eine größere α -Diversität sowie eine größere Richness im Vergleich zu der naturgesunden Gruppe.

Ein signifikanter Unterschied im Vorkommen zwischen den Gruppen zeigte sich bei Alloprevotella, Prevotella, Campylobacter und Veillonella, die signifikant häufiger in der naturgesunden Gruppe vorkamen. Während das Auftreten der Genera Fretibacterium, Lactobacillus, Spirochaetes, Synergistetes sowie Leptotrichia in der Kariesgruppe signifikant höher war.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse erstmals eine umfassende Untersuchung zum Säurebildungspotential des Speichels im Vergleich zu verschiedenen Speicheltests und einer umfassenden Sequenzierung des Speichelmikrobioms. Die Messung des Säurebildungspotentials (pH-Differenz) im Speichel hat sich in dieser Untersuchung als valide Methode zur Feststellung des individuellen Kariesrisikos erwiesen. Die Ergebnisse kommerzieller Speicheltests zur Ermittlung der Anzahl von Mutans-Streptokokken oder Laktobazillen im Speichel korrespondierten mit dem Säurebildungspotential in Analogie zu den gewählten Gruppen. Die Pufferkapazität des Speichels ist jedoch kein geeigneter Parameter, um zwischen erkrankten und gesunden Probanden zu unterscheiden.

Da Speichel als fluides Medium zur Diagnostik intraoraler Erkrankungen und zur Erstellung von individuellen Risikostratifizierungen einfach angewendet werden könnte, hat diese Pilotstudie das Potential zahlreiche Folgestudien auf diesem Gebiet anzuregen und leistet somit einen wertvollen Beitrag zum Ausbau und der Stärkung der präventiven Zahnmedizin vor allem in Hinblick auf die Bestimmung des individuellen Kariesrisikos.

6 Literaturverzeichnis

3M ESPE (2003). ClinproTM Cario L-PopTM, Milchsäure-Indikatorstäbchen Technisches Produktprofil. URL: https://multimedia.3m.com/mws/media/342530O/clinpro-cario-l-poptechnical-profile.pdf [Stand:11.02.2021].

- Aas, J. A., Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Leys, E. J. und Paster, B. J. (2008). **Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults**. Journal of clinical microbiology *46*, 1407-1417.
- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. und Dewhirst, F. E. (2005). **Defining the normal bacterial flora of the oral cavity**. Journal of clinical microbiology *43*, 5721-5732.
- Ainamo, J. und Bay, I. (1975). **Problems and proposals for recording gingivitis and plaque**. International dental journal 25, 229-235.
- Al-Ahmad, A., Follo, M., Selzer, A.-C., Hellwig, E., Hannig, M. und Hannig, C. (2009). **Bacterial colonization of enamel in situ investigated using fluorescence in situ hybridization**. Journal of medical microbiology *58*, 1359-1366.
- Alaluusua, S., Kleemola-Kujala, E., Grönroos, L. und Evälahti, M. (1990). **Salivary caries-related tests** as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. Oral microbiology and immunology *5*, 77-81.
- Alaluusua, S. und Rekonen, O. (1983). Streptococcus mutans establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. European Journal of Oral Sciences 91, 453-457.
- Axelsson, P. (1990). Methode zur Bestimmung des Kariesrisikos. Phillip J 7, 181-187.
- Axelsson, P. (1991). Four-point scale for selection of caries risk patients based on salivary S. mutans levels and plaque formation rate index. In: Risk Markersfor Oral Diseases. Volume 1: Dental Caries, Hrsg. W., J. N., Cambridge University, S. 159-171.
- Axelsson, P., Paulander, J., Svärdström, G., Tollskog, G. und Nordenstern, S. (1994). **Umfassende Kariespräventionsergebnisse nach 12 Jahren**. Phillip J 11, 533-542.
- Beck, J. D. (1998). Risk revisited. Community dentistry and oral epidemiology 26, 220-225.
- Becker, M. R., Paster, B. J., Leys, E. J., Moeschberger, M. L., Kenyon, S. G., Galvin, J. L., Boches, S. K., Dewhirst, F. E. und Griffen, A. L. (2002). **Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries**. Journal of clinical microbiology *40*, 1001-1009.
- Beighton, D. (2005). The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. Community Dent Oral Epidemiol 33, 248-255.
- Belstrøm, D., Fiehn, N.-E., Nielsen, C. H., Holmstrup, P., Kirkby, N., Klepac-Ceraj, V., Paster, B. und Twetman, S. (2014). Altered bacterial profiles in saliva from adults with caries lesions: a case-cohort study. Caries research 48, 368-375.
- Borgström, M. K., Sullivan, Å., Granath, L. und Nilsson, G. (1997). On the pH-lowering potential of lactobacilli and mutans streptococci from dental plaque related to the prevalence of caries. Community dentistry and oral epidemiology *25*, 165-169.

Bößmann, K. (1998). Möglichkeiten und Grenzen mikrobieller Speicheldiagnostik für die Prognose des individuellen Kariesrisikos. In: Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 157-167.

- Boutin, S., Hagenfeld, D., Zimmermann, H., El Sayed, N., Hopker, T., Greiser, H. K., Becher, H., Kim, T. S. und Dalpke, A. H. (2017). Clustering of Subgingival Microbiota Reveals Microbial Disease Ecotypes Associated with Clinical Stages of Periodontitis in a Cross-Sectional Study. Front Microbiol 8, 340, doi: 10.3389/fmicb.2017.00340.
- Bratthall, D. und Hänsel Petersson, G. (2005). **Cariogram–a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease**. Community dentistry and oral epidemiology *33*, 256-264.
- Burt, B. A. (2005). **Concepts of risk in dental public health**. Community Dentistry and Oral Epidemiology *33*, 240-247.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A. und Holmes, S. P. (2016). **DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data**. Nature methods *13*, 581.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S. M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J. A., Smith, G. und Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J 6, 1621-1624, doi: 10.1038/ismej.2012.8.
- Carlsson, J. (1980). Bactericidal effect of hydrogen peroxide is prevented by the lactoperoxidase-thiocyanate system under anaerobic conditions. Infection and immunity 29, 1190-1192.
- Catalanotto, F., Shklair, I. und Keene, H. (1975). **Prevalence and localization of Streptococcus mutans in infants and children**. The Journal of the American Dental Association *91*, 606-609.
- Celik, E. U., Gokay, N. und Ates, M. (2012). Efficiency of caries risk assessment in young adults using Cariogram. European journal of dentistry 6, 270.
- Chen, H. und Jiang, W. (2014). **Application of high-throughput sequencing in understanding human oral microbiome related with health and disease**. Frontiers in microbiology 5, 508.
- Chhour, K.-L., Nadkarni, M. A., Byun, R., Martin, F. E., Jacques, N. A. und Hunter, N. (2005). **Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries**. Journal of clinical microbiology *43*, 843-849.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S. und Greenberg, E. P. (1999). **Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections**. Science *284*, 1318-1322.
- Coyte, K. Z., Schluter, J. und Foster, K. R. (2015). The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability. Science 350, 663-666.
- Davey, M. E. und O'toole, G. A. (2000). **Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics**. Microbiol. Mol. Biol. Rev. *64*, 847-867.
- Dawes, C. (1969). The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. Archives of Oral Biology 14, 277-294.
- Dawes, C. (1983). A mathematical model of salivary clearance of sugar from the oral cavity. Caries research 17, 321-334.

Dawes, C. (1996). **Factors influencing salivary flow rate and composition**. Saliva and oral health 2, 27.

- Dawes, C. (1998). **Non-bacterial Salivary Predictors of Caries Risk**. In: Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 152-156.
- Dewhirst, F., Tamer, M., Ericson, R., Lau, C., Levanos, V., Boches, S., Galvin, J. und Paster, B. (2000). **The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis**. Oral microbiology and immunology *15*, 196-202.
- Diaz, P. I., Chalmers, N. I., Rickard, A. H., Kong, C., Milburn, C. L., Palmer, R. J. und Kolenbrander, P. E. (2006). **Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel**. Appl. Environ. Microbiol. *72*, 2837-2848.
- Dodds, M. W., Johnson, D. A. und Yeh, C.-K. (2005). **Health benefits of saliva: a review**. Journal of dentistry *33*, 223-233.
- Doel, J. J., Benjamin, N., Hector, M. P., Rogers, M. und Allaker, R. P. (2005). Evaluation of bacterial nitrate reduction in the human oral cavity. European journal of oral sciences 113, 14-19.
- Dreizen, S., Brown, L. R., Daly, T. E. und Drane, J. B. (1977). **Prevention of xerostomia-related dental caries in irradiated cancer patients**. Journal of dental research *56*, 99-104.
- Duchin, S. und Van Houte, J. (1978). Relationship of Streptococcus mutans and lactobacilli to incipient smooth surface dental caries in man. Archives of oral biology 23, 779-786.
- Edgar, W., O'Mullane, D. und Dawes, C. (2004). Saliva and oral health, 3. Aufl., British Dental Association London.
- Ekstrand, K. R. und Zero, D. (2012). **Die Ökologie der Mundhöhle**. In: Karies: Wissenschaft und Klinische Praxis, Hrsg. Meyer-Lückel, H., Paris, S. und Ekstrand, K. R., Thieme, Stuttgart New York, S. 4-21.
- Ellen, R., Banting, D. und Fillery, E. (1985). **CLINICAL SCIENCE longitudinal microbiological** investigation of a hospitalized population of older adults with a high root surface caries risk. Journal of Dental Research *64*, 1377-1381.
- Ellen, R. und Onose, H. (1978). pH measurements of Actinomyces viscosus colonies grown on media containing dietary carbohydrates. Archives of oral biology 23, 105-109.
- Ericsson, Y. (1959). Clinical investigations of the salivary buffering action. Acta Odontologica Scandinavica 17, 131-165.
- Eriksson, L., Holgerson, P. L. und Johansson, I. (2017). Saliva and tooth biofilm bacterial microbiota in adolescents in a low caries community. Scientific reports 7, 1-12.
- Ewoldsen, N. und Koka, S. (2010). There are no clearly superior methods for diagnosing, predicting, and noninvasively treating dental caries. Journal of Evidence Based Dental Practice 10, 16-17.
- Fábián, T., Fejerdy, P. und Csermely, P. (2008). Salivary genomics, transcriptomics and proteomics: the emerging concept of the oral ecosystem and their use in the early diagnosis of cancer and other diseases. Current genomics 9, 11-21.

Featherstone, J. D. (1999). **Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride**. Community dentistry and oral epidemiology *27*, 31-40.

- Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries research 38, 182-191.
- Fitzgerald, R., Jordan, H., Stanley, H., Poole, W. und Bowler, A. (1960). **Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat**. Journal of dental research *39*, 923-935.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Mayer, C., Korstgens, V. und Borchard, W. (2000). Cohesiveness in biofilm matrix polymers. Beitrag präsentiert bei: Symposia-Society for General Microbiology (Cambridge; Cambridge University Press; 1999).
- Folwaczny, M. und Hickel, R. (2003). **Biofilm–Problem oder Perspektive?** Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift *58*, 648-659.
- Fontana, M. (2015). The clinical, environmental, and behavioral factors that foster early childhood caries: evidence for caries risk assessment. Pediatric dentistry 37, 217-225.
- Fontana, M. und Zero, D. T. (2006). **Assessing patients' caries risk**. The Journal of the American Dental Association *137*, 1231-1239.
- Foster, J. S. und Kolenbrander, P. E. (2004). **Development of a multispecies oral bacterial community** in a saliva-conditioned flow cell. Appl. Environ. Microbiol. *70*, 4340-4348.
- Fuqua, C. und Greenberg, E. P. (1998). Cell-to-cell communication in Escherichia coli and Salmonella typhimurium: They may be talking, but who's listening? Proceedings of the National Academy of Sciences 95, 6571-6572.
- Fuqua, W. C., Winans, S. C. und Greenberg, E. P. (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. Journal of bacteriology 176, 269.
- Gerardu, V., Heijnsbroek, M., Buijs, M., Van Der Weijden, F., Ten Cate, B. und Van Loveren, C. (2006). Comparison of Clinpro Cario L-Pop estimates with CIA lactic acid estimates of the oral microflora. European journal of oral sciences 114, 128-132.
- Giacaman, R. A., Miranda Reyes, P. und Bravo León, V. (2013). Caries risk assessment in Chilean adolescents and adults and its association with caries experience. Brazilian oral research 27, 7-13.
- Gibbons, R. (1984). Microbial ecology adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. Journal of Dental Research *63*, 378-385.
- Gibbons, R., Cohen, L. und Hay, D. (1986). Strains of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus attach to different pellicle receptors. Infection and immunity 52, 555-561.
- Gibbons, R. J. (1989). **Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases**. Journal of dental research *68*, 750-760.
- Gold, O. G., Jordan, H. und Van Houte, J. (1973). A selective medium for Streptococcus mutans. Archives of Oral Biology *18*, 1357-1364.
- Guo, L. und Shi, W. (2013). **Salivary biomarkers for caries risk assessment**. Journal of the California Dental Association *41*, 107.

Gustafsson, B. E., Quensel, C. E., Lanke, L. S., Lundqvist, C., Grahnen, H., Bonow, B. E. und Krasse, B. (1954). The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. Acta odontol. scand. 11, 232-364.

- Hamada, S. und Slade, H. D. (1980). **Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans**. Microbiological reviews 44, 331.
- Hannig, C., Hannig, M., Rehmer, O., Braun, G., Hellwig, E. und Al-Ahmad, A. (2007). Fluorescence microscopic visualization and quantification of initial bacterial colonization on enamel in situ. Archives of oral biology *52*, 1048-1056.
- Hannig, M. (1997). **Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials**. European journal of oral sciences *105*, 422-433.
- Hao, W., Xu, H., Chen, X., Zhou, Q., Zhang, P., Chen, F. und Qin, M. (2015). Changes in dental plaque microbial richness and oral behavioral habits during caries development in young Chinese children. Caries research 49, 116-123.
- Hausen, H. (1997). Caries prediction-state of the art. Community dentistry and oral epidemiology 25, 87-96.
- Hausen, H., Seppä, L. und Fejerskov, O. (1994). Can caries be predicted. In: Textbook of clinical Cariology, Hrsg. Thylstrup A, F. O., Copenhagen: Munksgaard, S. 393-411.
- Hay, D. (1973). **The interaction of human parotid salivary proteins with hydroxyapatite**. Archives of oral biology *18*, 1517-1529.
- He, J., Tu, Q., Ge, Y., Qin, Y., Cui, B., Hu, X., Wang, Y., Deng, Y., Wang, K. und Van Nostrand, J. D. (2018). **Taxonomic and functional analyses of the supragingival microbiome from cariesaffected and caries-free hosts**. Microbial ecology *75*, 543-554.
- Heckl, O. (2007) **Kommerzielle Tests zur Bestimmung des Karies-und Parodontitisrisikos**. Zahnmed. Dissertation, Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.
- Heinrich-Weltzien, R., Tawfiq, V., Schumann, V. und Stößer, L. (1998). **Erfurter Kariesrisiko-Studie** Klinische Befunde zur Charakterisierung eines erhöhten Kariesrisikos. In:
 Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 179-193.
- Helfenstein, U., Steiner, M. und Marthaler, T. (1991). Caries prediction on the basis of past caries including precavity lesions. Caries research 25, 372-376.
- Hellwig, E., Klimek, J. und Attin, T. (2013a). **Einführung in die Zahnerhaltung** Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln.
- Hellwig, E., Schiffner, U., Schulte, A., Koletzko, B., Bergmann, K. und Przyrembel, H. (2013b). **S2K-Leitlinie Fluoridierungsmaßnahmen zur Kariesprophylaxe**. AWMF online Das Portal der wissenschaftlichen Medizin, 106.
- Hemmens, E. S., Blayney, J., Bradel, S. und Harrison, R. (1946). The microbic flora of the dental plaque in relation to the beginning of caries. Journal of dental research 25, 195-205.

Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., Creasy, H. H., Earl, A. M., FitzGerald, M. G. und Fulton, R. S. (2012). **Structure, function and diversity of the healthy human microbiome**. nature *486*, 207.

- Ikeda, T., Sandham, H. und Bradley Jr, E. (1973). Changes in Streptococcus mutans and lactobacilli in plaque in relation to the initiation of dental caries in Negro children. Archives of oral biology 18, 555-566.
- Imfeld, T. (1977). Evaluation of the cariogenicity of confectionery by intra-oral wire-telemetry. SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd 87, 437-464.
- Jensen, B. und Bratthall, D. (1989). A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva. Journal of dental research 68, 468-471.
- Jiang, Q., Liu, J., Chen, L., Gan, N. und Yang, D. (2019). **The oral microbiome in the elderly with dental caries and health**. Frontiers in cellular and infection microbiology *8*, 442.
- Jiang, W., Zhang, J. und Chen, H. (2013). Pyrosequencing analysis of oral microbiota in children with severe early childhood dental caries. Current microbiology 67, 537-542.
- Johnson, K. V.-A. und Burnet, P. W. (2016). **Microbiome: Should we diversify from diversity?** Gut microbes 7, 455-458.
- Jordan, A. R. und Micheelis, W. (2016). **Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V)**, Deutscher Zahnärzte Verlag, Institut der Deutschen Zahnärzte, Köln.
- Jordan, R. A., Bodechtel, C., Hertrampf, K., Hoffmann, T., Kocher, T., Nitschke, I., Schiffner, U., Stark, H., Zimmer, S. und Micheelis, W. (2015). **The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) rationale, design, and methods**. BMC oral health *14*, 161.
- Juhas, M., Eberl, L. und Tümmler, B. (2005). **Quorum sensing: the power of cooperation in the world of Pseudomonas**. Environmental microbiology *7*, 459-471.
- Kassebaum, N., Smith, A., Bernabé, E., Fleming, T., Reynolds, A., Vos, T., Murray, C., Marcenes, W. und Collaborators, G. O. H. (2017). Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. Journal of dental research 96, 380-387.
- Keijser, B., Zaura, E., Huse, S., Van der Vossen, J., Schuren, F., Montijn, R., Ten Cate, J. und Crielaard, W. (2008). Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. Journal of dental research 87, 1016-1020.
- Keyes, P. (1960). The infectious and transmissible nature of experimental dental caries: Findings and implications. Archives of oral biology 1, 304-320.
- Keyes, P. (1962). Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. Int Dent J 12, 443-464.
- Kianoush, N., Adler, C. J., Nguyen, K.-A. T., Browne, G. V., Simonian, M. und Hunter, N. (2014). **Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity**. PloS one 9, e92940.

Klein, H., Palmer, C. E. und Knutson, J. W. (1938). Studies on dental caries: I. Dental status and dental needs of elementary school children. Public Health Reports (1896-1970), 751-765.

- Kleinberg, I. (2002). A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine 13, 108-125.
- Klimek, J. (2007). Speichel und Mundgesundheit. URL: http://fachschaft-zahnmedizin.de/wpcontent/uploads/2012/10/StuDent_Skript_Okt_2014-Speichel_Mundgesundheit.pdf [Stand:11.02.2021].
- Klock, B. und Krasse, B. (1979). A comparison between different methods for prediction of caries activity. European Journal of Oral Sciences 87, 129-139.
- Kneist, S., Heinrich-Weltzien, R., Tietze, W., Fischer, T. und Stößer, L. (1998a). Zur Kariesvorsorgeuntersuchung mit mikrobiologischen Speicheltests Sensitivität, Spezifität und Indikation. In: Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 230-238.
- Kneist, S., Heinrich-Weltzien, R., Tietze, W., Schumann, V. und Stößer, L. (1998b). **Die mikrobielle Mundhöhlenbesiedlung als Grundvoraussetzung des Kariesrisikos Eine Übersicht der Befunde aus der Erfurter Studie**. In: Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 201-213.
- Kolenbrander, P. (1993). Coaggregation of human oral bacteria: potential role in the accretion of dental plaque. Journal of Applied Bacteriology 74, 79S-86S.
- Kolenbrander, P. E. und London, J. (1993). **Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence**. Journal of bacteriology *175*, 3247.
- König, K. (1971). Karies und Kariesprophylaxe, Bd. 17, Goldmann, München.
- König, K. (1987). Karies und Parodontopathien Thieme Stuttgart.
- Könönen, E. (2000). **Development of oral bacterial flora in young children**. Annals of medicine *32*, 107-112.
- Kroes, I., Lepp, P. W. und Relman, D. A. (1999). **Bacterial diversity within the human subgingival crevice**. Proceedings of the National Academy of Sciences *96*, 14547-14552.
- Lapirattanakul, J., Nomura, R., Okawa, R., Morimoto, S., Tantivitayakul, P., Maudcheingka, T., Nakano, K. und Matsumoto-Nakano, M. (2020). **Oral Lactobacilli Related to Caries Status of Children with Primary Dentition**. Caries Research *54*, 1-11.
- Larmas, M. (1975). A new dip-slide method for the counting of salivary lactobacilli. Proc. Finn. Dent. Soc. 71, 31-35.
- Larmas, M. (1992). Saliva and dental caries: diagnostic tests for normal dental practice. Int Dent J 42, 199-208.
- Laurisch, L. (2009). Individualprophylaxe: Diagnostik und Therapie des individuellen Kariesrisikos, Deutscher Ärzteverlag, Köln.
- Laurisch, L. (2011). **Die Bestimmung des Kariesrisikos**. teamwork Journal for Continuing Dental Education 4, 1-9.

Lazarevic, V., Whiteson, K., François, P. und Schrenzel, J. (2010a). **The salivary microbiome, assessed by a high-throughput and culture-independent approach**. Journal of Integrated OMICS 1, 28-35.

- Lazarevic, V., Whiteson, K., Hernandez, D., François, P. und Schrenzel, J. (2010b). **Study of inter-and intra-individual variations in the salivary microbiota**. BMC genomics *11*, 523.
- Leake, S. L., Pagni, M., Falquet, L., Taroni, F. und Greub, G. (2016). The salivary microbiome for differentiating individuals: proof of principle. Microbes and infection 18, 399-405.
- Lenčová, E., Broukal, Z. und Spižek, J. (2010). **Point-of-care salivary microbial tests for detection of cariogenic species**—**Clinical relevance thereof**. Folia microbiologica *55*, 559-568.
- Lendenmann, U., Grogan, J. und Oppenheim, F. (2000). **Saliva and dental pellicle-a review**. Advances in dental research *14*, 22-28.
- Leone, C. W. und Oppenheim, F. G. (2001). Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. Journal of dental education 65, 1054-1062.
- Li, J., Helmerhorst, E., Leone, C. W., Troxler, R., Yaskell, T., Haffajee, A., Socransky, S. und Oppenheim, F. (2004). **Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm**. Journal of applied microbiology *97*, 1311-1318.
- Li, Y., Ge, Y., Saxena, D. und Caufield, P. (2007). **Genetic profiling of the oral microbiota associated** with severe early-childhood caries. Journal of clinical microbiology 45, 81-87.
- Li, Y., Ku, C., Xu, J., Saxena, D. und Caufield, P. (2005). Survey of oral microbial diversity using PCR-based denaturing gradient gel electrophoresis. Journal of dental research 84, 559-564.
- Lindquist, B., Emilson, C. und Wennerholm, K. (1989). **Relationship between mutans streptococci** in saliva and their colonization of the tooth surfaces. Oral microbiology and immunology 4, 71-76.
- Ling, Z., Kong, J., Jia, P., Wei, C., Wang, Y., Pan, Z., Huang, W., Li, L., Chen, H. und Xiang, C. (2010). Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. Microbial ecology 60, 677-690.
- Listgarten, M. und Hellden, L. (1978). Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. Journal of clinical periodontology 5, 115-132.
- Listl, S., Galloway, J., Mossey, P. und Marcenes, W. (2015). **Global economic impact of dental diseases**. Journal of dental research *94*, 1355-1361.
- Liu, F., Ma, R., Wang, Y. und Zhang, L. (2018). The clinical importance of Campylobacter concisus and other human hosted Campylobacter species. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 8, 243.
- Löe, H., Theilade, E. und Jensen, S. B. (1965). **Experimental gingivitis in man**. The Journal of periodontology *36*, 177-187.
- Loesche, W. (1986). Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev 50, 353-380.

Loesche, W. J. (1988). **The role of spirochetes in periodontal disease**. Advances in Dental Research 2, 275-283.

- Luo, A., Yang, D., Xin, B., Paster, B. und Qin, J. (2012). Microbial profiles in saliva from children with and without caries in mixed dentition. Oral diseases 18, 595-601.
- Mager, D. L., Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D. und Socransky, S. S. (2003). **Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces**. Journal of clinical periodontology *30*, 644-654.
- Marsh, P. D. (1994). **Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease**. Advances in dental research *8*, 263-271.
- Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? Microbiology 149, 279-294.
- Marsh, P. D. (2005). **Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style.** Journal of clinical periodontology *32*, 7-15.
- Marthaler, T. (2004). Changes in dental caries 1953–2003. Caries research 38, 173-181.
- Marthaler, T., Steiner, M. und Bandi, A. (1990). Werden verfärbte Molarenfissuren innerhalb von vier Jahren häufiger kariös als nichtverfärbte. Schweiz Monatsschr Zahnmed 100, 841-846.
- Martin, F. E., Nadkarni, M. A., Jacques, N. A. und Hunter, N. (2002). Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. Journal of clinical microbiology 40, 1698-1704.
- Massey, W., Romberg, D., Hunter, N. und Hume, W. (1993). **The association of carious dentin microflora with tissue changes in human pulpitis**. Oral microbiology and immunology *8*, 30-35.
- Mejàre, I., Axelsson, S., Dahlën, G. a., Espelid, I., Norlund, A., Tranæus, S. und Twetman, S. (2014). Caries risk assessment. A systematic review. Acta Odontologica Scandinavica 72, 81-91.
- Meyer, F. und Enax, J. (2018). Die Mundhöhle als Ökosystem: Der sanfte Weg gegen Karies und Parodontitis? Biologie in unserer Zeit 48, 62-68.
- Meyer-Lückel, H. und Paris, S. (2012). **Paradigmenwechsel**. In: Karies: Wissenschaft und Klinische Praxis, Hrsg. Meyer-Lückel, H., Paris, S. und Ekstrand, K. R., Thieme Stuttgart New York, S. 70-75.
- Miller, W. (1892). Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen Erkrankungen, welche durch dieselben hervorgerufen werden., Thieme, Leipzig.
- Minah, G. und Loesche, W. (1977). Sucrose metabolism in resting-cell suspensions of caries-associated and non-caries-associated dental plaque. Infection and immunity 17, 43-54.
- Moore, W., Moore, L., Ranney, R., Smibert, R., Burmeister, J. und Schenkein, H. (1991). **The microflora of periodontal sites showing active destructive progression**. Journal of clinical periodontology *18*, 729-739.
- Moreno, E., Varughese, K. und Hay, D. (1979). **Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphate**. Calcified tissue international 28, 7-16.

Mundorff, S. A., Eisenberg, A. D., Leverett, D. H., Espeland, M. A. und Proskin, H. M. (1990). Correlations between Numbers of Microflora in Plaque and Saliva. Caries research 24, 312-317.

- Munson, M., Banerjee, A., Watson, T. und Wade, W. (2004). **Molecular analysis of the microflora associated with dental caries**. Journal of clinical microbiology *42*, 3023-3029.
- Munson, M., Pitt-Ford, T., Chong, B., Weightman, A. und Wade, W. (2002). **Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections**. Journal of dental research 81, 761-766.
- Nasidze, I., Li, J., Quinque, D., Tang, K. und Stoneking, M. (2009). **Global diversity in the human salivary microbiome**. Genome research *19*, 636-643.
- Noorda, W., Purdell-Lewis, D., Van Montfort, A. und Weerkamp, A. (1988). Monobacterial and mixed bacterial plaques of Streptococcus mutans and Veillonella alcalescens in an artificial mouth: development, metabolism, and effect on human dental enamel. Caries research 22, 342-347.
- Nyvad, B. und Kilian, M. (1987). **Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo**. Scandinavian journal of dental research *95*, 369-380.
- O'Leary, T. J., Drake, R. B. und Naylor, J. E. (1972). **The plaque control record**. Journal of periodontology 43, 38-38.
- Olson, J. C., Cuff, C. F., Lukomski, S., Lukomska, E., Canizales, Y., Wu, B., Crout, R. J., Thomas, J. G., McNeil, D. W. und Weyant, R. J. (2011). Use of 16S ribosomal RNA gene analyses to characterize the bacterial signature associated with poor oral health in West Virginia. BMC Oral Health 11, 1-9.
- Onose, H. und Sandham, H. (1976). pH changes during culture of human dental plaque streptococci on mitis-salivarius agar. Archives of oral biology 21, 291-296.
- Orland, F. J., Blayney, J. R., Harrison, R. W., Reyniers, J. A., Trexler, P. C., Ervin, R. F., Gordon, H. A. und Wagner, M. (1955). **Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci**. J Am Dent Assoc *50*, 259-272.
- Paster, B. J., Boches, S. K., Galvin, J. L., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., Sahasrabudhe, A. und Dewhirst, F. E. (2001). **Bacterial diversity in human subgingival plaque**. Journal of bacteriology *183*, 3770-3783.
- Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A. und Dewhirst, F. E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. Periodontology 2000 42, 80-87.
- Periasamy, S. und Kolenbrander, P. E. (2009). Aggregatibacter actinomycetemcomitans builds mutualistic biofilm communities with Fusobacterium nucleatum and Veillonella species in saliva. Infection and immunity 77, 3542-3551.
- Petersen, P. E., Bourgeois, D., Ogawa, H., Estupinan-Day, S. und Ndiaye, C. (2005). **The global burden of oral diseases and risks to oral health**. Bull World Health Organ *83*, 661-669.
- Petersson, G. H., Isberg, P.-E. und Twetman, S. (2010). Caries risk assessment in school children using a reduced Cariogram model without saliva tests. BMC Oral Health 10, 5.

Powell, L. V. (1998). Caries prediction: a review of the literature. Community dentistry and oral epidemiology 26, 361-371.

- Preza, D., Olsen, I., Aas, J. A., Willumsen, T., Grinde, B. und Paster, B. J. (2008). **Bacterial profiles of root caries in elderly patients**. Journal of clinical microbiology *46*, 2015-2021.
- Pruitt, K. M., Caldwell, R. C., Jamieson, A. D. und Taylor, R. E. (1969). The interaction of salivary proteins with tooth surface. Journal of dental research 48, 818-823.
- Qudeimat, M. A., Alyahya, A., Karched, M., Behbehani, J. und Salako, N. O. (2020). **Dental plaque microbiota profiles of children with caries-free and caries-active dentition**. Journal of Dentistry, 103539.
- R Development Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. URL: http://www.R-project.org/ [Stand:11.02.2021].
- R Development Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing URL: https://www.R-project.org/. [Stand:11.02.2021].
- Raitio, M., Pienihäkkinen, K. und Scheinin, A. (1996). **Assessment of single risk indicators in relation to caries increment in adolescents**. Acta Odontologica Scandinavica *54*, 113-117.
- Reich, E. (2001). **Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe**. International dental journal *51*, 392-398.
- Reich, E. und Bößmann, K. (1994). **Stellenwert der Speicheldiagnostik im Rahmen der Kariesprävention**. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK 4, 94.
- Reich, E., Lussi, A. und Newbrun, E. (1999). Caries-risk assessment. International dental journal 49, 15-26.
- Ren, W., Zhang, Q., Liu, X., Zheng, S., Ma, L., Chen, F., Xu, T. und Xu, B. (2017). **Exploring the oral microflora of preschool children**. Journal of Microbiology *55*, 531-537.
- Richardson, R. L. und Jones, M. (1958). A bacteriologic census of human saliva. Journal of Dental Research *37*, 697-709.
- Rôças, I. N. und Siqueira Jr, J. F. (2009). Prevalence of new candidate pathogens Prevotella baroniae, Prevotella multisaccharivorax and as-yet-uncultivated Bacteroidetes clone X083 in primary endodontic infections. Journal of endodontics 35, 1359-1362.
- Rogosa, M., Mitchell, J. A. und Wiseman, R. F. (1951). A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. Journal of dental research 30, 682-689.
- Rosan, B. und Lamont, R. J. (2000). **Dental plaque formation**. Microbes and infection 2, 1599-1607.
- Schaeken, M., Creugers, T. und Van der Hoeven, J. (1987). Relationship between dental plaque indices and bacteria in dental plaque and those in saliva. Journal of Dental Research 66, 1499-1502.
- Scheinin, A., Mäkinen, K. K., Tammisalo, E. und Rekola, M. (1975). Turku sugar studies XVIII: incidence of dental caries in relation to 1-year consumption of Xylitol chewing gum. Acta Odontologica Scandinavica 33, 269-278.

Scheinin, A., Pienihäkkinen, K., Tiekso, J. und Holmberg, S. (1992). **Multifactorial modeling for root caries prediction**. Community dentistry and oral epidemiology *20*, 35-37.

- Schiffner, U. und Torres-Quintero, A. (2005). **Reproducibility of a new caries risk test under different oral conditions**. Clinical oral investigations *9*, 187-191.
- Schoilew, K., Ueffing, H., Dalpke, A., Wolff, B., Frese, C., Wolff, D. und Boutin, S. (2019). **Bacterial biofilm composition in healthy subjects with and without caries experience**. Journal of oral microbiology *11*, 1633194.
- Schünke, M., Schulte, E. und Schumacher, U. (2009). **Prometheus Kopf, Hals und Neuroanatomie:** LernAtlas der Anatomie, 2. Aufl., Thieme Stuttgart.
- Schwendicke, F. (2013). Baseline caries prevalence was the most accurate single predictor of caries risk in all age groups. Evidence-based dentistry 14, 102-102.
- Seneviratne, C. J., Zhang, C. F. und Samaranayake, L. P. (2011). **Dental plaque biofilm in oral health and disease**. Chinese Journal of Dental Research *14*, 87.
- Seppä, L. und Hausen, H. (1988). Frequency of initial caries lesions as predictor of future caries increment in children. European Journal of Oral Sciences *96*, 9-13.
- Serrano, C., Torres, N., Valdivieso, C., Castaño, C., Barrera, M. und Cabrales, A. (2009). **Antibiotic resistance of periodontal pathogens obtained from frequent antibiotic users**. Acta Odontológica Latinoamericana *22*, 99-104.
- SGB V (1988). Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch Gesetzliche Krankenversicherung (2744).
- Shannon, I. L. und Terry, J. M. (1965). A higher parotid fluid flow rate in subjects with resistance to caries. The Journal of dental medicine 20, 128.
- Shellis, P. (2012). Ätiologie und Pathogenese der Karies. In: Karies: Wissenschaft und Klinische Praxis, Hrsg. Meyer-Lückel, H., Paris, S. und Ekstrand, K. R., Thieme Stuttgart New York, S. 22-41.
- Shi, W., Tian, J., Xu, H., Zhou, Q. und Qin, M. (2018). **Distinctions and associations between the microbiota of saliva and supragingival plaque of permanent and deciduous teeth**. PloS one 13, e0200337.
- Sibbing, A. (2009) Eine longitudinale 4-Jahres-Studie zur Kariesrisikobestimmung mit dem Clinpro-Cario-L-Pop im Vergleich mit klinischen Parametern. Zahnmed. Dissertation, Universität Witten / Herdecke.
- Silva Mendez, L., Allaker, R., Hardie, J. und Benjamin, N. (1999). **Antimicrobial effect of acidified nitrite on cariogenic bacteria**. Oral microbiology and immunology *14*, 391-392.
- Siqueira Jr, J. und Rôças, I. (2007). **Molecular detection and identification of Synergistes phylotypes** in primary endodontic infections. Oral diseases *13*, 398-401.
- Staat, R. H., Gawronski, T. H., Cressey, D. E., Harris, R. S. und Folke, L. E. (1975). **Effects of dietary sucrose levels on the quantity and microbial composition of human dental plaque**. Journal of dental research *54*, 872-880.

Stamm, J. W., Disney, J. A., Graves, R. C., Bohannan, H. M., Abernathy, J. R. und Zack, D. D. (1992). **The University of North Carolina Caries Risk Assessment study: further developments in caries risk prediction**. Community dentistry and oral epidemiology *20*, 64-75.

- Steiner, M., Helfenstein, U. und Marthaler, T. (1992). **Dental predictors of high caries increment in children**. Journal of dental research *71*, 1926-1933.
- Stewart, P. S. und Costerton, J. W. (2001). **Antibiotic resistance of bacteria in biofilms**. The lancet 358, 135-138.
- Stößer, L., Roßbach, C., Heinrich-Weltzien, R., Kneist, S., Tietze, W. und Fischer, T. (1998). Nichtbakterielle Speichelparameter als Prädiktoren des Kariesrisikos. In: Kariesdynamik und Kariesrisiko, Hrsg. Stößer, L., Quintessenz, Berlin, S. 214-229.
- Surette, M. G., Miller, M. B. und Bassler, B. L. (1999). Quorum sensing in Escherichia coli, Salmonella typhimurium, and Vibrio harveyi: a new family of genes responsible for autoinducer production. Proceedings of the National Academy of Sciences 96, 1639-1644.
- Syed, S., Loesche, W. und Pape, H. (1975). **Predominant cultivable flora isolated from human root surface caries plaque**. Infection and immunity 11, 727-731.
- Takahashi, N. und Nyvad, B. (2008). Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. Caries research 42, 409-418.
- Tanner, A., Mathney, J., Kent, R., Chalmers, N., Hughes, C., Loo, C., Pradhan, N., Kanasi, E., Hwang, J. und Dahlan, M. (2011). **Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries**. Journal of clinical microbiology *49*, 1464-1474.
- Tanner, A. C. R., Badger, S., Lai, C., Listgarten, M. A., Visconti, R. A. und Socransky, S. S. (1981). Wolinella gen. nov., Wolinella succinogenes (Vibrio succinogenes Wolin et al.) comb. nov., and description of Bacteroides gracilis sp. nov., Wolinella recta sp. nov., Campylobacter concisus sp. nov., and Eikenella corrodens from humans with periodontal disease. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 31, 432-445.
- Tanzer, J. M., Livingston, J. und Thompson, A. M. (2001). **The microbiology of primary dental caries** in humans. Journal of dental education *65*, 1028-1037.
- Tao, Y., Zhou, Y., Ouyang, Y. und Lin, H. (2013). **Dynamics of oral microbial community profiling** during severe early childhood caries development monitored by PCR-DGGE. Archives of oral biology *58*, 1129-1138.
- Thenisch, N., Bachmann, L., Imfeld, T., Minder, T. L. und Steurer, J. (2006). Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. Caries research 40, 366-374.
- Thompson, J. und Pikis, A. (2012). **Metabolism of sugars by genetically diverse species of oral Leptotrichia**. Molecular oral microbiology 27, 34-44.
- Twetman, S. und Fontana, M. (2009). **Patient caries risk assessment**. In: Detection, assessment, diagnosis and monitoring of caries, Hrsg. Pitts, N., Karger Publishers, Basel, S. 91-101.
- Van Houte, J. (1993). Microbiological predictors of caries risk. Advances in dental research 7, 87-96.
- Van Houte, J. (1994). **Role of micro-organisms in caries etiology**. Journal of dental research *73*, 672-681.

Van Palenstein Helderman, W. H., Mikx, F. H., Van'T Hof, M. A., Truin, G. J. und Kalsbeek, H. (2001). The value of salivary bacterial counts as a supplement to past caries experience as caries predictor in children. European journal of oral sciences 109, 312-315.

- Van Pelt, A., De Jong, H., Busscher, H. und Arends, J. (1983). **Dispersion and polar surface free energies of human enamel**. Journal of biomedical materials research *17*, 637-641.
- Vartoukian, S., Palmer, R. und Wade, W. (2009). **Diversity and morphology of members of the phylum "synergistetes" in periodontal health and disease**. Applied and environmental microbiology 75, 3777-3786.
- Vesth, T., Ozen, A., Andersen, S. C., Kaas, R. S., Lukjancenko, O., Bohlin, J., Nookaew, I., Wassenaar, T. M. und Ussery, D. W. (2013). **Veillonella, Firmicutes: microbes disguised as Gram negatives**. Standards in genomic sciences *9*, 431-448.
- Xiao, C., Ran, S., Huang, Z. und Liang, J. (2016). Bacterial diversity and community structure of supragingival plaques in adults with dental health or caries revealed by 16S pyrosequencing. Frontiers in microbiology 7, 1145.
- Xu, H., Tian, J., Hao, W., Zhang, Q., Zhou, Q., Shi, W., Qin, M., He, X. und Chen, F. (2018). **Oral microbiome shifts from caries-free to caries-affected status in 3-year-old Chinese children:** a longitudinal study. Frontiers in microbiology *9*, 2009.
- Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., Guo, Q., Liu, X., Zhou, Y. und Cheng, L. (2015). **Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities**. Environmental microbiology *17*, 699-710.
- Yang, F., Zeng, X., Ning, K., Liu, K.-L., Lo, C.-C., Wang, W., Chen, J., Wang, D., Huang, R. und Chang, X. (2012). Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations. The ISME journal 6, 1-10.
- Zahradnik, R., Moreno, E. und Burke, E. (1976). Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. Journal of dental research *55*, 664-670.
- Zaura, E., Keijser, B. J., Huse, S. M. und Crielaard, W. (2009). **Defining the healthy" core microbiome" of oral microbial communities**. BMC microbiology *9*, 259.
- Zero, D. (2004). Sugars—the arch criminal? Caries research 38, 277-285.
- Zero, D., Fontana, M. und Lennon, Á. M. (2001). Clinical applications and outcomes of using indicators of risk in caries management. Journal of Dental Education 65, 1126-1132.
- Zhang, L., Sun, T., Zhu, P., Sun, Z., Li, S., Li, F., Zhang, Y., Tan, K., Lu, J. und Yuan, R. (2020). Quantitative Analysis of Salivary oral Bacteria Associated with Severe early childhood caries and construction of caries Assessment Model. Scientific Reports 10, 1-8.
- Zimmer, S. (2000) Kariesprophylaxe als multifaktorielle Präventionsstrategie. Zahnmed. Habilitationsschrift, Humboldt-Universität zu Berlin.
- Zimmer, S. (2012). **Diagnose des Kariesrisikos Was mache ich wann in der Praxis?** Dentalhygiene Journal 4, 12-17.

Zimmer, S., Bizhang, M., Barthel, C. und Raab, W. H. M. (2008). **Kariesrisikoerkennung – Helfen Speicheltests, mikrobiologische und klinische Testverfahren weiter?** Gesundheitswesen *70*, 702-706.

Zimmer, S. und Seemann, R. (2000). **Die Diagnostik des individuellen Kariesrisikos bei Kindern**. In: Kinderzahnheilkunde. Grundlagen, erfolgreiche Konzepte und neue Methoden der Kinderbehandlung in der Zahnarztpraxis, Hrsg. Maiwald, H.-J., Spitta, Bahlingen.

7 Anhang

Ethikvotum der Medizinischen Fakultät Heidelberg S-389/2017





Medizinische Fakultät Heidelberg

Frau PD Dr. med. dent. Cornelia Frese Poliklinik für Zahnerhaltungskunde Universitätsklinikum Heidelberg Im Neuenheimer Feld 400 69120 Heidelberg

27,11,2017 ts-sv

Berufsrechtliche Beratung

Unser Zeichen:

S-389/2017 (Bitte stets angeben)

Titel:

Vergleich eines neuartigen chair-side Speicheltests mit dem Speichelmikrobiom von gesunden und an Karies erkrankten

Probanden

Eingereichte Unterlagen:

Ersteinreichung vom 12.07.2017:

Anschreiben vom 07.07.2017

Zusammenfassung Version 1.0 vom 07.07.2017

Checkliste Sonstige Studien

Formular für Erstantrag vom 12.07.2017

Patienteninformation Version 1.0 vom 07.07.2017 Einverständniserklärung Version 1.0 vom 07.07.2017 Studienprotokoll Version 1.0 vom 07.07.2017

CV Priv.-Doz. Dr. med. dent. Cornelia Frese vom 11.07.2017

Formelle Nachreichung vom 04.08.2017: Anschreiben vom 04.08.2017 Gebrauchsinformation (CRT® bacteria)

Declaration of conformity (CRT® buffer/ CRT® bacteria) vom

28.10.2015

Grafik (Bestimmen der Säurebildungspotentials)

Anleitung (Nachweisverfahren des Säurebildungspotentials kariogener Keime)

Inhaltliche Nachreichung vom 21.09.2017:

Patienteninformation Version 1.1 vom 18.09.2017 (mit Markierung der

Änderungen)

Einverständniserklärung Version 1.1 vom 15.09.2017 (mit Markierung

der Änderungen)

Studienprotokoll Version 1.1 vom 15.09.2017 (mit Markierung der

Änderungen)

Konformitätserklärung (Säurepotential Test) vom 05.09.2017

Inhaltliche Nachreichung vom 08.11.2017:

Patienten-/Probandeninformation zur Verwendung von Biomaterialien und zugehöriger Daten in Biobanken Version 1,0

Einwilligungserklärung zur Verwendung von Biomaterialien und zuge-

hörigen Daten in Biobanken Version 1.0

Studienprotokoll Version 1,2 vom 16,10,2017 (mit Markierung der

Änderungen)



Alte Glockengießerei 11/1 D-69115 Heidelberg

+49 6221 33822 0 (Empfang) +49 6221 3382222 ethikkommission-l@med.uni-heidelberg.de

Vorsitz: Prof, Dr. med, Thomas Strowitzki

Stelly. Vorsitz:

Prof. Dr. med. Johannes Schröder Prof. Dr. med. Klaus Herfarth

Geschäftsleitung: Dr. med. Verena Pfeilschifter

Sonstige Studien: Gero Blim, LL.M.

+49 6221 3382218

+49 6221 3382222
 Gero,Blim@med,un

+49 6221 3382215 +49 6221 3382222

♣ +49 6221 3382222 Christian.Deisenrot heidelberg.de

Dr. rer. nat. Sylke Siebrecht

+49 6221 3382220 # +49 6221 3382222 # Sylke,Siebrecht@m

Dr. rer. nat. Sabine Vogel

+49 6221 3382219 #### +49 6221 3382222 #### Sabine, Vogel@med.uni-heidelberg.de



Bankverbindung: Baden-Württembergische Bank Stuttgart Konto-Nr.: 7421 500 429 BLZ: 600 501 01 SWIFT/BIC Code: SOLADEST IBAN-Nr.: DE 64600501017421500429



Seite 2/3

Sehr geehrte Frau Dr. Frese,

die Ethikkommission hat Ihr Forschungsvorhaben in der Sitzung am 28.08.2017 beraten und hat keine Bedenken gegen die Durchführung der Studie.

Sie gibt jedoch folgende Empfehlungen bzw. Hinweise:

<u>Information und Einwilligung in die Verwendung von Biomaterialien und zugehöriger Daten in Biobanken:</u>

Zu Punkt 1 der Inhaltlichen Nachforderung vom 28.09.2017:

- S. 2, Abschnitt 1: Die Fachtermini Mikrobiom, Proteom und Metagenom sollten erläutert werden.
- S. 4, Abschnitt 7b: Sofern die Zuordnung der Daten und Proben zu der konkreten Person auch zum Zweck einer erneuten Kontaktaufnahme erfolgen soll, sollte dies angegeben werden (vgl. Mustertext).
- S. 6, erster Absatz: Der Verweis "(siehe oben Punkt 8 a/b)" sollte geändert werden in "(siehe oben Punkt 7 a/b)".
- 4. S. 8: Laut Unterpunkt 4 der Datenschutzerklärung dürfen die Daten unbefristet verwendet werden. Laut der Angabe im Informationsteil und in der Informationsschrift zur Hauptstudie werden die Daten für zehn Jahre aufbewahrt. Die Angaben sind aufeinander abzustimmen.

Studienprotokoll:

 Zu Punkt 2 der Inhaltlichen Nachforderung vom 28.09.2017; 2.S. 13 f., Abschnitt 12:
 Die Angaben hinsichtlich der Einlagerung und Verwendung von Proben in der Biodatenbank sollten nicht in der direkten Anrede, sondern in der 3. Person formuliert sein.

Wir wünschen Ihnen bei der Durchführung der Studie viel Erfolg.

Bitte leiten Sie das Ergebnis der berufsrechtlichen Beratung und die studienrelevante Korrespondenz allen teilnehmenden Ärzten in unserem Zuständigkeitsbereich weiter.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. med. Thomas Strowitzki Vorsitzender

Allgemeine Hinweise:

- Änderungen in Organisation und Ablauf der Studie sind der Kommission, zusammen mit einer Bewertung der Nutzen-Risiko-Relation, umgehend mitzuteilen. Sowohl die Antragsnummer als auch die geänderten Passagen sollten in den betreffenden Unterlagen deutlich gekennzeichnet sein, da anderenfalls keine zügige Bearbeitung möglich ist.
- Innerhalb von einem Jahr nach Studienende sollte die Studienleitung der Kommission einen Abschlussbericht vorlegen, der eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen der Studie enthält, unabhängig davon, ob diese vollständig abgeschlossen oder vorzeitig beendet wurde. Dafür ist die auf der Homepage der Kommission abrufbare Mustervorlage "Abschlussbericht" zu verwenden (Pfad: -> Sonstige Studien -> Vorlagen).

S-389/2017



Seite 3/3

 Jedes Forschungsvorhaben, an dem Versuchspersonen beteiligt sind, ist vor der Rekrutierung der ersten Versuchsperson in einer öffentlich zugänglichen Datenbank zu registrieren.

- Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg arbeitet gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen und den ICH-GCP-Richtlinien. Ihren Beratungen liegt die Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki in der jeweils aktuellen Fassung zugrunde.
- Unabhängig vom Beratungsergebnis macht die Ethikkommission Sie darauf aufmerksam, dass die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung einer Studie beim Leiter der Studie und bei allen teilnehmenden Ärzten liegt.

7.2 Ethikvotum der Medizinischen Fakultät Heidelberg S-389/2017

Nachträgliche Änderung zur DSGVO –





Medizinische Fakultät Heidelberg

Med. Fak. HD | Alte Glo

Frau PD Dr. med. dent. Cornelia Frese Poliklinik für Zahnerhaltungskunde Universitätsklinikum Heidelberg Im Neuenheimer Feld 400 69120 Heidelberg

11.05.2018 ts-mt

> Berufsrechtliche Beratung Nachträgliche Änderung

Unser Zeichen:

S-389/2017 (Bitte stets angeben)

Titel:

Vergleich eines neuartigen chair-side Speicheltests mit dem Speichelmikrobiom von gesunden und an Karies erkrankten Probanden

Eingereichte Unterlagen:

Nachträgliche Änderung vom 17.04.2018: Formular für Änderungsantrag vom 17.04.2018

Informationsschrift für Patientinnen und Patienten, Version1.2 vom

16.04.2018 (mit Markierung der Änderungen)

Einwilligungserklärung, Version 1,2 vom 17.04,2018 (mit Markierung

der Änderungen)

Sehr geehrter Frau Dr. Frese,

die Ethikkommission hat sich in ihrer Sitzung am 07.05.2018 mit den oben näher bezeichneten Unterlagen befasst und hat keine Bedenken gegen die Änderung.

Sie gibt jedoch folgende Empfehlungen bzw. Hinweise:

Patienteninformation:

S. 2, Punkt "Allgemeine Informationen zum Datenschutz": Neben dem BDSG und dem LDSG BW sind auch die Bestimmungen der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO) einzuhalten.

Einverständniserklärung:

- S. 1, Punkt "Datenschutz": Die Weitergabe der Daten ist auf Universitäten/Kliniken zu beschränken (wie in der Informationsschrift angegeben). Entsprechend ist das "etc." zu streichen. Alternativ sind die Angaben in der Patienteninformation zu erweitern. Die Angaben in der Informationsschrift und der Einwilligungserklärung sind aufeinander abzustimmen.
- S. 2, Punkt "Einwilligungserklärung zum Datenschutz": Neben dem BDSG und dem LDSG BW sind auch die Bestimmungen der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO) einzuhalten.



Alte Glockengießerei 11/1 D-69115 Heidelberg

+49 6221 33822-0 (Empfang)

♣ +49 6221 3382222

 ethikkommission-l@med,uni-heidelberg,de

Prof. Dr. med. Thomas Strowitzki

Stellv. Vorsitz: Prof, Dr. med, Johannes Schröder Prof, Dr. med, Klaus Herfarth

Geschäftsleitung: Dr. med, Verena Pfeilschifter

Sonstige Studien:

Gero Blim, LL.M.

+49 6221 3382218

♣ +49 6221 3382222
⑤ Gero.Blim@med.uni-heidelberg.de

Christian Deisenroth, M.A.

heidelberg.de

Dr, rer, nat, Sylke Siebrecht

雪 +49 6221 3382220 品 +49 6221 3382222

449 6221 3382222

Sabine,Vogel@med.uni-heidelberg.de



Bankverbindung: Baden-Württembergische Bank Stuttgart Konto-Nr.: 7421 500 429 BLZ: 600 501 01 SWIFT/BIC Code: SOLADEST IBAN-Nr.: DE 64600501017421500429



Seite 2/3

Bitte leiten Sie das Ergebnis der berufsrechtlichen Beratung und die studienrelevante Korrespondenz allen teilnehmenden Ärzten in unserem Zuständigkeitsbereich weiter.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Thomas Strowitzki

Allgemeine Hinweise:

- Änderungen in Organisation und Ablauf der Studie sind der Kommission, zusammen mit einer Bewertung der Nutzen-Risiko-Relation, umgehend mitzuteilen. Sowohl die Antragsnummer als auch die geänderten Passagen sollten in den betreffenden Unterlagen deutlich gekennzeichnet sein, da anderenfalls keine zügige Bearbeitung möglich ist.
- Innerhalb von einem Jahr nach Studienende sollte die Studienleitung der Kommission einen Abschlussbericht vorlegen, der eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen der Studie enthält, unabhängig davon, ob diese vollständig abgeschlossen oder vorzeitig beendet wurde. Dafür ist die auf der Homepage der Kommission abrufbare Mustervorlage "Abschlussbericht" zu verwenden (Pfad: -> Sonstige Studien -> Vorlagen).
- ledes Forschungsvorhaben, an dem Versuchspersonen beteiligt sind, ist vor der Rekrutierung der ersten Versuchsperson in einer öffentlich zugänglichen Datenbank zu registrieren.
- Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg arbeitet gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen und den ICH-GCP-Richtlinien. Ihren Beratungen liegt die Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki in der jeweils aktuellen Fassung zugrunde.
- Unabhängig vom Beratungsergebnis macht die Ethikkommission Sie darauf aufmerksam, dass die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung einer Studie beim Leiter der Studie und bei allen teilnehmenden Ärzten liegt.
- Mit dem 25.05.2018 ist die Datenschutzgrundverordnung der EU (DSGVO) auf das Projekt anzuwenden. In Bezug auf die datenschutzrechtliche Information und Einwilligungserklärung sind daher zusätzlich zu den bislang üblicherweise dargestellten Datenschutzaspekten insbesondere folgende Punkte zu beachten:
 - Die in dem Projekt für die Datenverarbeitung verantwortliche Person ist zu benennen. Auch wenn diese Person gleichzeitig die Projektleitung übernehmen sollte, ist sie ggf. zusätzlich als für die Datenverarbeitung verantwortliche Person ausdrücklich zu nennen.
 - Die Namen und die Kontaktdaten der zuständigen Datenschutzbeauftragten (lokal und Sponsor/Studienleitung) sind anzugeben.
 - Auf das Bestehen eines Beschwerderechts bei einer Datenschutz-Aufsichtsbehörde (Landesdatenschutzbeauftragte oder Bundesdatenschutzbeauftragte des Prüfzentrums, Landesdatenschutzbeauftragte oder Bundesdatenschutzbeauftragte des Sponsors/Studienleitung) ist hinzuweisen. Die zuständigen Datenschutzaufsichtsbehörden sind zu nennen. Diese Information sollte für jedes Prüf-/Studienzentrum angepasst sein.
 - Die Studienteilnehmer sind auf ihr Recht hinzuweisen, Auskunft (einschließlich unentgeltlicher Überlassung einer Kopie) über die betreffenden personen- \$-389/2017



Seite 3/3

bezogenen Daten zu erhalten sowie ggf. deren Berichtigung oder Löschung zu verlangen.

Details zu Ihren Informationspflichten gegenüber den Studienteilnehmern entnehmen Sie bitte insbesondere den Artikeln 13 ff. DSGVO. Die Ethikkommission prüft die Angaben zu den zuständigen Datenschutzbeauftragten und Aufsichtsbehörden nicht auf Richtigkeit. Für die Angaben zu den lokalen Datenschutzbeauftragten und Aufsichtsbehörden reicht gegenüber der Ethikkommission die Angabe eines Platzhalters.

7.3 Tabelle der deskriptiven Ergebnissen

Variablen	statistische	Kategorien	naturgesunde	Kariesgruppe	naturgesunde	Kariesgruppe
	Maßzahl		Gruppe		Gruppe	(in Prozent)
					(in Prozent)	
	'	Klinische Da	aten			
Geschlecht		weiblich			11 (44.00)	13 (52.00)
		männlich			14 (56.00)	12 (48.00)
Ausgangs-pH-Wert	M		7,6	7,49		
	SD		0,37	0,44		
	med		7,7	7,7		
	Q1-Q3		7,4 - 7,9	7,1 - 7,9		
	Spw		6,8 - 8,1	6,5 - 7,9		
	n. inf		25	25		
pH-Wert nach 60min	M		6,53	6,07		
	SD		0,43	0,59		
	med		6,4	6		
	Q1-Q3		6,4 - 6,8	5,6 - 6,4		
	Spw		6 - 7,2	5,2 - 7,2		
	n. inf		25	25		
pH-Wert-Differenz	M		1,07	1,42		

	SD		0,41	0,58		
	med		1	1,4		
	Q1-Q3		0,7 - 1,3	0,9 - 1,9		
	Spw		0,4 - 1,9	0,5 - 2,5		
	n. inf		25	25		
Säurebildungspotential		Score 1			2 (8,00)	1 (4,00)
		Score 2			8 (32,00)	7 (28,00)
		Score 3			5 (20,00)	1 (4,00)
		Score 4			10 (40,00)	16 (64,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Mutans-Streptokokken-Anzahl		Score 0			3 (12,00)	0 (0,00)
		Score 1			5 (20,00)	0 (0,00)
		Score 2			8 (32,00)	3 (12,00)
		Score 3			5 (20,00)	5 (20,00)
		Score 4			4 (16,00)	17 (68,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Laktobazillen-Anzahl		Score 0			16 (64,00)	4 (16,00)
		Score 1			7 (28,00)	5 (20,00)
		Score 2			1 (4,00)	3 (12,00)
		Score 3			1 (4,00)	7 (28,00)
		Score 4			0 (0,00)	6 (24,00)

		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Pufferkapazität		niedrig			1 (4,00)	4 (16,00)
		mittel			11 (44,00)	7 (28,00)
		hoch			13 (52,00)	14 (56,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Speichelflussrate	M		1,84	1,95		
	SD		0,99	0,97		
	med		1,8	1,8		
	Q1-Q3		1 - 2,4	1,2 - 2,4		
	Spw		0,6 - 4,6	0,6 - 4		
	n. inf		25	25		
Speichelflussrate nach 5min	M		9,36	9,84		
	SD		4,79	4,75		
	med		9	9		
	Q1-Q3		6 - 12	6 - 12		
	Spw		3 - 23	3 - 20		
	n. inf		25	25		
GBI-Index	M		1,5	5,67		
	SD		2,9	6,75		
	med		0	4		
	Q1-Q3		0 - 1,25	0 - 8,5		

	Spw	0 - 11	0 - 28	
	n. inf	24	24	
PCR-Index	M	28,42	46,42	
	SD	18,01	17,25	
	med	21,5	47,5	
	Q1-Q3	15,5 - 42,25	30,75 - 57,5	
	Spw	4 - 62	15 - 78	
	n. inf	24	24	
DMF(T)-Wert	M	0	13,64	
	SD	0	6,08	
	med	0	13	
	Q1-Q3	0-0	9 - 18	
	Spw	0 - 0	1 - 26	
	n. inf	25	25	
D (decayed = kariös)	M	0	4	
	SD	0	2,99	
	med	0	3	
	Q1-Q3	0 - 0	2 - 6	
	Spw	0 - 0	1 - 11	
	n. inf	25	25	
M (missing = fehlend)	M	0	1,84	

	SD		0	2,82		
	med		0	1		
	Q1-Q3		0 - 0	0 - 2		
	Spw		0 - 0	0 - 10		
	n. inf		25	25		
F (filled = gefüllt)	M		0	7,72		
	SD		0	4,06		
	med		0	9		
	Q1-Q3		0 - 0	5 - 11		
	Spw		0 - 0	0 - 15		
	n. inf		25	25		
	<u> </u>	Personenbezogen	e Daten		'	
Alkoholkonsum		wenig			9 (36,00)	11 (44,00)
		moderat			11 (44,00)	10 (40,00)
		häufig			5 (20,00)	1 (4,00)
		NA			0 (0,00)	3 (12,00)
Raucherstatus		Nichtraucher			22 (88,00)	15 (60,00)
		ehemaliger				
		Raucher			0 (0,00)	1 (4,00)
		Raucher			3 (12,00)	9 (36,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)

Packungsjahre (pack years)	M					
aktiver Raucher						
	SD		1,55	8,78		
	med		1,33	4,01		
	Q1-Q3		1,25	8,5		
	Spw		0,82 - 2,12	5,75 - 12,62		
	n. inf		0,4 - 3	3 - 13,75		
Packungsjahre (pack years)	M					
ehemaliger Raucher				0,9		
	SD					
	med			0,9		
	Q1-Q3			0,9 - 0,9		
	Spw			0,9 - 0,9		
	n. inf		0	0,9		
Bildungsgrad		Aushilfskraft				
		ohne				
		Berufsausbildung			0 (0,00)	4 (16,00)
		Arbeiter/				
		Angestellter mit				
		abgeschlossener				
		Berufsausbildung			1 (4,00)	9 (36,00)

		Akademiker			24 (96,00)	10 (40,00)
		in der Ausbildung			0 (0,00)	1 (4,00)
		Schüler			0 (0,00)	1 (4,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
	1	Ergänzende Gesundhe	itsdaten	-		
Zahnarztbesuche		regelmäßig			24 (96,00)	17 (68,00)
		symptombezogen			1 (4,00)	8 (32,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Anzahl der Zahnarztbesuche (pro Jahr)	M		1,4	2,39		
	SD		0,52	2,17		
	med		1	2		
	Q1-Q3		1 - 2	1 - 3,12		
	Spw		0,5 - 2	0,5 - 10		
	n. inf		25	20		
Art der Behandlungen		Kontrolle/ PZR			21 (84,00)	4 (16,00)
		Kariesbehandlung			0 (0,00)	16 (64,00)
		WKB			0 (0,00)	1 (4,00)
		Zahnfleisch-				
		behandlung			0 (0,00)	0 (0,00)
		KFO			4 (16,00)	1 (4,00)
		Prothetik			0 (0,00)	2 (8,00)

		NA			0 (0,00)	1 (4,00)
Putzfrequenz (pro Tag)	M		2,02	1,9		
	SD		0,27	0,35		
	med		2	2		
	Q1-Q3		2 - 2	2 - 2		
	Spw		1,5 - 2,5	1 - 2,5		
	n. inf		25	25		
Putzdauer (in Minuten)	M		2,86	3,14		
	SD		1,05	1,32		
	med		2,5	3		
	Q1-Q3		2 - 3,5	2 - 4		
	Spw		1,5 - 5	1 - 5		
	n. inf		25	25		
Zahnbürste		Handzahnbürste			4 (16,00)	8 (32,00)
		elektrische				
		Zahnbürste			18 (72,00)	14 (56,00)
		abwechselnd			2 (8,00)	3 (12,00)
		NA			1 (4,00)	0 (0,00)
Zahnbürstenbewegungen		Bass			1 (4,00)	1 (4,00)
		Stillmann			3 (12,00)	1 (4,00)
		Fones (kreisend)			5 (20,00)	6 (24,00)

		ozillierend/				
		rotierend			13 (52,00)	12 (48,00)
		Schall			3 (12,00)	0 (0,00)
		NA			0 (0,00)	5 (20,00)
Zahnbürstentausch (in Monaten)	M		1,07	2,11		
	SD		0,67	2,58		
	med		0,75	1,25		
	Q1-Q3		0,5 - 1,5	0,5 - 2,5		
	Spw		0,25 - 3	0,07 - 12		
	n. inf		25	24		
Zahnpasta		fluoridiert			23 (92,00)	21 (84,00)
		Fluorid frei			0 (0,00)	0 (0,00)
		NA			2 (8,00)	4 (16,00)
Hilfsmittel verwendet		ja			21 (84,00)	19 (76,00)
		nein			4 (16,00)	6 (24,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Hilfsmittelart		Zahnseide			7 (28,00)	7 (28,00)
		IDB			11 (44,00)	10 (40,00)
		Zungenbürste			1 (4,00)	0 (0,00)
		Zahnseide + IDB			2 (8,00)	2 (8,00)
		NA			4 (16,00)	6 (24,00)

Hilfsmittelanwendung (pro Woche)	M		4,88	4,89		
	SD		3,87	3,69		
	med		3,5	4,25		
	Q1-Q3		2,5 - 7	1,62 - 7		
	Spw		0,25 - 14	1 - 14		
	n. inf		19	18		
CHX verwendet		ja			0 (0.,0)	2 (8,00)
		nein			25 (100,00)	23 (92,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Mundspüllösung verwendet		ja			4 (16,00)	12 (48,00)
		nein			21 (84,00)	13 (52,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)
Zuckerhaltige Lebensmittel (pro Tag)	M		2,65	3,23		
	SD		1,49	1,51		
	med		2,5	3		
	Q1-Q3		1,38 - 4	2,5 - 3,62		
	Spw		0 - 5	1 - 7,5		
	n. inf		24	24		
Zuckerhaltige Getränke (pro Tag)	M		0,66	2,17		
	SD		0,73	2,36		
	med		1	1,5		

	Q1-Q3		0 - 1	1 - 3,5		
	Spw		0 - 3	0 - 10		
	n. inf		25	21		
Kaugummi		ja			7 (28,00)	13 (52,00)
		nein			9 (36,00)	6 (24,00)
		gelegentlich			9 (36,00)	6 (24,00)
		NA			0 (0,00)	0 (0,00)

Legende:

Variable	Abkürzung
Mittelwert	M
Standardabweichung	SD
Median	med
1 3. Quantil	Q1-Q3
Spannweite	Spw.
Anzahl informativer Werte	n inf.
NA	nicht angegeben

Lebenslauf 100

8 Lebenslauf

Personalien

Name Reissfelder
Vorname Lisa-Sophie
Geburtsdatum 10.04.1992

Geburtsort Freiburg im Breisgau

Staatsangehörigkeit deutsch Familienstand ledig

Schulische Werdegang

1998 - 2002 Loretto-Grundschule, Freiburg

2002 - 2011 Gymnasium Montessori Zentrum Angell, Freiburg

31.05.2011 Abschluss Allgemeine Hochschulreife

Universitärer Werdegang

WS 2011 Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Ruprecht-

Karls-Universität Heidelberg

08.04.2014 Zahnärztliche Vorprüfung

28.11.2017 Zahnärztliche Prüfung

20.01.2018 Approbation

Beruflicher Werdegang

seit Juli 2019 Assistenzzahnärztin in einer freien Praxis in Darmstadt

Veröffentlichungen 101

9 Veröffentlichungen

Determination and evaluation of the acid-formation potential of the saliva for individual caries risk assessment

Reissfelder LS¹, Schoilew K¹, Felten A¹, Boutin S², Kilian S³, Laurisch L⁴ and Frese C¹

1 Department of Conservative Dentistry, School of Dental Medicine, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

2Department of Infectious Diseases, Medical Microbiology and Hygiene, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

3Institute of Medical Biometry and Informatics, University Heidelberg, Heidelberg, Germany

4Private Practice for Dentistry and Individual Prophylaxis, Korschenbroich, Germany

Conseuro 2021, Abstract submitted

Danksagung 102

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hans Jörg Staehle danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, dieses in seiner Abteilung zu bearbeiten.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. dent. Cornelia Frese für die Durchsicht meiner Arbeit und die Betreuung, die trotz ihrer großen beruflichen Verpflichtungen und der hohen Belastung in Klinik und Forschung stets ausgezeichnet war.

Bei meinem Betreuer Herrn Dr. Kyrill Schoilew möchte ich mich sehr herzlich für seine Hilfsbereitschaft, seine Korrekturvorschläge und sein immer offenes Ohr für meine Fragen bedanken.

Meiner Betreuerin Frau Dr. Anna Felten danke ich herzlichst für ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung des klinischen Teils dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. Lutz Laurisch möchte ich mich für die Bereitstellung des neuartigen Speicheltests sowie seine Hilfe bei etwaigen Fragen dazu bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Sébastien Boutin, Abteilung "Medizinische Mikrobiologie und Hygiene" des Universitätsklinikums Heidelberg, für die mikrobiologische Auswertung und Betreuung, sowie Herrn Samuel Kilian, Institut für Medizinische Biometrie und Informatik der Universität Heidelberg, für die statistische Auswertung und seine Unterstützung.

Frau Tanja Krüger, und Frau Tina Maxelon, med.-techn. Laborassistentin bzw. bio.-techn. Assistentin der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde des Universitätsklinikums Heidelberg, danke ich herzlichst für ihre Hilfsbereitschaft und die Verwaltung der Speichelproben.

Bei Frau Maria-Meryem Inceoglu, zahnmedizinische Fachangestellte der Poliklinik für Zahnerhaltungskunde des Universitätsklinikums Heidelberg, möchte ich mich für die Hilfe bei der Organisation der Terminvergabe sowie der Verwaltung der Studienunterlagen bedanken.

Abschließend danke ich herzlichst meinen Eltern und meinem Freund für die moralische Unterstützung und Motivation, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Eidesstattliche Versicherung

11 Eidesstattliche Versicherung

1. Bei der eingereichten Dissertation zu dem Thema "Vergleich von Speicheltests mit dem Speichelmikrobiom von gesunden und an Karies erkrankten Probanden" handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.

- 2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
- 3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt.
- 4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich.
- 5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt. Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erklärt und nichts verschwiegen habe.

Ort und Datum Unterschrift